Pokroky vo farmakológii v Slovenskej republike XXI

Stanislava Kosírová a Diana Vavrincová

(zostavovateľky)

UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

Stanislava Kosírová a Diana Vavrincová

(zostavovateľky)

Pokroky vo farmakológii v Slovenskej republike XXI

2026
Univerzita Komenského v Bratislave

Zostavovateľky:

doc. PharmDr. Stanislava Kosírová, PhD.

doc. Mgr. Diana Vavrincová, PhD.

Recenzenti:

prof. MUDr. Ladislav Mirossay, DrSc.

prof. MVDr. Ján Mojžiš, DrSc.



Publikácia je šírená pod licenciou Creative Commons CC BY-NC-SA 4.0 (vyžaduje sa: povinnosť uvádzať pôvodného autora, len nekomerčné použitie, povinnosť odvodené dielo zdieľať pod rovnakou licenciou ako pôvodné dielo). Viac informácií o licencii a použití diela: https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/



https://stella.uniba.sk/texty/FAF_pokroky_vo_famakologii_21.pdf

Vydavateľ

Univerzita Komenského v Bratislave, 2026

ISBN 978-80-223-6359-4 (tlač)

ISBN 978-80-223-6360-0 (online)

Slovenská farmakologická spoločnosť
Slovenskej lekárskej spoločnosti
a
Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave

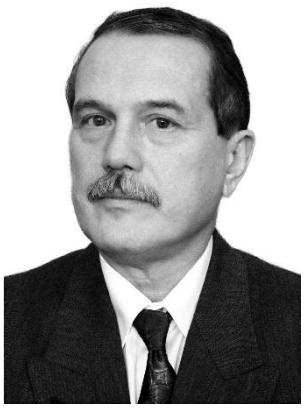
s podporou
Slovenskej lekárnickej komory

Venované spomienke na priekopníkov slovenskej experimentálnej a klinickej farmakológie

prof. MUDr. Františka Šveca, DrSc.
a prof. MUDr. Pavla Šveca, DrSc.



prof. MUDr. František Švec, DrSc.
28. 8. 1906 – 16. 3. 1976



prof. MUDr. Pavel Švec, DrSc.
30. 8. 1940 – 22. 11. 2015

OBSAH

PREDSLOV
Zostavovateľky 6

EVALUATION OF A-PHELLANDRENE AND ITS COMBINATION WITH METHOTREXATE IN ADJUVANT-INDUCED ARTHRITIS MODEL: PRELIMINARY BIOMETRIC RESULTS
Fakhermanesh M, Poništ S, Tatlari F, Umar M, Ahmad W, Neradil P, Bauerova K, Dráfi F. 8

DYSREGULÁCIA SYNTÉZY PGE2 A EXPRESIE JEHO RECEPTOROV V MODELI PĽÚCNEJ ARTÉRIOVEJ HYPERTENZIE
Katanová M, Hadová K, Dóka G, Kmecová Z, Babjaková J, Maliková E, Kraľová E, Klimas J, Křenek P. 20

ÚČINOK KYNURENÍNOVEJ KYSELINY PRI LIEČBE FIBROTICKÝCH OCHORENÍ
Kekeláková A, Sýkorová S, Vavrinec P, Vavrincová-Yaghi D. 27

EFFECT OF A SUB-THERAPEUTIC DOSE OF METHOTREXATE ON WHITE BLOOD CELLS AND PLASMA LEVELS OF MCP-1 AND MMP-9 IN ADJUVANT ARTHRITIS
Tatlari F, Bauerova K, Waqar A, Fakermanesh M, Dráfi F, Khademnematolahi S, Poništ S. 33

FARMAKOGENETICKÁ VARIABILITA ENZÝMOV CYP450 A JEJ VPLYV NA INTENZITU HYPOTENZÍVNEJ FARMAKOTERAPIE U PACIENTOV S CHRONICKÝM SRDCOVÝM ZLYHÁVANÍM
Krajčírová N, Stollárová N, Kilianová Z, Křenek P, Klimas J, Luknár M, Goncalvesová E, Dóka G. 42

VPLYV OBEZITY NA SÉROVÉ KONCENTRÁCIE CEFTAZIDÍMU U KRITICKY CHORÝCH PACIENTOV: PILOTNÁ ŠTÚDIA
Mikloška A, Kopáčová I, Oleárová A, Piešťanský J, Kiliánová Z. 50

OPTIMALIZÁCIA FARMAKOTERAPIE U STARŠÍCH PACIENTOV: POHĽAD KLINICKÉHO FARMACEUTA
Olbertová D, Chromeková K. 59

INTEGROVANÝ OPORTÚNNY SKRÍNING ATRIÁLNEJ FIBRILÁCIE A KOGNITÍVNEJ PORUCHY V PODMIENKACH VEREJNÝCH LEKÁRNÍ
Stanko P, Snopková M, Fazekaš T, Mačeková Z, Klimas J 69

POLYFARMÁCIA AKO KĽÚČOVÝ DETERMINANT RIZIKA LIEKOVÝCH INTERAKCIÍ
Sukeľ O, Suchopár J, Snopková M, Mačeková Z, Klimas J. 80

PREDSLOV

Vážené kolegyne, vážení kolegovia,

predkladáme Vám 21. ročník zborníka *Pokroky vo farmakológii v Slovenskej republike*, ktorý vznikol pri príležitosti jubilejného 30. ročníka *Dni mladých farmakológov SR (Memoriál prof. Františka Šveca a prof. Pavla Šveca).*

Aj tento ročník potvrdzuje, že farmakológia si na Slovensku zachováva svoje prirodzené prepojenie medzi experimentálnym výskumom a klinickou praxou. Práce zaradené do zborníka sa venujú témam základného aj aplikovaného výskumu a odrážajú problémy, ktoré dnes stoja v centre pozornosti biomedicínskych vied a zdravotnej starostlivosti.

Významnú časť príspevkov tvoria experimentálne práce zamerané na štúdium molekulových mechanizmov ochorení a hľadanie nových možností ich farmakologického ovplyvnenia. Pozornosť je venovaná najmä chronickým zápalovým a fibrotickým procesom, ktoré sa podieľajú na vzniku a progresii viacerých závažných ochorení. Predstavené výsledky prinášajú nové poznatky o možnostiach ovplyvnenia reumatoidnej artritídy, pľúcnej artériovej hypertenzie či renálnej fibrózy a zároveň poukazujú na potenciál nových terapeutických prístupov, ktoré si zaslúžia ďalšie skúmanie.

Dôležité miesto majú aj práce s klinickým zameraním. V posledných rokoch sa čoraz viac ukazuje, že rovnaká liečba nemusí viesť k rovnakej odpovedi u každého pacienta. Aj preto sa viacerí autori venujú otázkam farmakogenetiky, terapeutického monitorovania liečiv a faktorom, ktoré ovplyvňujú účinnosť a bezpečnosť farmakoterapie v reálnych podmienkach klinickej praxe. Tieto témy dnes patria k oblastiam, ktoré významne menia pohľad na individualizáciu liečby.

Samostatnú skupinu tvoria príspevky venované polyfarmácii, liekovým interakciám a optimalizácii farmakoterapie u starších pacientov. Vzhľadom na starnutie populácie a

rastúci počet pacientov s viacerými chronickými ochoreniami ide o problematiku, ktorá nadobúda čoraz väčší význam nielen pre farmakológov a klinických farmaceutov, ale aj pre každodennú medicínsku prax. Výsledky prezentované v tomto zborníku zároveň poukazujú na dôležitú úlohu farmaceutov pri zvyšovaní bezpečnosti a racionality farmakoterapie.

Pri pohľade na všetky príspevky je zrejmé, že mladí autori sa nevenujú iba opisovaniu jednotlivých biologických mechanizmov, ale usilujú sa hľadať odpovede na otázky, ktoré majú praktický význam pre diagnostiku, liečbu a starostlivosť o pacientov. Práve tento spôsob uvažovania považujeme za jednu z najväčších devíz súčasnej farmakológie.

Poďakovanie patrí všetkým autorom za ich odborný prínos, recenzentom za čas a úsilie venované hodnoteniu rukopisov a všetkým pracoviskám, ktoré vytvárajú podmienky pre vedeckú prácu a odborný rast mladých farmakológov.
Veríme, že zborník bude zdrojom nových poznatkov, inšpiráciou pre ďalší výskum a prispeje k odbornej diskusii naprieč jednotlivými oblasťami farmakológie.

Prajeme Vám príjemné a podnetné čítanie.

V Bratislave, september 2026

doc. PharmDr. Stanislava Kosírová, PhD.
doc. Mgr. Diana Vavrincová, PhD.
zostavovateľky

EVALUATION OF A-PHELLANDRENE AND ITS COMBINATION WITH METHOTREXATE IN ADJUVANT-INDUCED ARTHRITIS MODEL: PRELIMINARY BIOMETRIC RESULTS

HODNOTENIE A-PHELLANDRÉNU A JEHO KOMBINÁCIE S METHOTREXÁTOM V MODELI ADJUVANTNEJ ARTRITÍDY: PREDBEŽNÉ BIOMETRICKÉ VÝSLEDKY

Fakhermanesh M[1,2], Poništ S[1], Tatlari F[1,2], Umar M[1,3], Ahmad W[1,3], Neradil P, Bauerova K[1], Dráfi F[1]

[1]*Institute of Experimental Pharmacology & Toxicology, Centre of Experimental Medicine, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak republic*
[2]*Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovak republic*
[3]*Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak republic*

Summary: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic autoimmune disease characterized by persistent synovial inflammation, progressive joint destruction, and systemic immune dysregulation. Although methotrexate (MTX) remains the cornerstone disease-modifying antirheumatic drug (DMARD) in RA management, its long-term use may be limited by adverse effects and interindividual variability in therapeutic response. Consequently, the identification of adjunctive compounds capable of modulating inflammatory pathways represents an important area of investigation. α-Phellandrene (Ph), a cyclic monoterpene present in essential oils, has previously demonstrated anti-inflammatory and antinociceptive properties; however, its anti-arthritic potential, particularly in combination with MTX, has not yet been investigated *in vivo*. The present preliminary study evaluated the effects of Ph administered as monotherapy and in combination with MTX in the adjuvant-induced arthritis (AA) model in Lewis rats. Experimental animals were allocated into healthy control (HC), untreated AA, MTX-treated, Ph-treated, and Ph+MTX-treated groups. Biometric parameters, including change in body weight (CHBW), change in hind paw volume (CHPV), arthritic score (AS), and organ indices, were evaluated throughout the experimental period. Regarding body weight, treatment with the Ph+MTX combination resulted in a significant increase compared with untreated AA animals on day 21, while only a non-significant trend toward increased body weight was observed on day 28. Evaluation of hind paw volume demonstrated that Ph monotherapy significantly reduced paw swelling only on day 14 relative to untreated AA animals. In contrast, the Ph+MTX combination produced a sustained anti-inflammatory effect, as evidenced by a significant reduction in hind paw volume on days 14, 21, and 28. Notably, on days 21 and 28, the combination therapy also significantly reduced paw swelling compared with MTX monotherapy, indicating an enhanced therapeutic effect of the Ph+MTX combination. Although arthritic score values were not significantly affected by the treatments, the overall trend was consistent with the changes observed in hind paw volume. No significant treatment-related differences were detected in spleen or liver indices. Collectively, these findings indicate that α-phellandrene exerts moderate anti-inflammatory activity in experimental arthritis and may enhance the therapeutic efficacy of methotrexate through complementary anti-inflammatory mechanisms. Further studies focused on dose optimization and mechanistic validation are warranted to define its therapeutic relevance in combination-based anti-arthritic strategies.

Abstrakt: Reumatoidná artritída (RA) je chronické systémové autoimunitné ochorenie charakterizované pretrvávajúcim zápalom synoviálnych kĺbov, postupným ničením kĺbov a systémovou imunitnou dysreguláciou. Hoci metotrexát (MTX) zostáva základným antireumatickým liekom modifikujúcim priebeh ochorenia v liečbe RA, jeho dlhodobé použitie môže byť obmedzené nežiaducimi účinkami a interindividuálnou variabilitou terapeutickej

odpovede. Preto identifikácia doplnkových zlúčenín schopných modulovať zápalové dráhy predstavuje dôležitú oblasť výskumu. α-Phellandrén (Ph), cyklický monoterpén prítomný v esenciálnych olejoch, už predtým preukázal protizápalové a antinociceptívne vlastnosti; avšak jeho antiartritický potenciál, najmä v kombinácii s MTX, zatiaľ nebol *skúmaný in vivo*. Súčasná predbežná štúdia hodnotila účinky Ph podávaného ako monoterapia a v kombinácii s MTX v modeli adjuvantom indukovanej artritídy (AA) u potkanov Lewis. Experimentálne zvieratá boli rozdelené do skupín zdravej kontroly (HC), neliečenej AA, MTX, Ph a Ph+MTX. Biometrické parametre, vrátane zmeny telesnej hmotnosti (CHBW), zmeny objemu zadnej labky (CHPV), artritického skóre (AS) a indexov orgánov, boli hodnotené počas celého experimentálneho obdobia. Čo sa týka telesnej hmotnosti, liečba kombináciou Ph+MTX viedla k významnému nárastu v porovnaní s neliečenými AA zvieratami na 21. deň, zatiaľ čo na 28. deň bol pozorovaný len nevýznamný trend smerujúci k zvýšeniu telesnej hmotnosti. Hodnotenie objemu zadnej labky ukázalo, že monoterapia s Ph významne znížila opuch labky iba na 14. deň v porovnaní s neliečenými AA zvieratami. Naopak, kombinácia Ph+MTX vyvolala trvalý protizápalový účinok, čo dokazuje významné zníženie objemu zadnej labky v dňoch 14., 21. a 28. Pozoruhodné je, že v dňoch 21 a 28 kombinovaná terapia tiež významne znížila opuch labiek v porovnaní s monoterapiou MTX, čo naznačuje zvýšený terapeutický účinok kombinácie Ph+MTX. Hoci hodnoty artritického skóre neboli významne ovplyvnené liečbou, celkový trend bol v súlade so zmenami pozorovanými v objeme zadnej laby. V indexoch sleziny alebo pečene neboli zistené žiadne významné rozdiely súvisiace s liečbou. Tieto zistenia spoločne naznačujú, že α-phellandrén prejavuje miernu protizápalovú účinnosť pri experimentálnej artritíde a môže zvýšiť terapeutickú účinnosť metotrexátu prostredníctvom komplementárnych protizápalových mechanizmov. Ďalšie štúdie zamerané na optimalizáciu dávok a mechanistickú validáciu sú potrebné na definovanie jeho terapeutického významu v kombinovaných antiartritických stratégiách.

Keywords: methotrexate, α-Phellandrene, adjuvant-induced arthritis, anti-inflammatory therapy
Kľúčové slová: metotrexát, α-Phellandrén, adjuvantom indukovaná artritída, protizápalová liečba

INTRODUCTION

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic autoimmune disorder characterized by persistent joint inflammation, leading to pain, swelling, stiffness, and progressive loss of function. It affects approximately 1% of the global population (1). Although no single initiating cause of RA has been identified, the disease arises from multifactorial gene-environment interactions that lead to loss of immune tolerance, where FOXP3+ regulatory T-cell dysfunction contributes to its pathogenesis (2). Cigarette smoking is an established lifestyle risk factor for seropositive RA (2), while elevated body mass index, low socioeconomic status (3;4), reproductive factors, and family history further contribute to disease susceptibility, although most cases occur sporadically (5,6,7). The autoimmune pathology of RA results from a complex interplay of autoreactive T and B cells that generate and sustain inflammatory responses, while innate immune cells amplify tissue injury. Cytokines further perpetuate disease through positive feedback loops (8,9,10). Recent advances in early diagnosis, effective therapy, and expanded DMARDs options have markedly improved RA management and long-term prognosis (11). Methotrexate (MTX) is a fundamental agent in RA treatment and remains the most-prescribed DMARD worldwide due to its demonstrated efficacy, favourable safety profile, and cost-effectiveness. It is used as first-line therapy, either as monotherapy or in combination with other DMARDs. Its therapeutic effects involve inhibition of dihydrofolate reductase, suppression of

immune cell proliferation, and increased extracellular adenosine, leading to reduced T cell activation and proinflammatory cytokine release (12,13,14). Although it is effective, MTX therapy can still be limited by adverse effects and variability in patient response (15,16,17), supporting its role as a key component in combination therapy strategies. Despite these therapeutic advances, permanent remission is rare and usually requires continuous pharmacological intervention (18). Given the limitations of current therapies, ongoing research is needed to identify new agents that effectively and safely modulate inflammatory and autoimmune processes. Compounds with anti-inflammatory or immunomodulatory properties, whether of natural or synthetic origin, may provide supportive benefits when used alone or alongside standard RA therapies, without posing long-term risks (19,20). α-Phellandrene is a cyclic monoterpene found in essential oils (21). It exhibits anti-inflammatory activity by suppressing pro-inflammatory cytokines such as TNF-α and IL-6, inhibiting neutrophil migration and leukocyte adhesion, and reducing mast cell degranulation *in vivo* (22). In addition, α-phellandrene demonstrates antinociceptive effects, alleviating mechanical and cold hyperalgesia without affecting locomotor activity in animal models (23). However, its anti-arthritic potential, particularly in combination with methotrexate *in vivo*, remains unexplored.

METHODS

The *in vivo* experiment was conducted using the adjuvant-induced arthritis (AA) model in male Lewis rats supplied by the accredited breeding unit of the Department of Toxicology and Laboratory Animal Breeding, Centre of Experimental Medicine, Slovak Academy of Sciences (Dobrá Voda, Slovak Republic). After delivery, animals were housed in dedicated rooms under controlled environmental conditions (22 ± 2 °C, 55 ± 10% relative humidity, 12 h light/dark cycle) with free access to water and standard chow. A quarantine period of 7 days was imposed before the start of the experiment. All procedures complied with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS No. 123) (24).

Adjuvant arthritis was induced on day 1 in rats weighing 160–180 g by intradermal injection of 0.1 mL of suspended *Mycobacterium butyricum* in incomplete Freund's adjuvant (ICFA) into the tail base. The injection caused local and systemic inflammation followed by tissue damage, necrosis, and scab formation.

Animals were randomized into five experimental groups (6–10 rats per group): healthy controls (HC), untreated AA, AA treated with methotrexate (MTX), AA treated with a-phellandrene (Ph 50), and AA treated with α-phellandrene in combination with methotrexate (Ph 50 + MTX). Healthy controls and untreated AA animals received vehicle (Tween 20) daily *per os.* α-Phellandrene was administered orally at 50 mg/kg body weight daily, either as monotherapy or in combination with methotrexate. Methotrexate was administered orally at a subtherapeutic dose of 0.3 mg/kg twice per week. α-Phellandrene was obtained as a synthetic compound (Sigma-Aldrich, USA) and freshly dissolved in Tween20 prior to administration. Methotrexate (EBEWE, 20 mg/mL) was diluted with distilled water to a working concentration of 0.3 mg/mL.

Additional substances used were *Mycobacterium butyricum* (Difco Laboratories, USA) suspended in incomplete Freund's adjuvant (Thermo Scientific), anesthetics Zoletil® (tiletamine and zolazepam) and Xylariem® (xylazine) administered intramuscularly, and heparin (Zentiva, k.s. (CZE)) as an anticoagulant for plasma preparation.

Clinical parameters were evaluated on days 1, 14, 21, and 28. Monitored parameters included changes in body weight (CHBW), change in hind paw volume (CHPV), arthritic score

(AS), and organ indices. Body weight change was calculated as the difference between the weight on the given experimental day and the weight on day 1 using the formula:

- ([day n]- [day 1] = value[g].

Hind paw volume was measured using an electronic water plethysmometer (UGO BASILE) and expressed as a percentage change relative to day 1 using the formula:

- ([day n] / [day 1]) × 100 – 100 = value [%].

Arthritic score was used to assess disease severity based on hind paw swelling, fore paw diameter, and scab size at the injection site. The total arthritic score for each group was calculated as the arithmetic mean of the sum of points assigned to all parameters per animal.
Organ indices were calculated to assess relative organ size using the following formulas:

- spleen index = (spleen weight/body weight) × 100 and
- liver index = (liver weight/body weight) × 100.

The data are presented as arithmetic mean ± standard error of the mean (SEM). Statistical analysis of differences between experimental groups was performed using GraphPad InStat3. Comparisons among treatment groups, healthy controls (HC), and untreated arthritic animals (AA) were carried out using ANOVA.

When significant differences were detected, a Tukey–Kramer post hoc test was applied. Levels of significance were defined as follows: not significant ($p > 0.05$), significant ($p \leq 0.05$), very significant ($p \leq 0.01$), and extremely significant ($p \leq 0.001$). The corresponding symbols for significance are indicated in the legends of each table and figure.

RESULTS

The preliminary experiment aimed to determine the anti-arthritic potential of α-Phellandrene administered in mono and combination therapy with MTX by evaluating key biometric markers in the adjuvant-induced arthritis model.

The Change in Animal Body Weight

Monitoring body weight in arthritic rats provides insight into systemic disease impact. Figure 1 shows the change in body weight throughout the period of treatment during the preliminary experiment.

Following experimental days 14, 21, and 28, the parameter change of body weight (CHBW) was considerably lower in the untreated AA animal group compared to the healthy control (HC) group (** $p \leq 0.01$/* $p \leq 0.05$ AA vs. HC), and the studied treatment groups were without effect except of Ph+MTX on day 21. This group was significantly higher (reached the HC group) compared to the untreated AA group (+$p \leq 0.05$ Ph+MTX vs. AA).

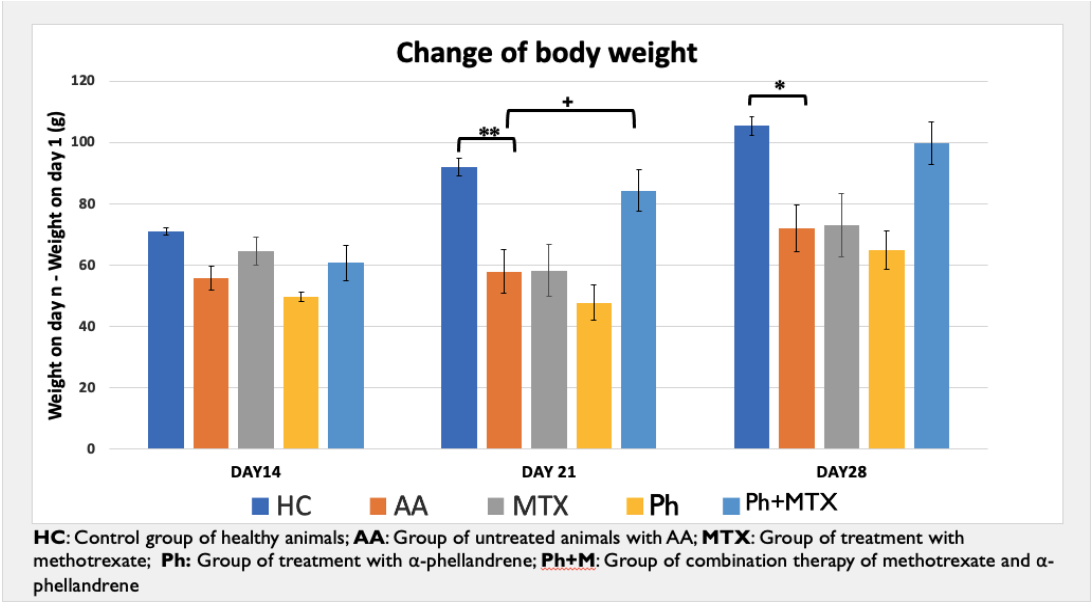


Figure 1: The data presented shows the changes in animal body weight measured on days 14, 21 and 28 of the experiment. Experimental results are presented as a mean ± SEM. ANOVA was performed to evaluate the statistical significance of independent variables. The symbol that represents the significant change was the following: **p ≤ 0.01 AA vs. HC; *p ≤ 0.05 AA vs. HC, $^{+}$p ≤ 0.05 Ph+MTX vs. AA.

The Change in Hind Paw Volume (CHPV)

Hind paw volume is a key indicator of joint inflammation and swelling in AA, mimicking RA swollen joints. The results of hind paw volume are presented in Figure 2. The change in the hind paw volume (CHPV) was measured on days 14, 21, and 28. Untreated AA increased the level of CHPV compared to HC on days 14, 21, and 28 of the experiment, but significantly on the last two (**p ≤ 0.01/*p ≤ 0.05 AA vs. HC).

For monotherapy of Ph, a significant decrease was observed on day 14 ($^{+}$p ≤ 0.05 Ph vs. AA), and a trend was observed on days 21 and 28 compared to untreated AA. In the Ph+MTX combination, we observed two important phenomena. The first shows a continuous, significant decrease in the combination compared to untreated AA ($^{++}$p ≤ 0.01 Ph+MTX vs. AA) across all experimental days.

The second phenomenon shows a significant decrease for CHPV with the Ph+MTX combination compared to MTX monotherapy on day 21 and 28 ($^{\#\#}$p ≤ 0.01 Ph+MTX vs. MTX; $^{\#}$p ≤ 0.05 Ph+MTX vs.MTX).

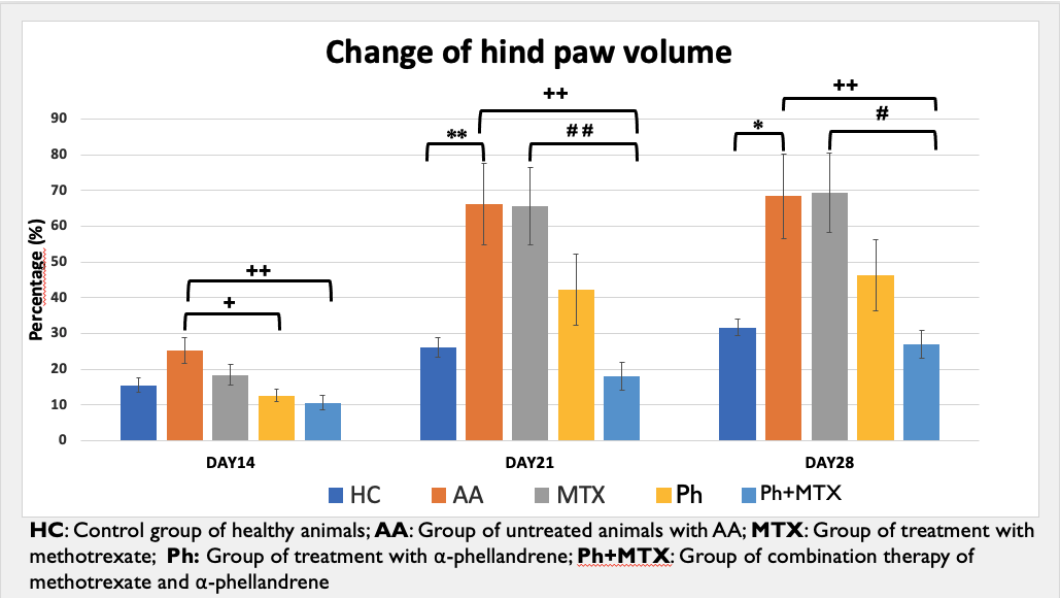


Figure 2: Shows the change in hind paw volume measured on days 14, 21, and 28 of the experiment. Experimental results are presented as a mean ± SEM. ANOVA was performed to evaluate the statistical significance of independent variables. The symbol that represents the significant change was the following: **$p \leq 0.01$ AA vs. HC, *$p \leq 0.05$ AA vs. HC, $^{++}p \leq 0.01$ Ph+MTX vs. AA and $^{+}p \leq 0.05$ Ph vs. AA, $^{\#\#}p \leq 0.01$ MTX vs. Ph+MTX, $^{\#}p \leq 0.05$ MTX vs. Ph+MTX.

Arthritic Score

The arthritic score (AS) results are presented in Figure 3, was significantly higher in the untreated AA group compared to the HC group on days 21 and 28 throughout the experiment (* $p \leq 0.05$ vs. HC). All other experimental treatments were without significant effect. However, there were similar trends as observed for CHPV.

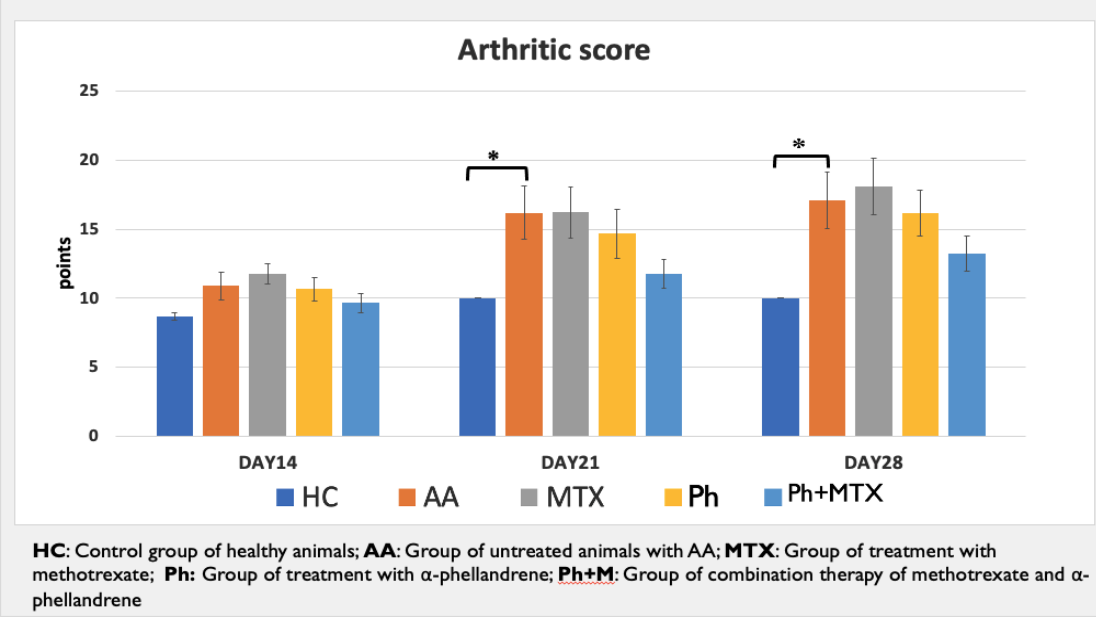


Figure 3. This data shows the arthritic score measurement on days 14, 21, and 28 of the experiment. Experimental results are presented as a mean ± SEM. ANOVA was performed to evaluate the statistical significance of independent variables. The symbol that represents the significant change was the following: *$p \leq 0.05$ AA vs. HC.

Spleen index

The results presented in Figure 4 show a significant increase in the AA compared with the HC group (*p ≤ 0.05 AA vs. HC). Treatment with MTX, Ph, and Ph+MTX did not reduce the spleen index compared with untreated arthritic animals. The highest spleen index value was observed in the Ph-treated group, however, not significant compared to untreated AA.

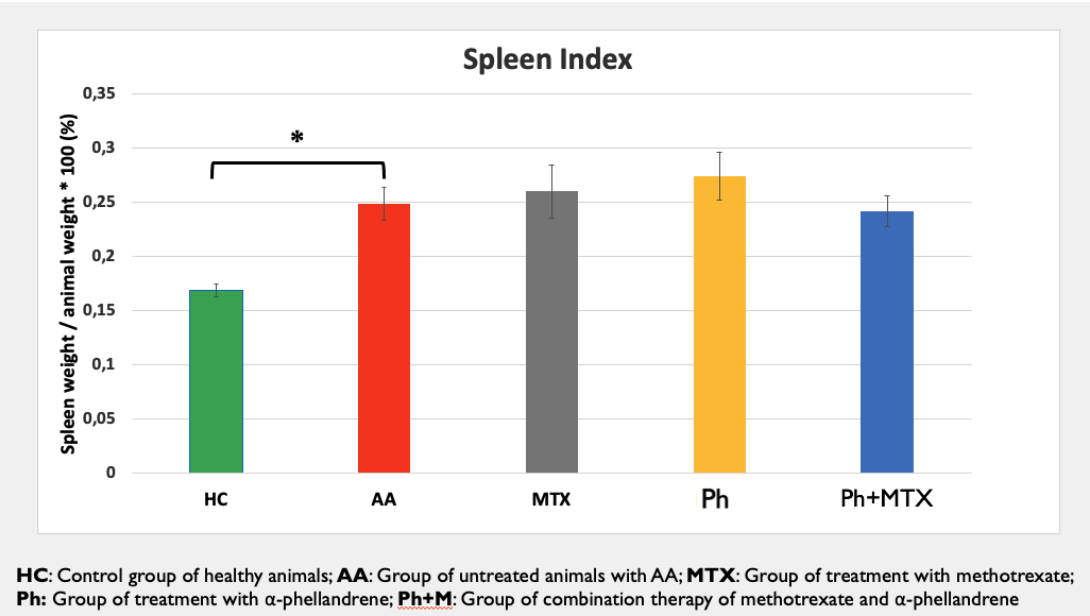


Figure 4. The presented data shows the spleen index measured on day 28 of the experiment. Experimental results are presented as a mean ± SEM. ANOVA was performed to evaluate the statistical significance of independent variables. The symbol that represents the significant change was the following: *p ≤ 0.05 AA vs. HC.

Liver index

The liver index values in Figure 5 show that the AA group demonstrated a slight reduction in liver index compared with the healthy control (HC) animals. Treatment with MTX restored the liver index to values comparable to the HC group. In contrast, α-phellandrene (Ph) monotherapy produced the highest liver index among all groups, whereas the combination therapy (Ph+MTX) resulted in similar value to the one observed in the MTX-treated group.

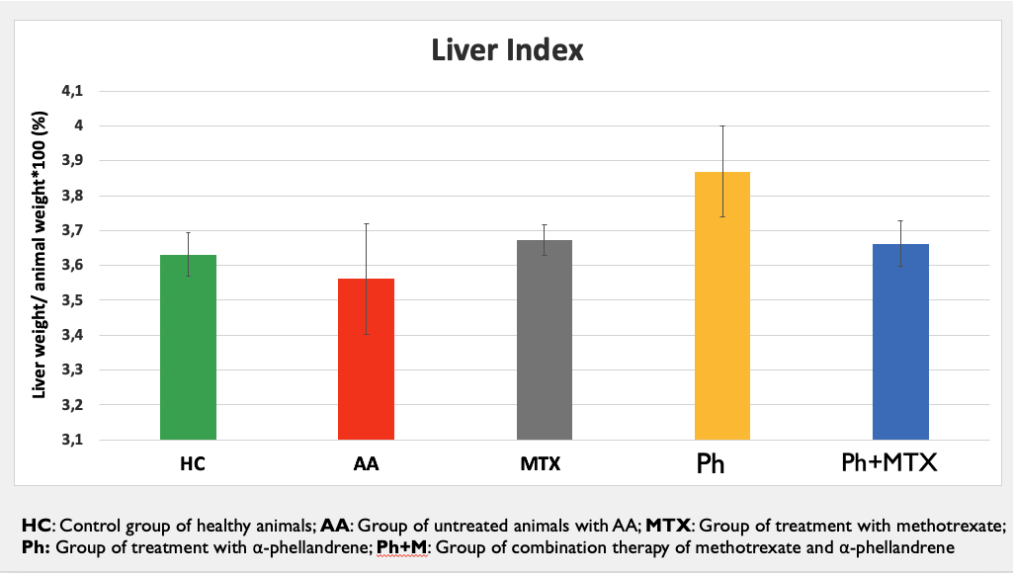


Figure 5 The data presented shows the liver index measured on day 28 of the experiment. Experimental results are presented as a mean ± SEM. ANOVA was performed to evaluate the statistical significance of independent variables, but significance was not observed.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The present study provides preliminary evidence for the anti-inflammatory potential of α-phellandrene in the adjuvant-induced arthritis (AA) model, evaluated across several key disease-related parameters, including body weight change, hind paw volume, arthritic score, and organ indices (spleen and liver). These parameters collectively reflect systemic inflammation, joint-specific pathology, and immune organ involvement, allowing comparison with previously reported effects of α-phellandrene and structurally related monoterpenes.

Body weight loss observed in untreated AA animals is consistent with inflammation-driven cachexia mediated by pro-inflammatory cytokines such as TNF-α. In this context, it reflects the severity of systemic inflammation (25). Thus, the change in body weight, shown in Figure 1, was determined as an overall healthy indicator, with reduced weight gain signalling active AA pathology; the body weight gain in Ph+MTX-treated animals suggests attenuation of systemic inflammation.

Hind paw volume was measured as a direct indicator of joint inflammation and oedema. Increased hind paw volume reflects synovial inflammation, immune cell infiltration, and oedema, primarily driven by pro-inflammatory cytokines like TNF-α, IL-1β, and IL-17A (26). Changes in hind paw volume are a well-established indicator of inflammatory oedema and arthritis progression. As shown in Figure 2, untreated AA animals exhibited a marked increase in hind paw volume, whereas the Ph+MTX combination induced a sustained and significant reduction throughout the experimental period ($^{++}p \leq 0.01$ vs. AA), indicating continuous suppression of inflammatory progression. Importantly, the combination therapy also produced a significantly greater reduction in CHPV compared with MTX monotherapy on days 21 and 28 ($^{\#\#}p \leq 0.01$; $^{\#}p \leq 0.05$), suggesting enhanced anti-inflammatory efficacy during the chronic phase of disease. These findings indicate that α-phellandrene may potentiate the therapeutic effects of MTX through complementary anti-inflammatory mechanisms. Although Ph monotherapy reached statistical significance only on day 14, the observed trend is consistent with previously reported effects of α-phellandrene on leukocyte infiltration and mast cell activation (22). Comparable effects have been described for other terpenes, where suppression

of cytokine-driven oedema (TNF-α, IL-1β) leads to reduced paw swelling in inflammatory models (22). This suggests that the lack of strong statistical significance in the current study may be related to dosing, treatment duration, or disease severity rather than the absence of biological activity.

The arthritic score, reflecting cumulative clinical severity, showed limited response to Ph monotherapy but a more favourable trend in combination with methotrexate (MTX) (Figure 3). This observation is important when interpreted alongside known MTX mechanisms, including suppression of immune cell proliferation and cytokine signalling (18). The enhanced (although still non-significant) effect in the combination group suggests a potential complementary mechanism, where Ph may target innate immune components (e.g., neutrophils, mast cells) (22), while MTX primarily affects adaptive immune pathways (18). Similar additive or synergistic interactions have been reported for natural compounds combined with DMARDs, particularly when targeting multiple inflammatory axes simultaneously (14).

It is important when interpreted alongside known MTX mechanisms, including suppression of immune cell proliferation and cytokine signalling (18). The enhanced (although still non-significant) effect in the combination group suggests a potential complementary mechanism, where Ph may target innate immune components (e.g., neutrophils, mast cells) (22), while MTX primarily affects adaptive immune pathways (18). Similar additive or synergistic interactions have been reported for natural compounds combined with DMARDs, particularly when targeting multiple inflammatory axes simultaneously (14).

The spleen index results shown in Figure 4 confirm persistent systemic immune activation in AA animals, as splenomegaly is a hallmark of chronic inflammation, exhibiting an elevated spleen index, indicating spleen enlargement, which is a typical response to the inflammatory process in arthritis (9,10). The absence of a significant reduction in the treatment groups indicates that, at the tested compound, Ph does not strongly modulate lymphoid organ expansion. However, this does not exclude immunomodulatory activity, as previous studies have shown that α-phellandrene primarily affects inflammatory cell function rather than organ size (22). In contrast, the liver index findings presented in Figure 5 suggest a possible normalization of metabolic status in treated groups, although interpretation remains limited without biochemical or histological confirmation. Lower liver index values may reflect systemic weight loss and altered metabolic status associated with chronic inflammation rather than direct hepatic damage. In contrast, higher liver index values could indicate increased liver metabolic activity or adaptive hepatic enlargement, although these interpretations remain speculative in the absence of biochemical or histopathological analysis (27,28).

When considered together, these findings are consistent with the broader pharmacological profile of α-phellandrene and related monoterpenes, which exhibit moderate but multi-target anti-inflammatory effects rather than strong single-parameter suppression. This positions Ph as a candidate for adjunctive therapy, particularly in combination with established agents such as MTX.

α-phellandrene demonstrates measurable but moderate anti-inflammatory activity in the AA model, reflected by partial improvement in local (hind paw volume) disease parameters. While monotherapy effects were limited, the combination with methotrexate consistently showed improved trends (change of hind paw volume and change of body weight). Comparison with previously reported data on α-phellandrene and structurally related monoterpenes indicates that its primary strength lies in multi-pathway modulation of inflammation, including effects on cytokine production, leukocyte migration, and nociceptive responses.

Importantly, the absence of strong statistical significance across several parameters highlights a critical limitation and suggests that dose optimization, treatment timing, and further mechanistic validation (e.g., cytokine profiling, NF-κB signalling) are necessary to fully define the therapeutic potential of α-phellandrene rather than acting as a standalone anti-arthritic agent.

α-phellandrene should be considered within a combination-based therapeutic framework, where it may enhance efficacy, broaden target coverage, and potentially reduce the required dose of conventional drugs.

Acknowledgment: This study was supported by projects VEGA No. 2/0091/23, VEGA No. 2/0079/24, VEGA No. 2/0126/23, FaF/20/2025, FaF/28/2026 and APP0713.

REFERENCES

1. Chauhan, K., Jandu, J. S., Brent, L. H., et al. (2023, May 25). Rheumatoid arthritis. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. Available from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441999/
2. Romão, V. C., & Fonseca, J. E. (2021). Etiology and risk factors for rheumatoid arthritis: A state-of-the-art review. Frontiers in Medicine, 8, 689698. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.689698
3. Lacaille, D., Avina-Zubieta, J. A., Sayre, E. C., & Abrahamowicz, M. (2017). Improvement in 5year mortality in incident rheumatoid arthritis compared with the general population—Closing the mortality gap. Annals of the Rheumatic Diseases, 76(6), 1057–1063. https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-209562
4. Carpenter, L., Norton, S., Nikiphorou, E., Jayakumar, K., McWilliams, D. F., Rennie, K. L., Dixey, J., Kiely, P., Walsh, D. A., Young, A., & on behalf of the Early Rheumatoid Arthritis Study and the Early Rheumatoid Arthritis Network. (2017). Reductions in Radiographic Progression in Early Rheumatoid Arthritis Over Twenty-Five Years: Changing Contribution From Rheumatoid Factor in Two Multicenter UK Inception Cohorts. Arthritis Care & Research, 69(12), 18091817. https://doi.org/10.1002/acr.23217
5. Bengtsson, C., Malspeis, S., Orellana, C., Sparks, J. A., Costenbader, K. H., & Karlson, E. W. (2017). Association Between Menopausal Factors and the Risk of Seronegative and Seropositive Rheumatoid Arthritis: Results From the Nurses' Health Studies. Arthritis Care & Research, 69(11), 1676–1684. https://doi.org/10.1002/acr.23194
6. Orellana, C., Saevarsdottir, S., Klareskog, L., Karlson, E. W., Alfredsson, L., & Bengtsson, C. (2017). Oral contraceptives, breastfeeding and the risk of developing rheumatoid arthritis: Results from the Swedish EIRA study. Annals of the Rheumatic Diseases, 76(11), 1845–1852. https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-211620
7. Bunnewell, S., Wells, I., Zemedikun, D., Simons, G., Mallen, C. D., Raza, K., & Falahee, M. (2022). Predictors of perceived risk in first-degree relatives of patients with rheumatoid arthritis. RMD Open, 8(2), e002606. https://doi.org/10.1136/rmdopen-2022-002606
8. Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., & Kuchroo, V. K. (2009). IL-17 and Th17 Cells. Annual Review of Immunology, 27(1), 485–517. https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132710
9. Murphy, K. M., Weaver, C., Berg, L. J., & Janeway, C. A. (with Barton, G.). (2022). Janeway's immunobiology (10th edition, international student edition). W.W. Norton & Company.
10. Smolen, J. S., Aletaha, D., & McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. The Lancet, 388(10055), 2023–2038. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30173-8
11. Alluri, A., Pawar, A., Khetan, S., Singhal, R., Suvarna, S., Adsure, M., & Swathi, N. L. (2025). Early aggressive treatment with DMARDs vs. step-up therapy in rheumatoid arthritis: A traditional review of joint damage and functional outcomes. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2025-0060

12. Smolen, J. S., Aletaha, D., Koeller, M., Weisman, M. H., & Emery, P. (2007). New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet (London, England)*, *370*(9602), 1861–1874. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60784-3
13. Abbasi, M., Mousavi, M. J., Jamalzehi, S., Alimohammadi, R., Bezvan, M. H., Mohammadi, H., & Aslani, S. (2019). Strategies toward rheumatoid arthritis therapy; the old and the new. *Journal of cellular physiology*, *234*(7), 10018–10031. https://doi.org/10.1002/jcp.27860
14. Tornero Molina, J., Ballina García, F. J., Calvo Alén, J., Caracuel Ruiz, M. Á., Carbonell Abelló, J., López Meseguer, A., Moreno Muelas, J. V., Pérez Sandoval, T., Quijada Carrera, J., Trenor Larraz, P., & Zea Mendoza, A. (2015). Recommendations for the use of methotrexate in rheumatoid arthritis: up and down scaling of the dose and administration routes. *Reumatologia clinica*, *11*(1), 3–8. https://doi.org/10.1016/j.reuma.2014.02.012
15. Wang, Z., Huang, J., Xie, D., He, D., Lu, A., & Liang, C. (2021). Toward Overcoming Treatment Failure in Rheumatoid Arthritis. Frontiers in Immunology, 12, 755844. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.755844
16. Smolen, J. S., van der Heijde, D., Machold, K. P., Aletaha, D., & Landewé, R. (2014). Proposal for a new nomenclature of disease-modifying antirheumatic drugs. Annals of the Rheumatic Diseases, 73(1), 3–5. https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204317
17. Tian, H., & Cronstein, B. N. (2007). Understanding the mechanisms of action of methotrexate: Implications for the treatment of rheumatoid arthritis. Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases, 65(3), 168–173.
18. Radu, A. F., & Bungau, S. G. (2021). Management of rheumatoid arthritis: An overview. Cells, 10(11), 2857. https://doi.org/10.3390/cells10112857
19. Fox, R. I., Herrmann, M. L., Frangou, C. G., Wahl, G. M., Morris, R. E., & Kirschbaum, B. J. (1999). How Does Leflunomide Modulate the Immune Response in Rheumatoid Arthritis?: BioDrugs, 12(4), 301–315. https://doi.org/10.2165/00063030-199912040-00007
20. Rohit, N., Thakur, B., Jain, A., Jain, P. K., Khare, B., & Jat, Y. S. (2022). Comprehensive Review on Rheumatoid Arthritis. International Journal of Medical Sciences and Pharma Research, 8(3), 39–45. https://doi.org/10.22270/ijmspr.v8i3.58
21. Tisserand, R., & Young, R. (2014). *Essential oil safety : a guide for health care professionals* (Second edition.). Churchill Livingstone/Elsevier Ltd.
22. Siqueira, H. D. S., Neto, B. S., Sousa, D. P., Gomes, B. S., da Silva, F. V., Cunha, F. V. M., Wanderley, C. W. S., Pinheiro, G., Cândido, A. G. F., Wong, D. V. T., Ribeiro, R. A., Lima-Júnior, R. C. P., & Oliveira, F. A. (2016). α-Phellandrene, a cyclic monoterpene, attenuates inflammatory response through neutrophil migration inhibition and mast cell degranulation. *Life sciences*, *160*, 27–33. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.07.008
23. Piccinelli, A. C., Santos, J. A., Konkiewitz, E. C., Oesterreich, S. A., Formagio, A. S., Croda, J., Ziff, E. B., & Kassuya, C. A. (2015). Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)-(+)-limonene, α-phellandrene, and essential oil from Schinus terebinthifolius fruits in a neuropathic pain model. *Nutritional neuroscience*, *18*(5), 217–224. https://doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000119
24. Council of Europe. (1986). *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS No. 123).* https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list?module=treaty-detail&treatynum=123
25. Webster, J. M., Kempen, L. J. A. P., Hardy, R. S., & Langen, R. C. J. (2020). Inflammation and Skeletal Muscle Wasting During Cachexia. *Frontiers in physiology*, *11*, 597675. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.597675

26. McInnes, I. B., & Schett, G. (2011). The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *The New England journal of medicine*, *365*(23), 2205–2219. https://doi.org/10.1056/NEJMra1004965
27. Wang, Y. C., Kong, W. Z., Jin, Q. M., Chen, J., & Dong, L. (2015). Effects of salvianolic acid B on liver mitochondria of rats with nonalcoholic steatohepatitis. *World journal of gastroenterology*, *21*(35), 10104–10112. https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i35.10104
28. La Rosa, I. A., Ruiz-Ponce, M., Cuesta-López, L., Pérez-Sánchez, C., Leiva-Cepas, F., Gahete, M., Navarro, P., Ortega, R., Cordoba, J., Pérez-Pampin, E., González, A., Lucendo, A., Collantes-Estévez, E., López-Pedrera, C., Escudero-Contreras, A., & Barbarroja, N. (2023). Clinical features and immune mechanisms directly linked to the altered liver function in patients with rheumatoid arthritis. *European Journal of Internal Medicine*, *118*, 49–58. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2023.08.002

DYSREGULÁCIA SYNTÉZY PGE2 A EXPRESIE JEHO RECEPTOROV V MODELI PĽÚCNEJ ARTÉRIOVEJ HYPERTENZIE

DYSREGULATION OF PGE2 SYNTHESIS AND EXPRESSION OF ITS RECEPTORS IN A MODEL OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION

Katanová M[1], Hadová K[1], Dóka G[1], Kmecová Z[1], Babjaková J[1], Maliková E[1], Kraľová E[1], Klimas J[1], Křenek P[1]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika

Abstrakt: Pľúcna artériová hypertenzia (PAH) je závažné, nevyliečiteľné ochorenie vedúce k vaskulárnej remodelácii a pravokomorovému zlyhaniu. Prostaglandín E2 a jeho receptory sú kľúčové mediátory zápalu a vaskulárnej homeostázy, no ich špecifické funkcie v patogenéze PAH nie sú plne objasnené. Selektívna aktivácia EP2 a EP4 môže mať pozitívny vplyv a nadmerná aktivita EP1 a EP3 môže pôsobiť detrimentálne. Cieľom našej práce bolo sledovať relatívnu génovú expresiu enzýmu Ptges (PGE syntáza) a receptorov *Ptger1-4* (EP1-4) v pľúcach, pravej (PK) a ľavej (ĽK) komore počas vývoja PAH v potkaňom modeli indukovanom monokrotalínom (MCT, 60 mg/kg, i.p.). Vzorky boli odobraté po 1, 2, 4 týždňoch (1w, 2w, 4w) a v štádiu pokročilej deteriorácie (ptMCT), pričom expresia bola stanovená metódou RT-qPCR. Zistili sme, že v pľúcach dochádza k zvýšenej expresii *Ptger1, Ptger2 a Ptger4* v pokročilých štádiách a k zvýšeniu *Ptges* v ptMCT. V PK sme zaznamenali zníženú expresiu *Ptger3* a zvýšenú expresiu *Ptger2* a *Ptger4* v 4w/ptMCT skupinách, pričom *Ptger4* bolo znížené v 1w/2w. V ĽK bola zistená zvýšená expresia *Ptger3* v ptMCT a znížená expresia *Ptger2* v 4w MCT. Výrazne zvýšená expresia *Ptges* potvrdzuje vysokú aktivitu PGE2 signálnej dráhy. Výsledky poukazujú na antagonistickú expresiu receptorov, kde zvýšená expresia *Ptger2* a *Ptger*4 v pľúcach a v PK spolu so zníženou *Ptger3* v PK môžu predstavovať kompenzačné mechanizmy (vazodilatácia, anti-proliferácia). Naopak, up-regulácia *Ptger1* v pľúcach a *Ptger3* v ĽK u ptMCT podporujú ich patofyziologickú úlohu v remodelácii a hypertrofii (↑Ca^{2+} → inhibícia cAMP). Výsledky podporujú teóriu, že EP1/EP3 sú pro-patologické a EP2/EP4 sú protektívne. Selektívna modulácia jednotlivých EP receptorov tak predstavuje sľubný, cielený farmakologický prístup pri liečbe PAH.

Summary: Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a severe, incurable disease leading to vascular remodeling and right ventricular failure. Prostaglandin E2 (PGE2) and its receptors are key mediators of inflammation and vascular homeostasis; however, their specific functions in the pathogenesis of PAH remain not fully elucidated. Selective activation of EP2 and EP4 may exert a positive impact, while excessive EP1 and EP3 activity may act detrimentally. The aim of our study was to monitor the relative gene expression of the enzyme *Ptges* (PGE synthase) and receptors *Ptger1-4* (EP1-4) in the lungs, right ventricle (RV), and left ventricle (LV) during PAH development in a monocrotaline-induced rat model (MCT, 60 mg/kg, i.p.). Samples were collected at 1, 2, and 4 weeks (1w, 2w, 4w) and at a stage of advanced deterioration (ptMCT), with expression determined *via* RT-qPCR. We found that in the lungs, *Ptger1*, *Ptger2*, and *Ptger4* expression increased in advanced stages, with an increase in *Ptges* in the ptMCT group. In the RV, was decreased *Ptger3* and increased *Ptger2* and *Ptger4* expression in the 4w/ptMCT groups, while *Ptger4* was decreased at 1w/2w. In the LV, increased *Ptger3* expression was in ptMCT and decreased *Ptger2* in 4w MCT. Significantly increased *Ptges* expression confirms the high activity of the PGE2 signaling pathway. The results point to antagonistic receptor expression, where increased expression of *Ptger2* and *Ptger4* in the lungs and RV, together with decreased *Ptger3* in the RV, may represent compensatory

mechanisms (vasodilation, anti-proliferation). Conversely, the upregulation of *Ptger1* in the lungs and *Ptger3* in the LV of ptMCT rats supports their pathophysiological role in remodeling and hypertrophy ($\uparrow Ca^{2+} \rightarrow$ cAMP inhibition). The results support the theory that EP1/EP3 are pro-pathological and EP2/EP4 are protective. Selective modulation of individual EP receptors represents a promising, targeted pharmacological approach for the treatment of PAH.

Kľúčové slová: PAH, zápal, remodelácia, EP receptory, prostaglandín E_2
Keywords: PAH, inflamation, remodeling, EP receptors, prostaglandin E_2

ÚVOD

Pľúcna artériová hypertenzia (PAH) predstavuje progresívne ochorenie, ktorého súčasná terapia je stále limitovaná na zmierňovanie klinických symptómov. Patofyziologický podklad PAH zahŕňa zvýšený tlak v pľúcnych artériách vyvolaný intenzívnou kontrakciou hladkej svaloviny ciev, jej následnou proliferáciou a signifikantnou vaskulárnou remodeláciou, čo vedie k nárastu cievnej rezistencie. Tieto procesy, sprevádzané zápalovou odpoveďou a apoptózou endotelových buniek, vyúsťujú do zlyhania pravej komory srdca a predčasnej mortality (1). Kritickým problémom zostáva nepriaznivá prognóza s priemernou dobou prežívania pacientov približne 7 rokov. Tento stav môže súvisieť s oneskorenou diagnostikou, keďže u viac ako 50 % pacientov presahuje interval medzi prvými symptómami a potvrdením diagnózy priemerne jeden rok (2,3).

Významným limitom manažmentu PAH zostáva neuspokojivá farmakologická liečba, ktorá nedokáže ochorenie úplne eliminovať, ale sústreďuje sa len na parciálnu supresiu jeho prejavov (4,5). Súčasné terapeutické prístupy sú primárne cielené na inhibíciu nadmernej arteriálnej vazokonstrikcie, pričom procesy vaskulárnej remodelácie predstavujú pretrvávajúci terapeutický problém (6). Doteraz schválené terapeutické modality zasahujú do rôznych signálnych dráh a zahŕňajú antagonistov endotelínových receptorov, analógy prostacyklínu, agonistov prostacyklínových receptorov, inhibítory fosfodiesterázy 5 a aktivátory solubilnej guanylátcyklázy. Hoci tieto látky signifikantne zlepšujú funkčný stav pacientov, vykazujú obmedzenú schopnosť regulovať proliferáciu patologicky zmenených buniek. Určitý pokrok v tejto oblasti predstavuje nedávno schválený sotatercept – fúzny proteín schopný blokovať nadmernú signalizáciu rastových faktorov z kaskády TGF-β. Napriek pokrokom vo farmakoterapii zostáva pre pacientov v pokročilom štádiu PAH najúčinnejšou liečebnou metódou transplantácia pľúc (4,7,8, 9).

Doterajší výskum PAH zistil že prostaglandíny (PGs) sú základnými mediátormi PAH. Bol zameraný na identifikáciu mechanizmov signálnych dráh zapojených do PAH. Významnou vetvou výskumu PAH bolo zameranie sa na jednotlivé receptory prostaglandínov. Zistili sa ich rôzne fyziologické účinky: receptor 1 pre prostaglandín D (DP1), receptor 2 a 4 pre prostaglandín E (EP2, EP4) a receptor pre prostacyklín I (IP) majú pozitívny účinok na priebeh PAH a to vďaka dokázanej zlepšenej remodelácii pľúcnych artérií. Naopak, zhoršená PAH bola pozorovaná pri účinku na receptor 2 pre prostaglandín D (DP2), receptor 3 pre prostaglandín E (EP3) a receptor pre tromboxán A (TP). Vo všeobecnosti prevládajú názory, že prostaglandínové dráhy sú dobrým terapeutickým cieľom pre liečbu PAH, avšak sú potrebné ďalšie štúdie v tejto problematike na vytvorenie viac špecifickej liečby PAH, ktorá by potenciálne vedela zvrátiť priebeh tohto ochorenia (1).

MATERIÁLY A METÓDY

PAH bola indukovaná u potkanov kmeňa Wistar jednorazovým subkutánnym podaním monokrotalínu (MCT; 60 mg/kg). Zvieratá boli rozdelené do experimentálnych skupín podľa času odberu tkanív, a to 1, 2 a 4 týždne po indukcii, pričom skupina v 4. týždni zahŕňala aj predčasne utratené jedince vykazujúce závažné klinické príznaky ochorenia. Po odbere vzoriek pľúc, pravej komory a ľavej komory srdca nasledovala molekulárno-biologická analýza zameraná na expresiu vybraných génov.

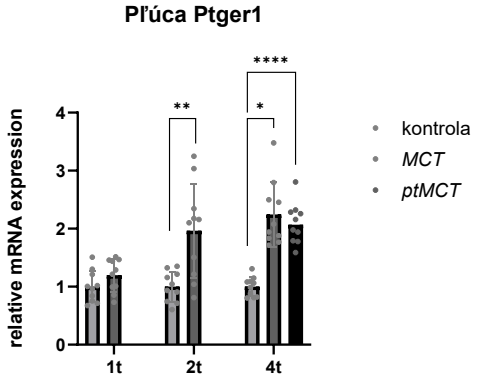
Špecifické primery pre prostaglandín E syntázu (*Ptges*), a receptory prostaglandínu E (*EP1-4*), boli navrhnuté pomocou softvéru Primer-BLAST (NCBI). Funkčnosť a špecifita navrhnutých primerov boli verifikované metódou RT-qPCR s následnou detekciou PCR produktov pomocou gélovej elektroforézy. Celková RNA izolovaná z tkanív bola prepísaná do formy komplementárnej cDNA prostredníctvom reverznej transkripcie. Relatívna expresia mRNA sledovaných cieľov bola stanovená metódou RT-qPCR, pričom získané dáta boli štatisticky vyhodnotené a vizualizované v programoch MS Excel a GraphPad Prism.

VÝSLEDKY

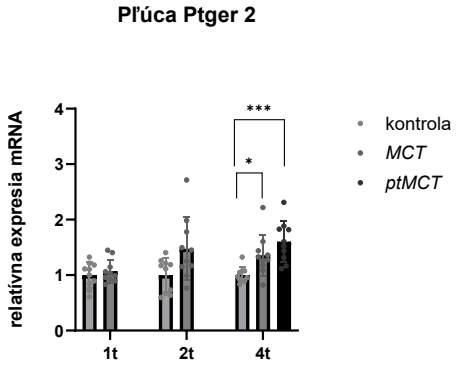
Analýza génovej expresie pomocou RT-qPCR odhalila signifikantné orgánovo-špecifické zmeny v dráhe prostaglandínu E2 počas progresie PAH. V pľúcnom tkanive sme zaznamenali signifikantný nárast expresie receptorov Ptger1 (obrázok 1), Ptger2 (obrázok 2) a Ptger4 (obrázok 3)v pokročilých štádiách ochorenia, konkrétne v 2. a 4. týždni a tiež u terminálne chorých potkanov (ptMCT). Receptor Ptger3 ostal nezmenený (obrázok 3). V rámci skupiny ptMCT bola v pľúcach súčasne detegovaná aj signifikantne zvýšená expresia syntázy Ptges.

V pravej komore (RV) bola pozorovaná komplexná dynamika zmien, charakterizovaná najmä signifikantným poklesom expresie receptora Ptger3 (obrázok 11). V neskorých štádiách experimentu (4w MCT a ptMCT) došlo v RV k signifikantnej up-regulácii receptorov Ptger2 (obrázok 10) a Ptger4 (obrázok 12), pričom v prípade Ptger4 tomuto nárastu predchádzala signifikantne znížená expresia v počiatočných dvoch týždňoch rozvoja ochorenia. Ptger1 dosiahol len hranične signifikatný trend v skupine ptMCT ($p=0,0509$) (obrázok 9).

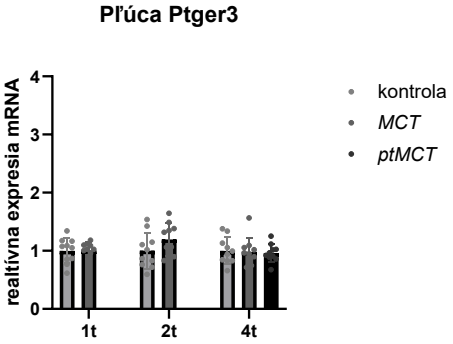
Odlišný profil expresie vykazovala ľavá komora (LV), kde sme v skupine ptMCT zaznamenali signifikantné zvýšenie expresie Ptger3 (obrázok 7). Naopak, expresia receptora Ptger2 (obrázok 5) bola v rámci 4. týždňa (4w MCT) v ľavej komore signifikantne znížená. Expresie génov pre receptory EP1 (obrázok 6) a EP4 (obrázok 8) ostali nezmenené. Tieto zistenia poukazujú na výraznú heterogenitu v regulácii receptorov PGE2 v závislosti od konkrétneho tkaniva a štádia pľúcnej artériovej hypertenzie.



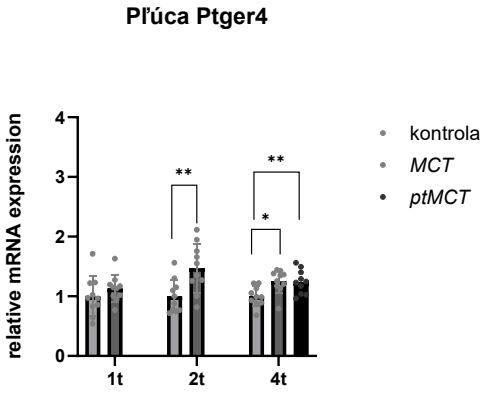
Obrázok 1. Expresia génu pre EP1 receptor v pľúcach



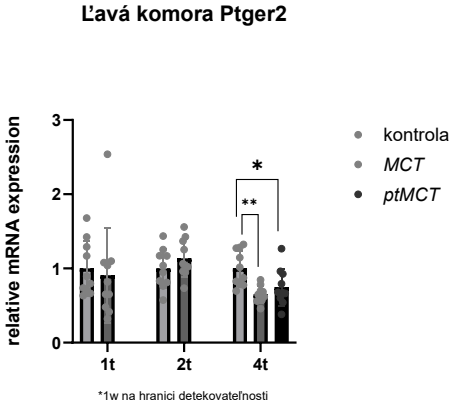
Obrázok 2. 1 Expresia génu pre EP2 receptor v pľúcach



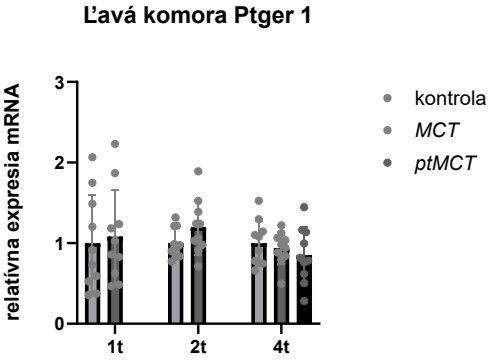
Obrázok 3. Expresia génu pre EP3 receptor v pľúcach



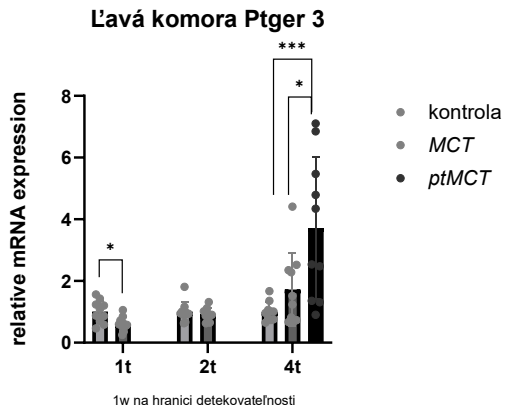
Obrázok 4. Expresia génu pre EP4 receptor v pľúcach



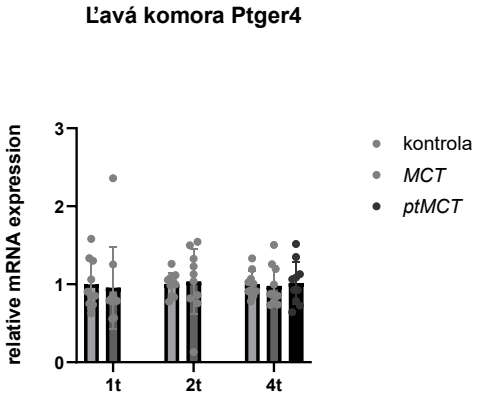
Obrázok 5. Expresia génu pre EP2 receptor ľavej komore



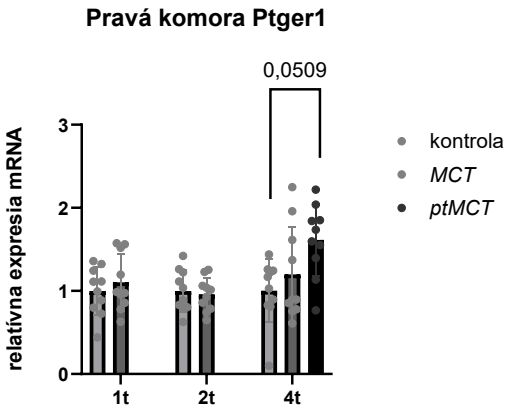
Obrázok 6. Expresia génu pre EP1 receptor ľavej komore



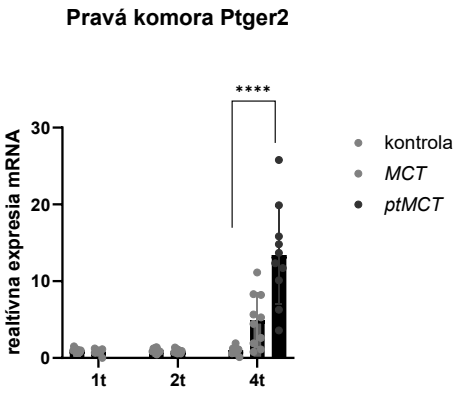
Obrázok 7. Expresia génu pre EP3 receptor ľavej komore



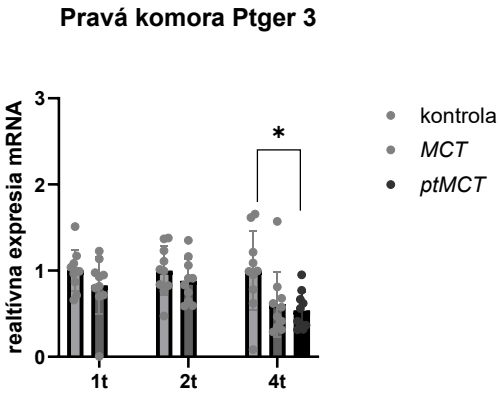
Obrázok 8. Expresia génu pre EP4 receptor ľavej komore



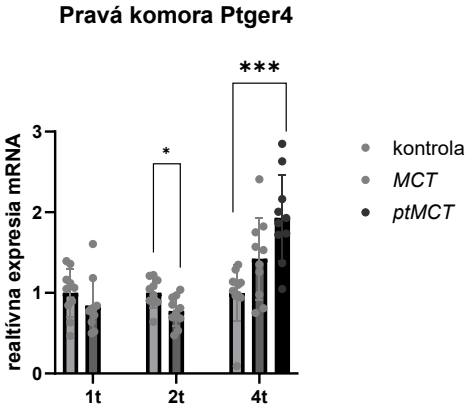
Obrázok 9. Expresia génu pre EP1 receptor pravej komore



Obrázok 10. Expresia génu pre EP2 receptor pravej komore



Obrázok 11. Expresia génu pre EP3 receptor pravej komore



Obrázok 12. Expresia génu pre EP4 receptor pravej komore

DISKUSIA A ZÁVER

Výsledky našej štúdie potvrdili výraznú orgánovo-špecifickú up-reguláciu dráhy PGE2, pričom kľúčovým faktorom patogenézy PAH sa javí protichodné pôsobenie EP receptorov. V pľúcnom tkanive a v pravej komore (RV) sme zaznamenali signifikantne zvýšenú expresiu Ptger4 (EP4) a Ptger2 (EP2), čo spolu so znížením pro-fibrotického Ptger3 (EP3) v RV interpretujeme ako aktiváciu kompenzačných mechanizmov zameraných na vazodilatáciu a inhibíciu patologickej proliferácie. Táto snaha o homeostázu je však v pokročilých štádiách ochorenia prekonaná up-reguláciou pro-patologického receptora Ptger1 (EP1) v pľúcach a Ptger3 v ľavej komore, ktoré cez nárast intracelulárneho Ca^{2+} a inhibíciu cAMP priamo podporujú vaskulárnu remodeláciu a hypertrofiu.

Zistená dysregulácia oboch komôr potvrdzuje, že PAH je komplexné systémové ochorenie vyžadujúce cielený zásah. Celá signálna dráha je poháňaná zvýšenou hladinou enzýmu mPges-1, ktorý zabezpečuje vysokú dostupnosť ligandu pre všetky EP receptory. Práve selektívna inhibícia mPges-1 sa preto javí ako atraktívna stratégia: dokáže eliminovať škodlivú signalizáciu cez EP1 a EP3 a zároveň môže presmerovať syntézu k ochrannému prostacyklínu PGI_2.

Naše dáta taktiež naznačujú, že aj selektívna modulácia EP receptorov – najmä potlačenie pro-patologickej osi EP1/EP3 a podpora protektívnej dráhy EP2/EP4 – predstavuje perspektívny farmakologický prístup k zlepšeniu prognózy PAH.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ZENG, Cheng, et al., 2023. Prostaglandin and prostaglandin receptors: present and future promising therapeutic targets for pulmonary arterial hypertension. Respiratory Research. 2023, roč. 24, č. 1, s. 263. ISSN 1465-993X.
2. MCGOON, M.D. a D.P. MILLER, 2012. REVEAL: a contemporary US pulmonary arterial hypertension registry. European Respiratory Review. 2012, roč. 21, č. 123, s. 8–18. ISSN 0905-9180, 1600-0617.
3. MCGOON, Michael D., et al., 2013. Pulmonary Arterial Hypertension. Journal of the American College of Cardiology. 2013, roč. 62, č. 25, s. D51–D59. ISSN 07351097.
4. SPIEKERKOETTER, Edda, Steven M. KAWUT a Vinicio A. DE JESUS PEREZ, 2019. New and Emerging Therapies for Pulmonary Arterial Hypertension. Annual Review of Medicine. 2019, roč. 70, č. 1, s. 45–59. ISSN 0066-4219, 1545-326X.
5. O'CALLAGHAN, Dermot S., et al., 2011. Treatment of pulmonary arterial hypertension with targeted therapies. Nature Reviews Cardiology. 2011, roč. 8, č. 9, s. 526–538. ISSN 1759-5002, 1759-5010.
6. HUMBERT, Marc, Olivier SITBON a Gérald SIMONNEAU, 2019. (Pozn.: V texte citované dielo ako European Respiratory Journal).
7. AZAREDO RAPOSO, Miguel, et al., 2024. Pulmonary arterial hypertension: Navigating the pathways of progress in diagnosis, treatment, and patient care. Revista Portuguesa de Cardiologia. 2024, roč. 43, č. 12, s. 699–719. ISSN 08702551.
8. HUMBERT, Marc, Olivier SITBON a Gérald SIMONNEAU, 2004. Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension. New England Journal of Medicine. 2004, roč. 351, č. 14, s. 1425–1436. ISSN 0028-4793, 1533-4406.
9. RYERSON, Christopher J, et al., 2010. Pharmacotherapy in pulmonary arterial hypertension: a systematic review and meta-analysis. Respiratory Research. 2010, roč. 11, č. 1, s. 12. ISSN 1465-993X.

10. ZENG, Cheng, Jing LIU, Xialei ZHENG, Xinqun HU a Yuhu HE, 2023. Prostaglandin and prostaglandin receptors: present and future promising therapeutic targets for pulmonary arterial hypertension. Respiratory Research [online]. 2023, roč. 24, č. 1, s. 263. ISSN 1465-993X. Dostupné na: doi:10.1186/s12931-023-02559-3

ÚČINOK KYNURENÍNOVEJ KYSELINY PRI LIEČBE FIBROTICKÝCH OCHORENÍ

EFFECT OF KYNURENIC ACID IN THE TREATMENT OF FIBROTIC DISEASES

Kekeláková A[1], Sýkorová S[1], Vavrinec P[1], Vavrincová-Yaghi D[1]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika

Abstrakt: Konečné štádium chronických ochorení obličiek často ústi do renálnej fibrózy. Vzniká zápalová odpoveď, pri ktorej je oblička infiltrovaná imunitnými bunkami. Transformujúci rastový faktor β (TGF-β) je kľúčový cytokín spôsobujúci závažnú fibrózu. Kyselina kynurenínová (KYNA) potláča imunitnú odpoveď, preto môže vykazovať terapeutický potenciál pri modulácii priebehu renálnej fibrózy. Našim cieľom bolo preskúmať účinok KYNA na expresiu markerov prefibrózy a proteínov TGF-β kaskády v *in vitro* bunkovom modeli fibrózy a v *in vivo* modeli fibrózy indukovanej unilaterálnou obštrukciou uretra (UUO). Myšacie fibroblasty boli stimulované rekombinantným TGF-β a liečené dvoma dávkami KYNA (50 μmol/l a 150 μmol/l). Neliečené a nestimulované bunky slúžili ako kontrola. Po 72 hodinách kultivácie boli bunky zozbierané a následne sa analyzovala expresia proteínov signálnej kaskády TGF-β. Potkany boli rozdelené do kontrolnej skupiny, skupiny, ktorá podstúpila UUO a do skupiny s UUO liečenej s KYNA (100 mg/kg à 24 hod p.o.) počas 7 dní. Na ôsmy deň boli potkany utratené a obličky boli použité na histologickú a imunohistochemickú analýzu. Zistili sme, že KYNA signifikantne znižovala expresiu proteínov pp38, pSMAD2 a α-SMA v *in vitro* modeli a taktiež redukovala renálnu fibrózu a α-SMA pozitívnu oblasť v *in vivo* modeli UUO. Výsledky tak ukazujú na pozitívny antifibrotický účinok KYNA.

Summary: The final stage of chronic kidney diseases often leads to renal fibrosis characterized by inflammation. Transforming growth factor β (TGF-β) is a key cytokine causing severe fibrosis. Kynurenic acid (KYNA) suppresses the immune response and may therefore show therapeutic potential in modulating of renal fibrosis. The aim of our study was to determine the effect of KYNA on the expression of pre-fibrotic markers and TGF-β signalling pathwas proteins in an *in vitro* cellular model of fibrosis and in an *in vivo* model of fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction (UUO). Mouse fibroblasts were stimulated with recombinant TGF-β and treated with two doses of KYNA (50 μmol/L and 150 μmol/L). Untreated and unstimulated cells served as controls. After 72 hours of cultivation, the cells were harvested, and the protein expression of the TGF-β pathway was analysed. Rats were randomized into a control group, a group that underwent UUO, and a UUO group treated with KYNA (100 mg/kg à 24 h p.o.) for 7 days. On the eighth day, the animals were euthanized, and the kidneys were used for histological and immunohistochemical analysis. We found out that KYNA decreased the expression of profibrotic proteins pp38, pSMAD2, and α-SMA in the *in vitro* fibrotic model. Furthermore, KYNA significantly reduced renal fibrosis and α-SMA positive area in the *in vivo* UUO model. Thus, our results demonstrate the positive antifibrotic effect of KYNA.

Kľúčové slová: obličky, renálna fibróza, TGF-β, kynurenínová kyselina
Keywords: kidney, renal fibrosis, TGF-β, kynurenic acid

ÚVOD

Renálna fibróza predstavuje konečný prejav chronického ochorenia obličiek (CKD), ktoré je sprevádzané glomerulosklerózou, atrofiou tubulov a chronickým zápalom. Dereguláciou hojenia rán dochádza k nadmernej tvorbe proteínov extracelularného matrixu (ECM), aktivujú sa lokálne fibroblasty a zvýši sa tvorba zápalových mediátorov, ktoré podporujú produkciu ECM (1).

Kľúčovým procesom pri iniciácii renálnej fibrózy je signálna dráha transformujúceho rastového faktora β (TGF-β). TGF-β indukuje svoje fibrotické účinky viacerými mechanizmami. Hlavnú cestu predstavuje kanonická vetva TGF-β/Smad. Aktivovaná signálna kaskáda ovplyvňuje expresiu génov pre fibrotické proteíny, ktorými sú fibronektín, kolagén a hladkosvalový aktín α (α-SMA). Táto signálna kaskáda môže byť aktivovaná aj prostredníctvom nekanonickej vetvy, ktorá nie je závislá na molekulách Smad (2).

Rozsah renálnej fibrózy nepriamo koreluje s funkciou obličiek, preto fibróza predstavuje vhodný terapeutický cieľ pri liečbe CKD. Avšak doposiaľ neexistuje žiadna špecifická antifibrotická terapia (3).

Kynurenínová kyselina (KYNA), ktorá je metabolitom degradácie tryptofánu (Trp), vykazuje účinný antifibrotický efekt pri terapii dermálnej fibrózy (4). Na základe danej skutočnosti je preto dôležité objasniť potenciálny antifibrotický účinok KYNA na *in vitro* a *in vivo* modeli renálnej fibrózy, ktorému sme sa venovali v tejto práci.

MATERIÁL A METÓDY

Na *in vitro* experiment fibrózy sa využívali komerčne dostupné imortalizované myšacie embryonálne fibroblasty NIH/3T3. Bunky boli kultivované za štandardných podmienok (humidifikovaný inkubátor 37 °C, 5 % CO2) v Dulbecco's modified Eagle's médiu (DMEM) s obsahom 4,5 g/L glukózy doplneným streptomycínom (1000 µg/ml), penicilínom (1000 U/mL) a 10 % fetálnym teľacím sérom (FBS).

Na experimenty sa využívali bunky kultivované v 6-jamkových platničkách s 80 % konfluenciou. Takto pripravené bunky boli rozdelené do štyroch skupín. Kontrolná skupina (CTRL), skupina buniek stimulovaná rekombinantným TGF-β (5 ng/ml; TGF) a bunky stimulované s TGF-β a zároveň liečené KYNA v dávke 50 µmol/l (TKa50) a 150 µmol/l (TKa150).

In vivo model bol uskutočnený na potkanoch kmeňa Wistar. Potkany boli chované v štandardných podmienkach s prístupom k potrave a pitnej vode *ad libitum*. Protokoly použitia zvierat na experimentálne účely boli schválené Štátnou veterinárnou správou a lokálnou etickou komisiou. Experiment bol vykonaný v súlade so smernicami pre prácu s laboratórnymi zvieratami.

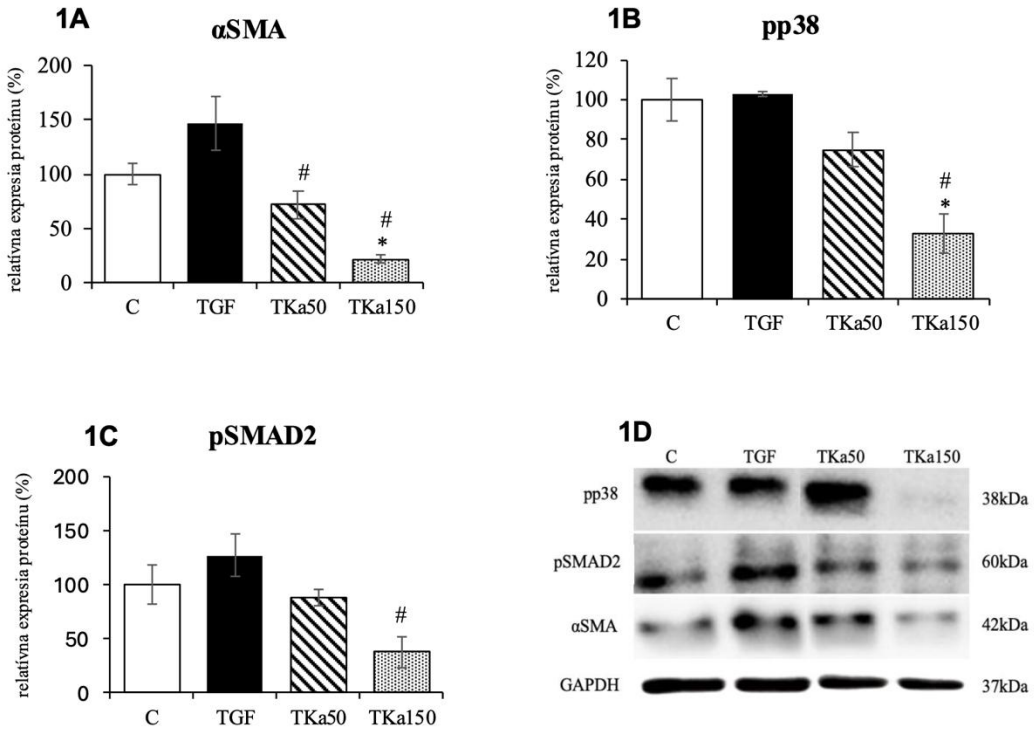
Zvieratá boli rozdelené do troch skupín (n=10), do kontrolnej skupiny (SHAM), skupiny, ktorá operačne podstúpila unilaterálnu obštrukciu uretra (UUO) a do skupiny s UUO liečenej s KYNA (100 mg/kg à 24 hod p.o.) počas 7 dní. Na 8. deň boli zvieratá utratené exsanguináciou a obličky odobraté na histologickú a imunohistochemickú analýzu.

VÝSLEDKY

V *in vitro* modeli fibrózy na NIH/3T3 bunkách indukovanom TGF-β sme po 72 hodinách od expozície nepozorovali signifikantné zmeny expresie α-SMA v skupine TGF v porovnaní s kontrolnou skupinou. Naopak, podanie KYNA v koncentráciách 50 a 150 µmol/l

viedlo k signifikantnému zníženiu expresie α-SMA vzhľadom na skupinu TGF (obrázok 1A, $p < 0,05$).

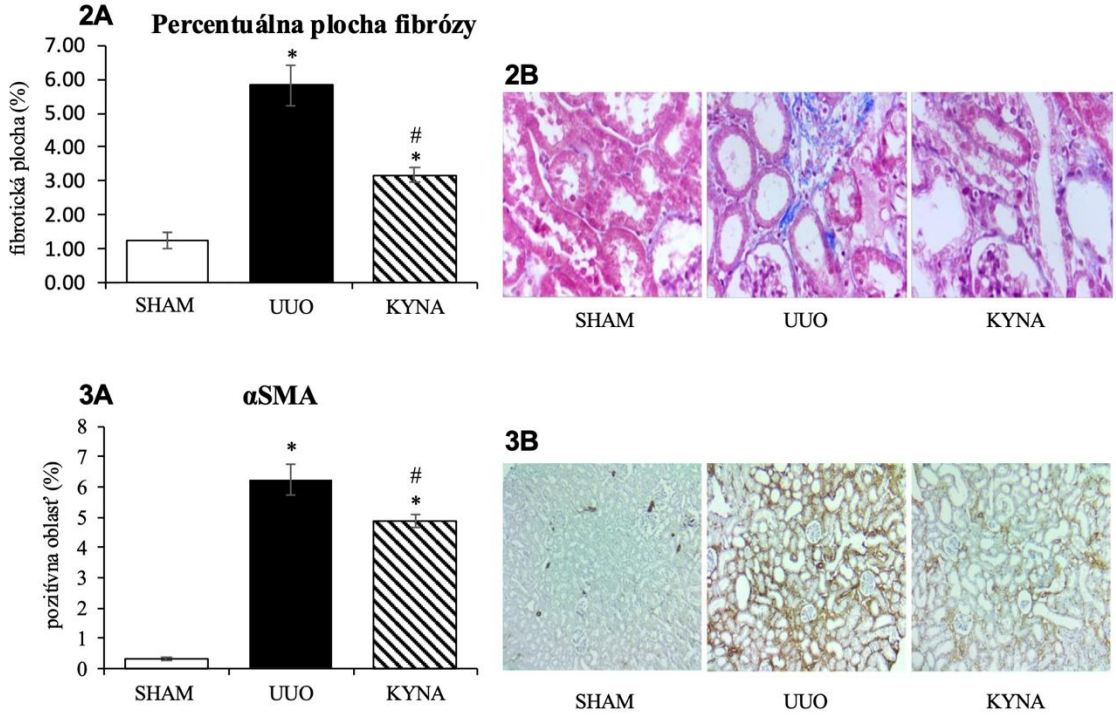
Pri pSMAD2 sme taktiež nepozorovali zmenu expresie v skupine TGF v porovnaní s kontrolnou vzorkou, avšak liečba s KYNA v dávke 150 μmol/l signifikantne znižovala expresiu daného proteínu (obrázok 1C, $p < 0,05$). Expresia proteínu pp38 rovnako nevykazovala v skupine TGF signifikantné zmeny oproti kontrolnej vzorke. Napriek tomu bolo v skupine Tka150 pozorované signifikantné zníženie expresie pp38 v porovnaní so skupinou TGF aj kontrolou (obrázok 1B, $p < 0,05$).



Obrázok 1: Relatívna expresia proteínov α-SMA (1A), pp38 (1B) a pSMAD2 (1C), reprezentatívne snímky z membrán Western blotu (1D). # $p < 0,05$ vs. TGF, * $p < 0,05$ vs. C

V *in vivo* modeli fibrózy sme zaznamenali signifikantné zvýšenie fibrotickej plochy, hodnotenej na základe množstva intersticálne uloženého kolagénu v obličkách, u skupiny UUO v porovnaní s kontrolnou skupinou (obrázok 2B). Fibrotická plocha sa u skupiny KYNA signifikantne znižovala oproti UUO skupine (obrázok 2A, $p < 0,05$).

Rovnako sme v skupine UUO pozorovali aj zvýšenie α-SMA pozitívnej oblasti oproti kontrolám, zatiaľ čo KYNA túto oblasť signifikantne redukovala v porovnaní s UUO skupinou (obrázok 3A, $p < 0,05$).



Obrázok 2: Percentuálna plocha fibrózy v obličkách (2A), histologické zobrazenie fibrotickej plochy (2B), α-SMA pozitívna oblasť (3A), imunohistochemické zobrazenie α-SMA pozitívnej oblasti (3B). # $p < 0,05$ vs. UUO, * $p < 0,05$ vs. SHAM

DISKUSIA A ZÁVER

Tkanivová fibróza, nadmerné alebo neregulované ukladanie proteínov extracelulárneho matrixu (ECM), je bežným patofyziologickým prejavom širokého spektra chronických ochorení (5). Hlavnú úlohu pri rozvoji renálnej fibrózy zohráva transformujúci rastový faktor-β (TGFβ). TGF-β vykazuje svoje profibrotické vlastnosti prostredníctvom aktivácie kanonických a nekanonických signálnych dráh, ktoré indukujú proliferáciu a aktiváciu myofibroblastov a následnú akumuláciu ECM (6). Kynurenínová kyselina (KYNA) sa podieľa na ovplyvnení imunitnej reakcie. Preukázalo sa, že spolu s kynurenínom (KYN) má lokálny antifibrotický účinok pri regulácii procesu jazvenia kože. Avšak zistilo sa, že KYN vykazuje nežiadúce účinky spojené s neurotoxicitou, preto KYNA, ktorá neprechádza hematoencefalickou bariérou, predstavuje vhodnejšiu a bezpečnejšiu alternatívu systémovej liečby fibrotických ochorení v porovnaní s KYN v *in vivo* podmienkach (4).

Hoci sme v *in vitro* modeli fibrózy, v ktorom boli myšacie NIH/3T3 fibroblasty stimulované rekombinantným TGF-β, nezaznamenali signifikantné zmeny expresie proteínov v TGF skupinách oproti kontrolným skupinám, aj napriek tomu podanie KYNA stimulovaným bunkám expresiu daných proteínov signifikantne znižovalo. Expresia proteínov signálnej kanonickej či nekanonickej kaskády je predmetom skúmania mnohých štúdií zameraných na rozvoj a progresiu fibrózy. Zhiqin Liu a kolektív skúmali účinok slabého induktora apoptózy (TWEAK) podobného nádorovému nekrotickému faktoru pri lupusovej nefritíde a jeho potenciálne základné mechanizmy pri rozvoji renálnej fibrózy. Počas výskumu zistili, že spomínaný TWEAK urýchľuje progresiu renálnej fibrózy, pretože pri *in vitro* experimente došlo k zvýšenej expresii proteínov signálnej TGF-β kaskády. Konkrétne sledovali zvýšenie pSMAD2, p38 a αSMA, ktoré boli predmetom aj nášho pozorovania v *in vitro* modeli fibrózy.

Rovnako aj v prípade *in vivo* experimentu autori pozorovali histologický rozvoj fibrózy charakteristický zvýšeným ukladaním kolagénu a atrofiou tubulov, čo je typické pre experimentálny model UUO. V súlade s týmito zisteniami sme aj v našom experimente zaznamenali zväčšenie fibrotickej plochy v skupinách UUO, ktoré bolo účinkom KYNA signifikantne redukované. Pri fibróze dochádza k zvýšenej expresii pSMAD, pp38 a αSMA, ako aj k nadmernému ukladaniu kolagénu v interstíciu. Redukcia týchto markerov účinkom skúmanej látky poukazuje na jej významný antifibrotický účinok, čo sme pozorovali aj v prípade KYNA (7).

In vivo model UUO je zaužívaný experimentálny spôsob navodenia renálnej fibrózy, pri ktorom dochádza k poškodeniu obličkových tubulov v dôsledku zastaveného odvádzania moču a tvorbe zápalových a fibrotických proteínov (8). Naše zistenie o rozvoji fibrózy pri *in vivo* modeli UUO korešponduje s výskumom od Yunzhao Xiong a kol., ktorí sa venovali vplyvu eplerenónu na renálnu fibrózu u potkanov s UUO. Zistili, že po vykonaní UUO dochádza k nadmernej akumulácii proteínov ECM a atrofii tubulov. Skúmaný eplerenón rozvoj fibrózy v UUO skupine signifikantne znižoval (9). V našom prípade sme takýto prospešný efekt histologicky sledovali pri liečbe s KYNA, ktorá rovnako znižovala fibrotickú plochu a tubulárnu atrofiu.

Antifibrotické účinky derivátov tryptofánu popísali aj Poormasjedi-Meibod a kol. pri modeli dermálnej fibrózy, kde dochádzalo k zníženiu expresie α-SMA a útlmu aktivácie myofibroblastov (4). Tieto poznatky korešpondujú aj s našimi výsledkami, pri ktorých liečba s KYNA viedla k zníženiu expresie α-SMA a pSMAD2, čo poukazuje na možné ovplyvnenie profibrotických dráh.

Priaznivý účinok KYNA pri imunitnej reakcii podporujú aj poznatky o antioxidačných vlastnostiach L-kynurenínu ako vychytávača reaktívnych foriem kyslíka (ROS). Antioxidačné vlastnosti KYNA a jej schopnosť vychytávať ROS môžu predstavovať jeden z mechanizmov jej prospešného účinku pri modulácii renálnej fibrózy, keďže ROS významne prispievajú k aktivácii imunitnej odpovede a následnému spusteniu TGF signálnej kaskády (10).

Poďakovanie: Táto práca bola podporená grantov VEGA 1/0513/24, 1/0297/26 a APVV-23-0399.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Huang, Rongshuang, Ping Fu a Liang Ma, 2023. Kidney fibrosis: from mechanisms to therapeutic medicines. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2023, roč. 8, s. 129.
2. Reiss, Allison B., Berlin Jacob, Aarij Zubair, Ankita Srivastava, Maryann Johnson a Joshua de Leon, 2024. Fibrosis in Chronic Kidney Disease: Pathophysiology and Therapeutic Targets. *Journal of Clinical Medicine*. 2024, roč. 13, č. 7, s. 1881.
3. Yamashita, Noriyuki a Rafael Kramann, 2024. Mechanisms of kidney fibrosis and routes towards therapy. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2024, roč. 35, č. 1, s. 31–48.
4. Poormasjedi-Meibod, Malihe-Sadat, Ryan Hartwell, Ruhangiz Taghi Kilani a Aziz Ghahary, 2014. Anti-Scarring Properties of Different Tryptophan Derivatives. *Plos one*, 2014.
5. Frangogiannis, Nikolaos G., 2020. Transforming growth factor–β in tissue fibrosis. *The Journal of Experimental Medicine*. 2020, roč. 217, č. 3.
6. Park, Cheol Ho a Tae-Hyun Yoo, 2022. TGF-β Inhibitors for Therapeutic Management of Kidney Fibrosis. *Pharmaceuticals*. 2022, roč. 15, č. 12, s. 1485.
7. Liu, Zhiqin, Leixi Xue, Zhichun Liu, Jun Huang, Jian Wen, Ji Hu, Lin Bo a Ru Yang, 2016. Tumor Necrosis Factor-Like Weak Inducer of Apoptosis Accelerates the Progression of

Renal Fibrosis in Lupus Nephritis by Activating Smad and p38 MAPK in TGF-β1 Signaling Pathway. *Mediators of Inflammation*. 2016, roč. 2016.
8. Martínez-Klimova, Elena, Omar Emiliano Aparicio-Trejo, Edilia Tapia a José Pedraza-Chaverri, 2019. Unilateral Ureteral Obstruction as a Model to Investigate Fibrosis-Attenuating Treatments. *Biomolecules*. 2019, roč. 9, č. 4, s. 141.
9. Xiong, Yunzhao, Yi Chang, Juan Hao, Cuijuan ZHANG, Fan Yang, Zheng Wang, Yunmeng Liu, Xiangting Wang, Shengyu Mu a Qingyou Xu, 2021. Eplerenone Attenuates Fibrosis in the Contralateral Kidney of UUO Rats by Preventing Macrophage-to-Myofibroblast Transition. *Frontiers in Pharmacology*. 2021, roč. 12, s. 10-15.
10. Ramírez Ortega, Daniela, Perla Eugenia Ugalde Muñiz, Tonali Blanco Ayala, Gustavo Ignacio Vázquez Cervantes, Rafael Lugo Huitrón, Benjamín Pineda, Dinora Fabiola González Esquivel, Gonzalo Pérez de la Cruz, José Pedraza Chaverrí, Laura Sánchez Chapul, Saúl Gómez-Manzo a Verónica Pérez de la Cruz, 2022. On the Antioxidant Properties of L-Kynurenine: An Efficient ROS Scavenger and Enhancer of Rat Brain antioxidantdefense. *Antioxidants*. 2022, roč. 11, č. 1, s. 31.

EFFECT OF A SUB-THERAPEUTIC DOSE OF METHOTREXATE ON WHITE BLOOD CELLS AND PLASMA LEVELS OF MCP-1 AND MMP-9 IN ADJUVANT ARTHRITIS

VPLYV SUBTERAPEUTICKEJ DÁVKY METOTREXÁTU NA LEUKOCYTY A PLAZMATICKÉ HLADINY MCP-1 A MMP-9 PRI ADJUVANTNEJ ARTRITÍDE

Tatlari F[1,2], Bauerova K[1], Waqar A[1,3], Fakermanesh M[1,2], Dráfi F[1], Khademnematolahi S[1], Poništ S[1]

[1]*Institute of Experimental Pharmacology & Toxicology, Center of Experimental Medicine, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak republic*
[2]*Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovak republic*
[3]*Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak republic*

Summary: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease characterized by synovial inflammation, leukocyte infiltration, and progressive joint destruction. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) promotes recruitment of inflammatory cells into affected joints, while matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) contributes to extracellular matrix degradation and tissue damage. Methotrexate (MTX) remains the first-line disease-modifying therapy in RA; however, its effects at sub-therapeutic doses are not fully understood. The aim of this study was to evaluate the effect of low-dose MTX (0.3 mg/kg, p.o., twice weekly) on leukocyte populations and plasma MCP-1 and MMP-9 levels in adjuvant arthritis. Male Lewis rats were divided into healthy controls, untreated arthritic animals, and MTX-treated arthritic animals. On day 28, hind paw volume, hematological parameters, and plasma MCP-1 and MMP-9 concentrations were determined. The sub-therapeutic MTX dose did not significantly reduce hind paw swelling or major leukocyte populations such as neutrophils and monocytes compared with untreated arthritic rats. However, significant reductions in eosinophil and basophil counts were observed. In addition, plasma levels of MCP-1 and MMP-9 were significantly decreased in the MTX-treated group. These findings indicate that low-dose MTX exerts selective immunomodulatory effects despite the absence of marked clinical improvement. Suppression of inflammatory mediators associated with leukocyte recruitment and tissue destruction suggests a potential tissue-protective mechanism of low-dose MTX in experimental arthritis.

Abstrakt: Reumatoidná artritída (RA) je chronické autoimunitné ochorenie charakterizované synoviálnym zápalom, infiltráciou leukocytov a progresívnou deštrukciou kĺbov. Monocytárny chemotaktický proteín-1 (MCP-1) podporuje nábor zápalových buniek do postihnutých kĺbov, zatiaľ čo matrixová metaloproteináza-9 (MMP-9) prispieva k degradácii extracelulárnej matrix a poškodeniu tkaniva. Metotrexát (MTX) zostáva liečbou prvej voľby modifikujúcou priebeh ochorenia pri RA, avšak jeho účinky pri subterapeutických dávkach nie sú úplne objasnené. Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť účinok nízkej dávky MTX (0,3 mg/kg, p.o., dvakrát týždenne) na populácie leukocytov a plazmatické hladiny MCP-1 a MMP-9 pri adjuvantnej artritíde. Samce potkanov kmeňa Lewis boli rozdelené do skupín zdravých kontrol, neliečených artritických zvierat a artritických zvierat liečených MTX. Na 28. deň sa stanovoval opuch zadnej labky, hematologické parametre a plazmatické koncentrácie MCP-1 a MMP-9. Subterapeutická dávka MTX v porovnaní s neliečenými artritickými potkanmi významne neznížila opuch zadnej labky ani hlavné populácie leukocytov, ako sú neutrofily a monocyty. Boli však pozorované významné zníženia počtu eozinofilov a bazofilov. Okrem toho boli v skupine liečenej MTX významne znížené plazmatické hladiny MCP-1 a MMP-9. Tieto zistenia naznačujú, že nízka dávka MTX vykazuje selektívne imunomodulačné účinky napriek absencii

výrazného klinického zlepšenia. Potlačenie zápalových mediátorov spojených s náborom leukocytov a deštrukciou tkaniva naznačuje potenciálny tkanivo-protektívny mechanizmus nízkej dávky MTX pri experimentálnej artritíde.

Keywords: rheumatoid arthritis, methotrexate, MCP-1, MMP-9, adjuvant arthritis
Kľúčové slová: reumatoidná artritída, metotrexát, MCP-1, MMP-9, adjuvantná artritída

INTRODUCTION

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic autoimmune disease. It is characterized by severe synovial inflammation. Progressive joint damage is a significant pathological symptom of this condition. RA is also associated with pain, reduced physical function, and long-term disability (1-5). The pathogenesis of rheumatoid arthritis entails dysregulated interactions between innate and adaptive immune cells. Synovial fibroblasts play an active role in sustaining local inflammation and joint damage. Various cytokines and inflammatory mediators are involved in chronic synovitis in the affected joints (1,6,7).

One of the main characteristics of rheumatoid arthritis is leukocyte infiltration into the synovial membrane. Accumulation of inflammatory cells within the synovium leads to chronic local inflammation. Leukocyte infiltration promotes the development of pannus and synovial hyperplasia (1,2,5). These pathological changes are associated with chronic cartilage degradation and bone destruction (3).

Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), also known as CCL2, is a member of the CC chemokine family (8). MCP-1 plays an important role in recruiting monocytes and macrophages to sites of inflammation (9). Increased MCP-1 expression has been reported in inflamed synovial tissue in rheumatoid arthritis (10). By accumulating inflammatory cells within the joint, MCP-1 amplifies local inflammatory responses and promotes the progression of synovitis (1).

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) is a proteolytic enzyme that breaks down extracellular matrix components (11). MMP-9 is produced by inflammatory cells, synovial fibroblasts, and other joint-associated cells during rheumatoid arthritis (12). High levels of MMP-9 have been identified in plasma and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis (12,13). Additionally, increased MMP-9 activity can contribute to cartilage degradation, bone erosion, and joint destruction (1,11).

Methotrexate (MTX) is considered the cornerstone medication and first-line conventional disease-modifying antirheumatic drug (DMARD) in the treatment of rheumatoid arthritis (14). MTX has demonstrated effectiveness in suppressing disease activity, slowing radiographic progression, and improving long-term clinical outcomes in patients with rheumatoid arthritis (15). In addition to its therapeutic benefits, MTX exerts anti-inflammatory and immunomodulatory effects via distinct cellular mechanisms (16). These mechanisms include regulation of immune cell activity, inhibition of pro-inflammatory mediators, and enhanced extracellular adenosine signaling (16,17).

Despite its well-established therapeutic role, the specific biological effects of low or subtherapeutic doses of methotrexate remain poorly understood (16). A significant proportion of patients show poor response to MTX monotherapy and require treatment elevation or combination therapy with additional disease-modifying antirheumatic medications or biologic substances (14,15). Therefore, experimental models simulating poor MTX response are valuable for preclinical evaluation of novel combination strategies (16-18).

Experimental studies confirm that methotrexate can modulate inflammatory pathways even at doses without a marked clinical effect (18). Early modulation of cytokine production, leukocyte activity, and destructive tissue mediators may occur before a significant reduction in

arthritis severity becomes evident (3, 18). Consequently, exploration of sub-therapeutic methotrexate dosages may provide additional insight into the mechanisms of methotrexate action in inflammatory arthritis (16,17).

Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of a sub-therapeutic dose of methotrexate on white blood cell populations and plasma levels of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in rats with adjuvant arthritis.

MATERIALS AND METHODS

Experimental animals

Male Lewis rats (8-10 weeks old, 160-200 g) were obtained from the breeding facility of the Department of Toxicology and Laboratory Animal Breeding, Center of Experimental Medicine, Slovak Academy of Sciences (Dobrá Voda, Slovak Republic). Animals were housed under standard laboratory conditions (22 ± 2 °C, 55 ± 10% humidity, 12-hour light/dark cycle) with free access to food and water. Animals were quarantined for 7 days prior to the experiment. All experimental procedures were performed in accordance with institutional guidelines for the care and use of laboratory animals and were approved by the Ethics Committee of the Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Center of Experimental Medicine, Slovak Academy of Sciences, and the State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic (Protocol No. SK UCH 04018).

Induction of Adjuvant Arthritis

Adjuvant arthritis (AA) was induced in male Lewis rats through a single intradermal injection of 0.1 mL suspension containing heat-killed *Mycobacterium butyricum* in incomplete Freund's adjuvant at the base of the tail. Healthy control (HC) animals received no treatment.

Experimental Design and Treatment

Animals were randomly assigned to three experimental groups (n = 6-8 per group):

- Healthy controls (HC)
- Untreated arthritic controls (AA)
- Arthritic rats treated with methotrexate (AA+MTX)

Methotrexate was administered orally at a sub-therapeutic dose of 0.3 mg/kg twice weekly for 28 days. This sub-therapeutic regimen was chosen to model inadequate response to MTX monotherapy.

Assessment of Arthritis Progression

Hind paw swelling was assessed as a biometric marker of arthritis progression. Hind paw volume was measured using an electronic water plethysmometer (UGO BASILE, Comerio-Varese, Italy) on days 1, 14, 21, and 28 of the experiment. This method, based on Archimedes' principle of fluid displacement, is widely used to monitor inflammatory changes and evaluate anti-inflammatory effects in experimental arthritis (19). Paw volume was expressed as the percentage change relative to baseline values.

Blood Collection and Sample Preparation

Blood samples were collected from the retro-orbital sinus on day 14 and by cardiac puncture on day 28 under anesthesia. Anesthesia was induced using a combination of Zoletil® (tiletamine/zolazepam) and Xylariem® (xylazine). Collected blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes at 4 °C. Plasma was separated and stored at -80 °C until analysis.

Hematological Analysis

Whole blood samples were analyzed for total white blood cell (WBC) count and differential leukocyte counts, including lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils, and basophils. Platelet count and mean platelet volume were determined using an automated hematology analyzer (Balio OV-560 RET).

Determination of Plasma Biomarkers

Plasma concentrations of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were measured using commercially available sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), following the manufacturer's instructions.

Statistical Analysis

Results are presented as mean ± SEM. Statistical differences between groups were evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

RESULTS

Analysis of the obtained data confirmed successful induction of adjuvant arthritis, with untreated arthritic rats developing progressive hind paw swelling compared with healthy controls. The increase in paw volume was related to the development of clinical inflammation during the experiment. Treatment with a sub-therapeutic dose of methotrexate (MTX) partially reduced hind paw swelling, but the difference was not statistically significant. These results suggest that the administered low dose of MTX did not show a significant clinical anti-inflammatory effect.

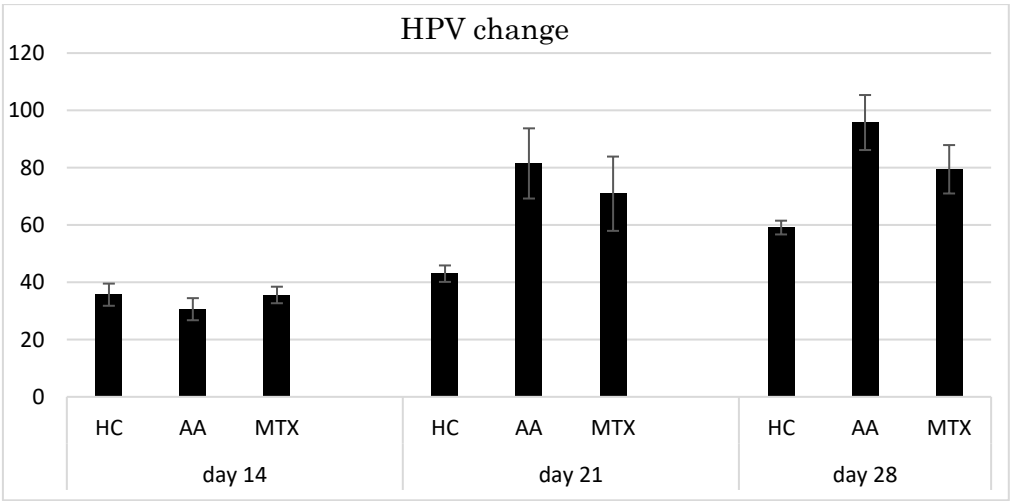


Figure 1: Time profile of hind paw volume in healthy controls (HC), untreated arthritic rats (AA), and methotrexate-treated arthritic rats (MTX). Data are presented as mean ± SEM.

Plasma monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) levels, reflecting monocyte recruitment during inflammation, were significantly increased in arthritic rats at both time points analyzed. Despite this, MTX treatment gradually reduced MCP-1 concentrations by day 28, indicating a delayed biochemical response. No clinical improvement was observed, but the findings suggest modulation of key inflammatory mediators at the molecular level.

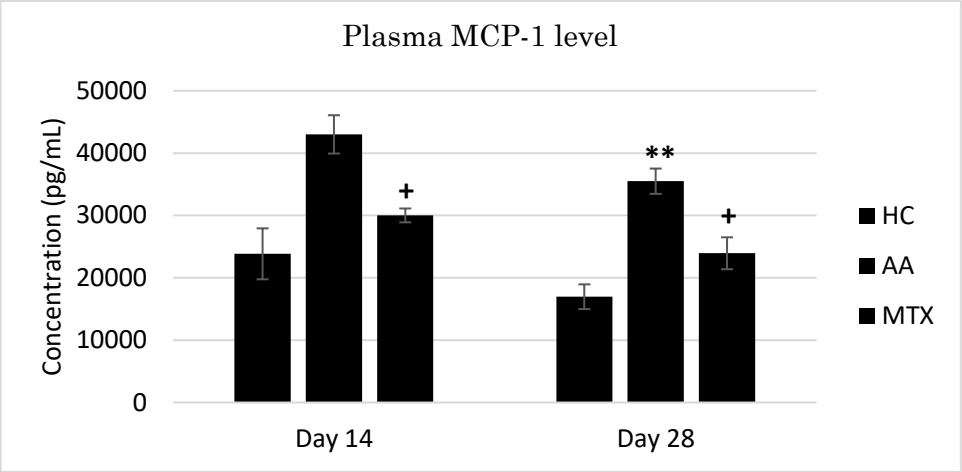


Figure 2: Plasma monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) concentrations in healthy controls (HC), untreated arthritic rats (AA), and methotrexate-treated arthritic rats (MTX) on days 14 and 28 of adjuvant arthritis. Data are presented as mean ± SEM. **$p < 0.01$ vs. healthy controls; +$p < 0.05$ vs. untreated arthritic rats.

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) is a marker of tissue degradation and was significantly elevated in untreated arthritic animals on day 14, indicating active destructive processes in the joints. MTX did not significantly reduce MMP-9 levels in the early phase of treatment, but by day 28, MMP-9 concentrations were significantly decreased, suggesting that even a sub-therapeutic dose can gradually decrease tissue-damaging enzyme activity.

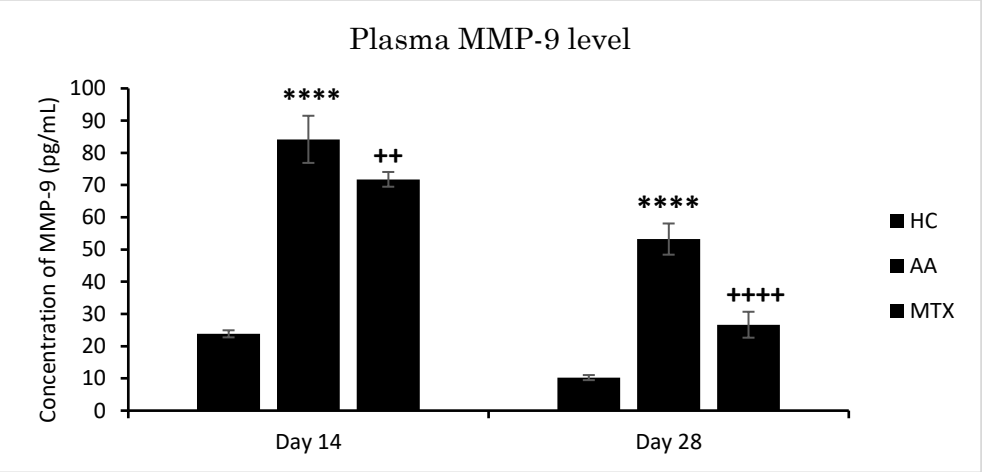


Figure 3: Plasma matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) concentrations in healthy controls (HC), untreated arthritic rats (AA), and methotrexate-treated arthritic rats (MTX) on days 14 and 28 of adjuvant arthritis. Data are presented as mean ± SEM. ****$p < 0.0001$ vs. healthy controls; $^{++}p < 0.01$ and $^{++++}p < 0.0001$ vs. untreated arthritic rats**.**

Hematological parameters of whole blood were determined including platelet count, mean platelet volume, total white blood cell count, lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and basophils. MTX did not significantly affect the most of hematological parameters and hind paw swelling at the used dose. Treatment with MTX caused a significant reduction in the number of eosinophils and basophils when compared to untreated arthritic controls. Other measured values were not altered.

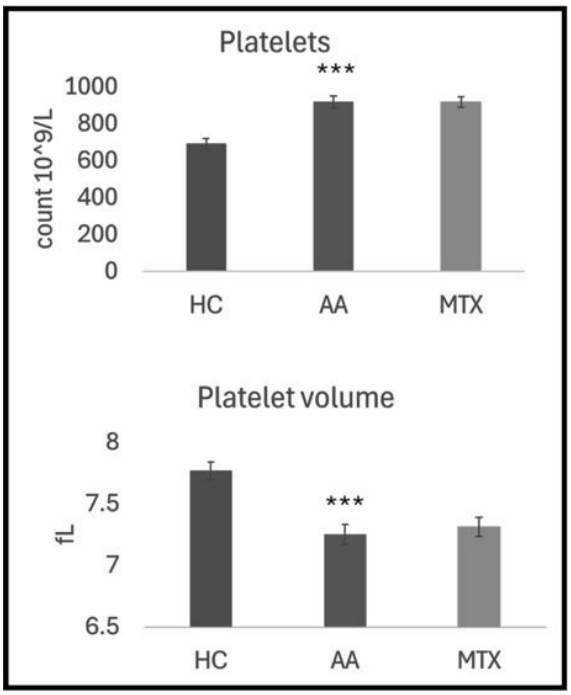


Figure 4: Platelet count and mean platelet volume in healthy controls (HC), untreated arthritic rats (AA), and methotrexate-treated arthritic rats (MTX) on day 28 of adjuvant arthritis. Data are presented as mean ± SEM. ***p < 0.001 vs. healthy controls.

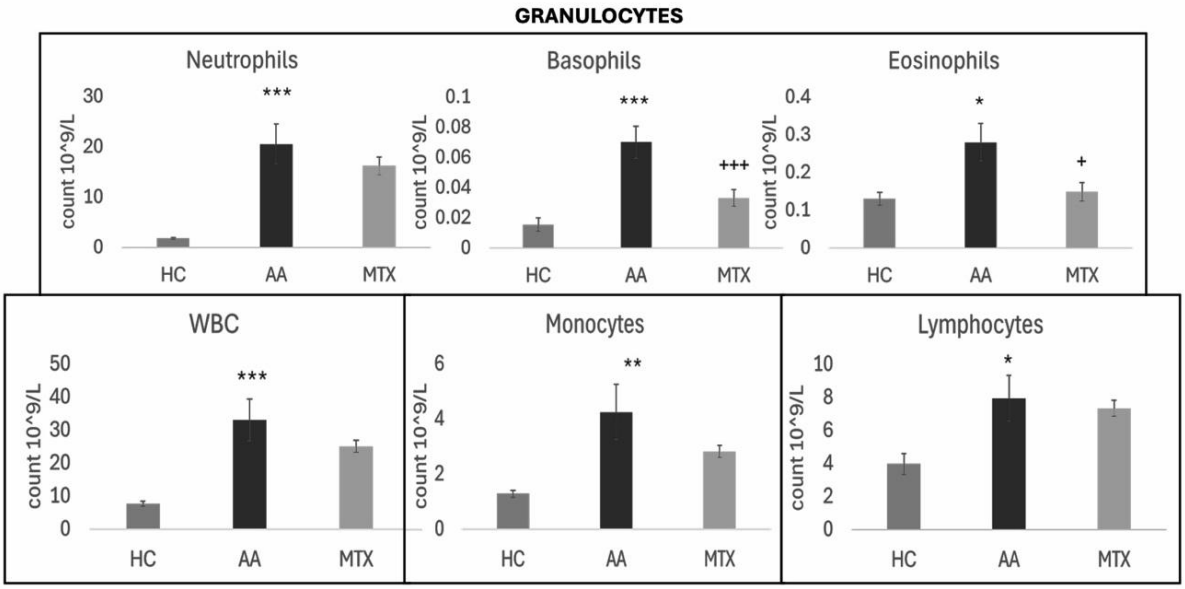


Figure 5: Total white blood cell (WBC), monocyte, lymphocyte, neutrophil, basophil, and eosinophil count in healthy controls (HC), untreated arthritic rats (AA), and methotrexate-treated arthritic rats (MTX) on day 28 of adjuvant arthritis. Data are presented as mean ± SEM.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The present study explored the effects of a sub-therapeutic dose of methotrexate (0.3 mg/kg, twice weekly) on clinical, hematological, and biochemical parameters in rats with adjuvant arthritis. The main finding was that this dosing therapy did not significantly reduce hind paw swelling or significantly affect most hematological parameters by day 28 of the experiment. However, there were significant reductions in eosinophil and basophil counts, and decreased plasma levels of MCP-1 and MMP-9, indicating that even a low dose of methotrexate has measurable biological activity.

Methotrexate is considered a cornerstone of rheumatoid arthritis therapy and is widely known for its anti-inflammatory and immunomodulatory effects. However, in clinical practice, not all patients achieve adequate disease control with methotrexate monotherapy, and dose escalation or combination therapy is often required. In this context, the lack of significant improvement in paw swelling in the present study does not necessarily indicate inefficacy but supports the use of this dosing regimen as an experimental model of insufficient methotrexate response.

An interesting finding is the selective reduction of eosinophils and basophils. While not as highlighted as neutrophils or monocytes in rheumatoid arthritis, these leukocyte populations could contribute to inflammatory signaling, mediator release, and regulation of immune responses. Their sensitivity to low-dose methotrexate may reflect early immunomodulatory effects that precede the more widespread suppression of systemic inflammation that is more easily recognized.

Similarly, decreased plasma MCP-1 levels suggest reduced chemokine-mediated leukocyte recruitment. Since MCP-1 plays a crucial role in monocyte and macrophage recruitment into inflamed tissues, reduced MCP-1 levels may indicate reduced trafficking of inflammatory cells. Furthermore, the reduction in MMP-9 levels suggests a partial inhibition of tissue-destructive mechanisms associated with extracellular matrix degradation and joint destruction. These biochemical changes could therefore represent early protective effects of methotrexate at the molecular level, even in the absence of clear clinical benefit.

An important practical implication of the present study is that the applied sub-therapeutic methotrexate dose appears appropriate for establishing a baseline model mimicking rheumatoid arthritis patients with poor response to methotrexate monotherapy. Such a model may be very useful for future preclinical studies investigating combination treatment strategies, including methotrexate with natural compounds or other anti-inflammatory agents. There are several limitations that should be acknowledged. Only one low dose of methotrexate and one treatment duration were evaluated. Furthermore, a histological evaluation and a broader cytokine profiling were not included in the present analysis. Longer treatment duration or combination regimens may translate these molecular changes into a more evident clinical benefit and require further study.

In conclusion, a sub-therapeutic dose of methotrexate did not significantly improve paw edema or most of the hematological parameters in adjuvant arthritic rats, but significantly reduced eosinophils, basophils, MCP-1, and MMP-9. These results show that low-dose methotrexate preserves its selective immunomodulatory activity and provides a relevant experimental baseline for evaluating future methotrexate-based combination therapies.

REFERENCES

1. Firestein, G. S., & McInnes, I. B. (2017). Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*, *46*(2), 183–196. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.006
2. McInnes, I. B., & Schett, G. (2011). The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine*, *365*(23), 2205–2219.https://doi.org/10.1056/nejmra1004965
3. Smolen, J. S., Aletaha, D., & McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, *388*(10055), 2023–2038. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)30173-8
4. Aletaha, D., & Smolen, J. S. (2018). Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *JAMA*, *320*(13), 1360. https://doi.org/10.1001/jama.2018.13103
5. Guo, Q., Wang, Y., Xu, D., Nossent, J., Pavlos, N. J., & Xu, J. (2018). Rheumatoid arthritis: Pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Research*, *6*(1). https://doi.org/10.1038/s41413-018-0016-9
6. Bottini, N., & Firestein, G. S. (2012). Duality of fibroblast-like synoviocytes in ra: Passive responders and imprinted aggressors. *Nature Reviews Rheumatology*, *9*(1), 24–33. https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.190
7. McInnes, I. B., & Schett, G. (2007). Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Immunology*, *7*(6), 429–442. https://doi.org/10.1038/nri2094
8. Bottini, N., & Firestein, G. S. (2012). Duality of fibroblast-like synoviocytes in ra: Passive responders and imprinted aggressors. *Nature Reviews Rheumatology*, *9*(1), 24–33. https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.190
9. Koch, A. E., Kunkel, S. L., Harlow, L. A., Johnson, B., Evanoff, H. L., Haines, G. K., Burdick, M. D., Pope, R. M., & Strieter, R. M. (1992). Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Investigation*, *90*(3), 772–779. https://doi.org/10.1172/jci115950
10. Rantapää-Dahlqvist, S., Boman, K., Tarkowski, A., & Hallmans, G. (2007). Up regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in anti-citrulline antibody and immunoglobulin M rheumatoid factor positive subjects precedes onset of inflammatory response and development of overt rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *66*(1), 121–123. https://doi.org/10.1136/ard.2006.057331
11. Nagase, H., & Woessner, J. F. (1999). Matrix metalloproteinases. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(31), 21491–21494. https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21491
12. Yoshihara, Y., Nakamura, H., Obata, K., Yamada, H., Hayakawa, T., Fujikawa, K., & Okada, Y. (2000). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *59*(6), 455–461. https://doi.org/10.1136/ard.59.6.455
13. Tchetverikov, I., Ronday, H. K., van El, B., Kiers, G. H., Verzijl, N., TeKoppele, J. M., Huizinga, T. W., DeGroot, J., & Hanemaaijer, R. (2004). MMP profile in paired serum and synovial fluid samples of patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *63*(7), 881–883. https://doi.org/10.1136/ard.2003.013243
14. Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2020;79:685-699.
15. Singh, J. A., Saag, K. G., Bridges, S. L., Akl, E. A., Bannuru, R. R., Sullivan, M. C., Vaysbrot, E., McNaughton, C., Osani, M., Shmerling, R. H., Curtis, J. R., Furst, D. E., Parks, D., Kavanaugh, A., O'Dell, J., King, C., Leong, A., Matteson, E. L., Schousboe, J. T., … McAlindon, T. (2015). 2015 American College of Rheumatology guideline for the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatology*, *68*(1), 1–26. https://doi.org/10.1002/art.39480

16. Cronstein, B. N., & Aune, T. M. (2020). Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, *16*(3), 145–154. https://doi.org/10.1038/s41584-020-0373-9
17. Brown, P. M., Pratt, A. G., & Isaacs, J. D. (2016). Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers. *Nature Reviews Rheumatology*, *12*(12), 731–742. https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.175
18. Bauerova, K., Paulovicova, E., Mihalova, D., Drafi, F., Strosova, M., Mascia, C., Biasi, F., Rovensky, J., Kucharska, J., Gvozdjakova, A., & Ponist, S. (2010). Combined methotrexate and coenzyme Q_{10} therapy in adjuvant-induced arthritis evaluated using parameters of inflammation and oxidative stress. *Acta Biochimica Polonica*, *57*(3). https://doi.org/10.18388/abp.2010_2415
19. Chillingworth, N. L., & Hopkins, S. J. (1966). Measurement of inflammatory edema in the rat paw using plethysmometry. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 18(7), 423–424.

FARMAKOGENETICKÁ VARIABILITA ENZÝMOV CYP450 A JEJ VPLYV NA INTENZITU HYPOTENZÍVNEJ FARMAKOTERAPIE U PACIENTOV S CHRONICKÝM SRDCOVÝM ZLYHÁVANÍM

PHARMACOGENETIC VARIABILITY OF CYP450 ENZYMES AND ITS IMPACT ON THE INTENSITY OF HYPOTENSIVE PHARMACOTHERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

Krajčírová N[1], Stollárová N[1,2], Kilianová Z[1], Křenek P[1], Klimas J[1], Luknár M[3], Goncalvesová E[3], Dóka G[1]

[1]Katedra Farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská Republika
[2]Oddelenie Klinickej farmakológie, Fakultná nemocnica Trnava, Trnava, Slovenská Republika
[3]Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, a. s., Oddelenie zlyhávania a transplantácie srdca, Bratislava, Slovenská Republika

Abstrakt: Chronické srdcové zlyhávanie (CHSZ) je závažné klinické ochorenie vyžadujúce komplexnú farmakoterapiu zahŕňajúcu liečbu podľa klinických odporúčaní (GDMT) a často aj viaceré súbežné lieky. Odpoveď na liečbu a znášanlivosť farmakoterapie sú významne ovplyvnené polymorfizmami enzýmov cytochrómu P450 (CYP450), ktoré sa podieľajú na biotransformácii viacerých kardiovaskulárnych liečiv. Význam farmakogenetických variantov CYP450 v kontexte polyfarmácie pacientov s CHSZ však zostáva nedostatočne preskúmaný. Cieľom našej práce bolo identifikovať lieky GDMT s významným metabolizmom prostredníctvom CYP450 a zhodnotiť vplyv klinicky relevantných polymorfizmov na krvný tlak, znášanlivosť a intenzitu hypotenzívnej farmakoterapie. Do štúdie bolo zaradených 68 pacientov s CHSZ, ktorí podstúpili katetrizáciu pravej srdcovej komory a užívali GDMT. Farmakogenetické testovanie bolo realizované metódou qPCR so zameraním na hlavné polymorfizmy CYP450, pričom alely so známou zmenou funkcie boli vybrané podľa databáz PharmVar a CPIC. Kompletná farmakoterapia bola analyzovaná a celková hypotenzívna lieková záťaž bola vyjadrená v definovaných denných dávkach. Zistili sme, že u 89 % pacientov bol prítomný aspoň jeden polymorfizmus CYP450. Intermediárni a pomalí metabolizéri CYP2D6 vyžadovali nižšiu intenzitu hypotenzívnej farmakoterapie, zatiaľ čo rýchli a ultrarýchli metabolizéri CYP2C19 vyžadovali vyššie dávky liečby, pričom krvný tlak zostal stabilný vo všetkých genotypových skupinách. Naše výsledky poukazujú na to, že polymorfizmy CYP450 môžu u pacientov s CHSZ ovplyvňovať celkovú intenzitu hypotenzívnej farmakoterapie viac než dávkovanie jednotlivých liekov, čo zdôrazňuje potrebu interpretovať farmakogenetické výsledky v kontexte polyfarmácie a komplexnej liečby pacientov s CHSZ.

Summary: Chronic heart failure (CHF) is a serious clinical condition requiring complex pharmacotherapy, including guideline-directed medical therapy (GDMT) and often multiple concomitant medications. Treatment response and drug tolerability are substantially influenced by polymorphisms in cytochrome P450 (CYP450) enzymes involved in the biotransformation of numerous cardiovascular drugs. However, the significance of CYP450 pharmacogenetic variants in the context of polypharmacy among patients with CHF remains insufficiently explored. The aim of our study was to identify GDMT medications significantly metabolized by CYP450 enzymes and to evaluate the impact of clinically relevant polymorphisms on blood pressure, treatment tolerability, and the intensity of hypotensive pharmacotherapy. A total of 68 patients with CHF undergoing right heart catheterization and receiving GDMT were

included in the study. Pharmacogenetic testing was performed using qPCR targeting major CYP450 polymorphisms, while alleles associated with altered enzyme function were selected according to the PharmVar and CPIC databases. Complete pharmacotherapy was analyzed, and the overall hypotensive drug burden was expressed in defined daily doses (DDD). We found that at least one CYP450 polymorphism was present in 89% of patients. CYP2D6 intermediate and poor metabolizers required lower intensity of hypotensive pharmacotherapy, whereas CYP2C19 rapid and ultrarapid metabolizers required higher treatment doses, while blood pressure remained stable across all genotype groups. Our findings suggest that CYP450 polymorphisms in patients with CHF may influence the overall intensity of hypotensive pharmacotherapy rather than the dosing of individual drugs, highlighting the importance of interpreting pharmacogenetic results within the broader context of polypharmacy and comprehensive management of patients with CHF.

Kľúčové slová: farmakogenetika, chronické srdcové zlyhávanie, CYP450, personalizovaná medicína, polyfarmácia

Keywords: pharmacogenetics, chronic heart failure, CYP450, personalized medicine, polypharmacy

ÚVOD

Pacienti s chronickým srdcovým zlyhávaním (CHSZ) predstavujú klinicky vysoko rizikovú populáciu vzhľadom na závažnosť ochorenia, vysokú prevalenciu polymorbidity a potrebu komplexnej dlhodobej farmakoterapie. Liečba podľa odporúčaní (guideline-directed medical therapy, GDMT) je u týchto pacientov často kombinovaná s rozsiahlou sprievodnou farmakoterapiou, čo vedie k vysokej miere polyfarmácie (1,2). Polyfarmácia predstavuje významný faktor ovplyvňujúci kvalitu života pacientov a je spojená so zvýšeným rizikom nežiaducich účinkov (NÚ), liekových interakcií, hospitalizácií, morbidity a mortality (3).

Existuje pomerne rozsiahly výskum genetického testovania zameraného na identifikáciu príčin rôznych kardiovaskulárnych ochorení (KVO) a predikciu ich výskytu u jednotlivcov, teda genetickej diagnostiky a rizikovej stratifikácie pacientov (4,5). Naproti tomu nie je jednoznačne známe, aký rozsah výskumu bol realizovaný v oblasti farmakogenetického testovania účinnosti a bezpečnosti farmakoterapie v tejto rozsiahlej skupine pacientov, ktorá sa zároveň vyznačuje vysokým rizikom polyfarmácie (6). Osobitne zraniteľnú skupinu predstavujú starší pacienti a pacienti s polymorbiditou, u ktorých sa riziko potenciálne nevhodnej farmakoterapie a klinicky významných liekových interakcií kumulatívne zvyšuje. Prítomnosť komorbidít zároveň významne ovplyvňuje priebeh CHSZ a negatívne vplýva na prognózu pacientov (7).

Interindividuálna variabilita odpovede na liečbu je do značnej miery podmienená genetickými faktormi, najmä polymorfizmami enzýmov cytochrómu P450 (CYP450), ktoré sa podieľajú na biotransformácii viacerých kardiovaskulárnych liečiv. Genetické varianty CYP450 môžu ovplyvniť plazmatické koncentrácie liečiv, ich účinnosť aj tolerabilitu farmakoterapie, a tým prispievať k rozdielom v potrebe dávkovania a riziku vzniku NÚ medzi pacientmi (8). Väčšina doterajších štúdií sa však zameriavala predovšetkým na izolované vzťahy gén–liečivo, pričom v klinickej praxi nemusí takýto prístup dostatočne odrážať realitu pacientov s polyfarmáciou a komplexnou farmakoterapiou (3,9). Otázkou preto zostáva, do akej miery môže farmakogenetická variabilita ovplyvňovať celkovú intenzitu hypotenzívnej farmakoterapie u pacientov s CHSZ v podmienkach reálnej klinickej praxe.

Cieľom našej práce bolo zhodnotiť vplyv klinicky relevantných polymorfizmov enzýmov CYP450 na vybrané klinické parametre, vrátane kontroly krvného tlaku a intenzity hypotenzívnej farmakoterapie u pacientov s CHSZ.

SÚBOR PACIENTOV A METÓDY

Do štúdie bolo zaradených 68 pacientov s CHSZ z Oddelenia zlyhávania a transplantácie srdca Národného ústavu srdcových a cievnych chorôb v Bratislave (NÚSCH).

Výskum bol schválený etickou komisiou a všetci pacienti podpísali informovaný súhlas s účasťou na štúdii.

Vzorky periférnej venóznej krvi boli odoberané do skúmaviek s antikoagulačným činidlom K2EDTA a následne spracované na Farmaceutickej fakulte Univerzity Komenského v Bratislave. U každého pacienta boli zaznamenané vybrané demografické a klinické údaje získané zo zdravotnej dokumentácie v čase zaradenia do štúdie. Hodnotené boli najmä vek, pohlavie, laboratórne parametre, hodnoty krvného tlaku, kompletná farmakoterapia, počet užívaných liečiv a počet liečiv s hypotenzívnym účinkom.

Celková intenzita hypotenzívnej farmakoterapie bola vyjadrená pomocou súčtu definovaných denných dávok (DDD) hypotenzívnych liečiv (Tabuľka 1).

Tabuľka 1: Základné a doplnkové liečivá používané u pacientov s CHSZ s hypotenzívnym účinkom.

Základné skupiny liečiv indikované na terapiu srdcového zlyhávania
ACE – inhibítory/ Antagonisty angiotenzínu II (ARBs)/ Blokátory receptora angiotenzínu a inhibítora neprilyzínu (ARNI)
Betablokátory (BB)
Antagonisty mineralokortikoidných receptorov (MRA)
Doplnkové skupiny liečiv v terapii srdcového zlyhávania s hypotenzívnym účinkom
Diuretiká (furosemid, indapamid, hydrochlórtiazid)
Ivabradín
Vazodilatačné liečivá (antiadrenergiká – moxonidín, nitráty – izosorbid mononitrát, vericiguát)
Blokátory vápnikových kanálov (v terapii SZ len amlodipín)

Genómová DNA bola izolovaná z plnej krvi kolonkovou metódou pomocou QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Nemecko). Výťažok a čistota izolovanej DNA boli stanovené UV spektrofotometrickou metódou na prístroji NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, USA).

Alelické varianty génov kódujúcich enzýmy metabolizmu liečiv boli vybrané na cielené genotypovanie na základe systematickej analýzy údajov dostupných v databáze PharmVar. Pri výbere sa zohľadňovala najmä známa zmena funkcie alely a frekvencia výskytu v európskej populácii.

Genotypovanie polymorfizmov CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4 a CYP1A2 bolo realizované metódou qPCR na prístroji QuantStudio 3 (Applied Biosystems) s využitím TaqMan Drug Metabolism Genotyping Assays a TaqMan SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, USA). Genotypy boli vyhodnocované pomocou softvérov TaqMan Genotyper Software a StepOne Software 2.3.

Vybrané variácie počtu kópií génu CYP2D6 (copy number variations, CNV), vrátane génových delécií a duplikácií, boli analyzované pomocou digitálnej PCR QuantStudio Absolute Q dPCR (Applied Biosystems). Na štiepenie DNA pred analýzou bol použitý reštrikčný enzým SpeI-HF, ktorý umožňuje separáciu tandemovo duplikovaných kópií génu CYP2D6. dPCR

analýza bola realizovaná s použitím Absolute Q Universal DNA Digital PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, USA).

Na základe identifikovaných genotypov boli pacienti zaradení do fenotypových skupín podľa odporúčaní CPIC a PharmVar. Následne bol analyzovaný vzťah medzi predpokladaným fenotypom enzýmov CYP450, hodnotami krvného tlaku a intenzitou hypotenzívnej farmakoterapie.

VÝSLEDKY

Do štúdie bolo zaradených 68 pacientov s CHSZ. Základné demografické, klinické a farmakoterapeutické charakteristiky sledovaného súboru sú uvedené v Tabuľke 2. Medián veku pacientov bol 56 rokov (21–76 rokov), pričom väčšinu súboru tvorili muži (79 %).

Väčšina pacientov patrila do pokročilejších štádií srdcového zlyhávania podľa NYHA klasifikácie, pričom NYHA III–IV bolo prítomné u 78 % pacientov. Priemerné hodnoty systolického a diastolického krvného tlaku boli 110 ± 15 mmHg a 73 ± 11 mmHg.

Pacienti užívali vysoký počet liečiv, medián celkového počtu užívaných liečiv bol 9 (s rozsahom od 4 do 18). Medián počtu liečiv s hypotenzívnym účinkom bol 4 (1–6), pričom celková intenzita hypotenzívnej farmakoterapie vyjadrená pomocou súčtu DDD dosahovala 5,75 ± 4,3.

Tabuľka 2: Demografické parametre a diagnózy pacientov s CHSZ (n = 68). Dáta sú vyjadrené percentuálne alebo ako priemer ± SD.

Premenná	***Súbor pacientov (N = 68)***
Základná demografia	
Vek (roky)	56 (21 – 76)
Ženské pohlavie (%)	14 (21 %)
Mužské pohlavie (%)	54 (79 %)
BMI (kg/m^2)	27,5 ± 4,6
NYHA klasifikácia	
NYHA: I + II	8 (12%)
NYHA: III + IV	53 (78%)
NYHA: neklasifikovaní	7 (10%)
Laboratórne výsledky	
NT-proBNP (ng/L)	2186 (223 – 30 440)
Tlak krvi, ECHO	
STK (mmHG)	110 ± 15
DTK (mmHG)	73 ± 11
LVEF (%)	27 ± 14
Lieková anamnéza	
Celkový počet užívaných liečiv	9 (4 – 18)
Počet liečiv indikovaných na liečbu CHSZ	4 (1 – 6)
Celková DDD liečiv indikovaných na liečbu CHSZ	5,5 ± 4,3
Počet liečiv s hypotenzívnym účinkom	4 (1 – 6)
Celková DDD liečiv s hypotenzívnym účinkom	5,75 ± 4,3

Na základe výsledkov cieleného genotypovania bola stanovená distribúcia predikovaných fenotypov analyzovaných enzýmov CYP450 (Tabuľka 3). Aspoň jeden enzým CYP450 s potenciálne zmenenou metabolickou aktivitou bol identifikovaný u väčšiny pacientov s CHSZ.

Najčastejšie boli zastúpené polymorfizmy enzýmov CYP2D6 a CYP2C19. Pri enzýme CYP2D6 bol najčastejšie prítomný fenotyp intermediárneho metabolizéra (IM), ktorý predstavoval 32 % pacientov, zatiaľ čo pomalí metabolizéri (PM) tvorili 7 % sledovanej populácie.

V prípade enzýmu CYP2C19 boli najfrekventovanejšie zastúpené fenotypy rýchlych a ultrarýchlych metabolizérov (RM/UM), ktoré boli prítomné u 32 % pacientov. Fenotyp intermediárneho metabolizéra CYP2C9 bol identifikovaný u 26 % pacientov, zatiaľ čo znížená aktivita enzýmu CYP3A4 bola zaznamenaná u 10 % pacientov. Zvýšená indukovateľnosť enzýmu CYP1A2 bola prítomná u 13 % pacientov.

Tabuľka 3: Distribúcia predikovaných fenotypov enzýmov CYP450 u pacientov s CHSZ.

	PM n (%)	**IM n (%)**	**RM+UM n (%)**
CYP2D6	5/68 (7 %)	22/68 (32 %)	-
CYP2C9	2/68 (3 %)	18/68 (26 %)	-
CYP2C19	-	18/68 (26 %)	22/68 (32 %)
CYP3A4	-	7/68 (10 %)	-
CYP1A2	-	-	9/68 (13 %)*

*Genotyp CYP1A2*30/*30, v staršej literatúre pôvodne označovaný ako CYP1A2*1F, je asociovaný so zvýšenou inducibilitou enzýmu CYP1A2 a potenciálne zvýšenou enzymatickou aktivitou v závislosti od environmentálnych faktorov, najmä fajčenia.

Ďalej bol hodnotený vzťah medzi predikovaným fenotypom enzýmov CYP450 a vybranými klinickými ukazovateľmi odpovede na liečbu vrátane krvného tlaku (Tabuľka 4). Vzhľadom na nízky počet pomalých metabolizérov boli fenotypy intermediárnych a pomalých metabolizérov zlúčené do spoločnej skupiny IM/PM. Medzi jednotlivými skupinami neboli zistené signifikantné rozdiely v hodnotách systolického ani diastolického krvného tlaku.

Tabuľka 4: Počet pacientov s CHSZ s predikovanou zmenenou funkciou enzýmov CYP450 podľa genotypu.

	Systolický tlak krvi (STK; mmHg)			**Diastolický tlak krvi (DTK; mmHg)**		
	NM	IM/PM	p-hodnota	NM	IM/PM	p-hodnota
CYP2D6	107 ± 14	114 ± 15	0.09	73 ± 9	74 ± 13	0.62
CYP2C9	111 ± 16	106 ± 10	0.09	73 ± 11	73 ± 11	0.86
CYP2C19	109 ± 12	110 ± 17	0.81	73 ± 11	72 ± 6	0.63
CYP3A4	110 ± 15	109 ± 12	0.76	73 ± 11	72 ± 9	0.82
CYP1A2	-			-		

V nadväznosti na distribúciu predikovaných fenotypov bola analyzovaná kompletná farmakoterapia pacientov s CHSZ so zameraním na intenzitu liečby liečivami s hypotenzívnym účinkom. Do analýzy boli zahrnuté základné skupiny liečiv indikované v rámci GDMT, ako aj doplnkové liečivá používané v terapii CHSZ s hypotenzívnym účinkom. Zoznam analyzovaných liečiv je uvedený v Tabuľke 1.

Intenzita hypotenzívnej farmakoterapie bola porovnaná medzi jednotlivými fenotypovými skupinami enzýmov CYP450. U pacientov s fenotypom CYP2D6 IM/PM bola pozorovaná nižšia celková DDD hypotenzívnych liečiv v porovnaní s normálnymi metabolizérmi (NM) ($p = 0,037$), (Tabuľka 5).

Naopak, pacienti s fenotypom CYP2C19 RM/UM dosahovali vyššiu celkovú DDD v porovnaní s NM ($p = 0,02$). Pri ostatných analyzovaných enzýmoch neboli pozorované signifikantné rozdiely (Tabuľka 6).

Tabuľka 5: Porovnanie definovaných denných dávok (DDD) liečiv s hypotenzívnym účinkom medzi normálnymi metabolizérmi (NM) a pomalými/intermediárnymi metabolizérmi (IM/PM).

	NM	IM/PM	p-hodnota
CYP2D6	6,60 ± 5,03	4,46 ± 2,26	**0,037***
CYP2C9	5,83 ± 4,45	5,56 ± 3,89	0,64
CYP2C19	4,62 ± 2,62	5,27 ± 3,35	0,55
CYP3A4	5,54 ± 4,18	7,60 ± 4,96	0,30
CYP1A2	-		

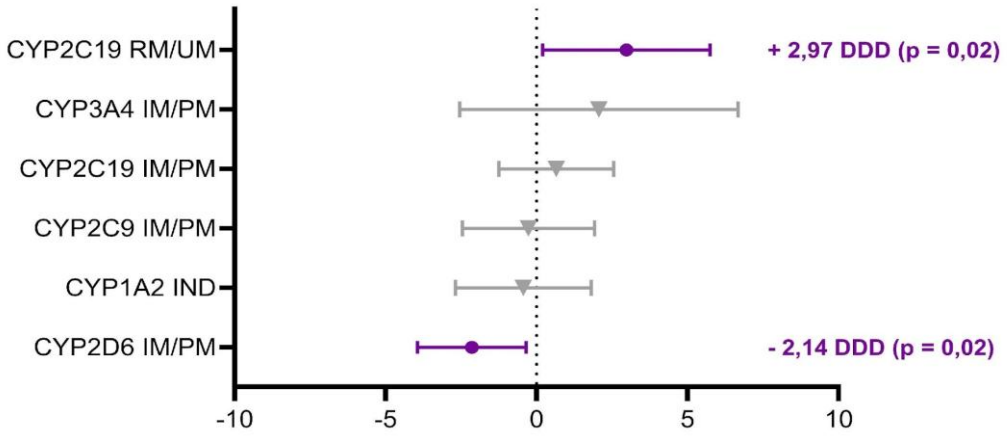
*Údaje sú prezentované ako priemer ± SD, viacnásobné porovnania boli upravené Benjaminiho–Hochbergovou procedúrou.

Tabuľka 6 Porovnanie definovaných denných dávok (DDD liečiv s hypotenzívnym účinkom medzi normálnymi metabolizérmi (NM) a rýchlymi/ultrarýchlymi metabolizérmi (RM/UM).

	NM	RM/UM	p-hodnota
CYP2D6	-		
CYP2C9	-		
CYP2C19	4,62 ± 2,62	7,59 ± 5,89	**0,02***
CYP3A4	-		
CYP1A2	5,81 ± 4,48	5,37 ± 2,66	0,72

*Údaje sú prezentované ako priemer ± SD, viacnásobné porovnania boli upravené Benjaminiho–Hochbergovou procedúrou

Obrázok 1 graficky znázorňuje priemerné rozdiely v celkovej DDD hypotenzívnych liečiv medzi pacientmi so zmeneným metabolickým fenotypom a normálnymi metabolizátormi.



Obrázok 1: Grafické znázornenie priemerného rozdielu v DDD hypotenzívnych liečiv podľa predikovaných fenotypov CYP450. Porovnanie: zmenený metabolizmus vs. normálni metabolizéri, 95 % interval spoľahlivosti.

DISKUSIA A ZÁVER

Genetické polymorfizmy sú odhadované ako príčina 15-30 % variability individuálnej liekovej odpovede (10). Farmakogenetické testovanie už čiastočne preukázalo svoj význam v optimalizácii farmakoterapie aj u pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami. Medzi najlepšie preskúmané interakcie liečivo-gén patria klopidogrel a gén CYP2C19, warfarín a gén CYP2C9 spolu s VKORC1, ako aj simvastatín a gén SLCO1B1, pre ktoré sú v súčasnosti dostupné klinické odporúčania zamerané na kombináciu gén–liečivo, vrátane usmernení vydaných konzorciom CPIC (8,11).

Z liečiv využívaných na CHSZ existujú v súčasnosti na dôkazoch založené farmakogenomické odporúčania iba pre metoprolol (11).V klinickej praxi však interpretácia farmakogenetických výsledkov v rámci izolovaných vzťahov medzi jednotlivými pármi gén-liek nemusí vždy dostatočne odrážať realitu pacientov s vysokou liekovou záťažou a súčasným výskytom viacerých interakcií gén–liečivo a liečivo–liečivo (3,9).

V našej práci sme sa preto zamerali na vzťah medzi farmakogenetickou variabilitou enzýmov CYP450 a intenzitou hypotenzívnej liečby u pacientov s CHSZ. Na rozdiel od väčšiny doterajších farmakogenetických štúdií nebola hodnotená odpoveď na jednotlivé liečivá, ale celková hypotenzívna lieková záťaž pacientov.

Hypotenzia predstavuje jeden z najčastejších limitujúcich NÚ komplexnej farmakoterapie pacientov s CHSZ, najmä v kontexte GDMT a kombinovanej hypotenzívnej liečby (12). Intenzita farmakoterapie je preto v klinickej praxi titrovaná podľa individuálnej tolerability a hemodynamickej stability pacienta, a z tohto dôvodu sme neočakávali významné rozdiely v hodnotách krvného tlaku medzi jednotlivými fenotypovými skupinami. Našou hypotézou však bolo, že farmakogenetická variabilita môže ovplyvňovať celkovú intenzitu kombinovanej hypotenzívnej liečby potrebnú na dosiahnutie porovnateľnej kontroly krvného tlaku. V súlade s touto hypotézou boli v našej práci pozorované rozdiely v celkovej DDD hypotenzívnych liečiv medzi jednotlivými metabolickými fenotypmi.

Pacienti s fenotypom spomalených metabolizérov CYP2D6 (IM/PM) dosahovali nižšiu celkovú DDD hypotenzívnych liečiv, zatiaľ čo pacienti s fenotypom zrýchlených metabolizérov CYP2C19 (RM/UM) vyžadovali vyššiu intenzitu liečby. Naše výsledky tak poukazujú na možný význam farmakogenetickej variability CYP450 pri liečbe pacientov s CHSZ, najmä v podmienkach polyfarmácie a kombinovanej farmakoterapie. Naše zistenia podporujú potrebu

interpretácie farmakogenetických výsledkov v širšom kontexte celkovej farmakoterapie pacienta.

Limitáciou našej práce je monocentrický retrospektívny dizajn štúdie a relatívne malý počet pacientov, čo môže ovplyvňovať generalizovateľnosť pozorovaných asociácií. K limitáciám štúdie patrí aj zameranie analýzy na vybrané genetické varianty enzýmov CYP450, pričom niektoré menej frekventované genetické variácie nemuseli byť zachytené. Pokračujúci výskum bude preto zameraný na rozšírenie sledovaného súboru pacientov aj spektra hodnotených klinických parametrov s cieľom komplexnejšie charakterizovať klinický dopad farmakogenetickej variability u pacientov s CHSZ.

Poďakovanie: Práca vznikla s podporou grantu UK/1305/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Beezer J, Al Hatrushi M, Husband A, Kurdi A, Forsyth P. Polypharmacy definition and prevalence in heart failure: a systematic review. *Heart Fail Rev*. 2022;27(2):465-492. doi:10.1007/s10741-021-10135-4
2. Khan MS, Singh S, Segar MW, et al. Polypharmacy and Optimization of Guideline-Directed Medical Therapy in Heart Failure. *JACC Heart Fail*. 2023;11(11):1507-1517. doi:10.1016/j.jchf.2023.03.007
3. Sharp CN, Linder MW, Valdes R. Polypharmacy: A Healthcare Conundrum with a Pharmacogenetic Solution. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2019;57(3):161-180. doi:10.1080/10408363.2019.1678568
4. Ge X, Brittain B, Dawson L, Dwivedi G, Kaye DM, Morahan G. A Genetic Test to Identify People at High Risk of Heart Failure. *Int J Mol Sci*. 2025;26(4):1782. doi:10.3390/ijms26041782
5. Kontorovich AR. Approaches to Genetic Screening in Cardiomyopathies. *JACC Heart Fail*. 2023;11(2):133-142. doi:10.1016/j.jchf.2022.11.025
6. Ross S, Krebs K, Paré G, Milani L. Pharmacogenomics in Stroke and Cardiovascular Disease: State of the Art. *Stroke*. 2023;54(1):270-278. doi:10.1161/STROKEAHA.122.037717
7. Groenewegen A, Rutten FH, Mosterd A, Hoes AW. Epidemiology of heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2020;22(8):1342-1356. doi:10.1002/ejhf.1858
8. Kayani M, Sangeetha GK, Sarangi S, et al. Pharmacogenomics and its Role in Cardiovascular Diseases: A Narrative Literature Review. *Curr Cardiol Rev*. 2025;21(4):E1573403X334668. doi:10.2174/011573403X334668241227074314
9. Isidoro-García M, Sánchez-Martín A, García-Berrocal B, Román-Curto C. Primun Non Nocere, Polypharmacy and Pharmacogenetics. *Pharmacogenomics*. 2015;16(17):1903-1905. doi:10.2217/pgs.15.137
10. Eichelbaum M, Ingelman-Sundberg M, Evans WE. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med*. 2006;57:119-137. doi:10.1146/annurev.med.56.082103.104724
11. Duarte JD, Thomas CD, Lee CR, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline (CPIC) for *CYP2D6* , *ADRB1* , *ADRB2* , *ADRA2C* , *GRK4* , and *GRK5* Genotypes and Beta-Blocker Therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2024;116(4):939-947. doi:10.1002/cpt.3351
12. Cautela J, Tartiere J, Cohen-Solal A, et al. Management of low blood pressure in ambulatory heart failure with reduced ejection fraction patients. *Eur J Heart Fail*. 2020;22(8):1357-1365. doi:10.1002/ejhf.1835

VPLYV OBEZITY NA SÉROVÉ KONCENTRÁCIE CEFTAZIDÍMU U KRITICKY CHORÝCH PACIENTOV: PILOTNÁ ŠTÚDIA

EFFECT OF OBESITY ON SERUM CEFTAZIDIME CONCENTRATIONS IN CRITICALLY ILL PATIENTS: A PILOT STUDY

Mikloška A[1], Kopáčová I[2], Oleárová A[3], Piešťanský J[2,4], Kiliánová Z[1]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika
[2]Katedra galenickej farmácie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika
[3]Oddelenie klinickej farmakológie, Univerzitná nemocnica Bratislava – Ružinov, Bratislava, Slovenská republika
[4]Toxikologické a antidopingové centrum, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika

Abstrakt: V manažmente kriticky chorých pacientov predstavujú beta-laktámové antibiotiká vrátane ceftazidímu nenahraditeľný pilier antiinfekčnej terapie. Vzhľadom na jeho časovo závislý farmakodynamický účinok je úspech liečby úzko spätý s udržiavaním stabilných sérových koncentrácií, pričom farmakokinetický/farmakodynamický (PK/PD) cieľ je definovaný ako 4- až 8-násobok minimálnej inhibičnej koncentrácie vyvolávajúceho patogénu počas 100% dávkovacieho intervalu. Cieľom tejto pilotnej štúdie bolo vyhodnotiť vzťah obezity a sérových koncentrácií ceftazidímu u hospitalizovaných pacientov a navrhnúť úpravy dávkovania. Na základe inklúznych kritérií bolo do štúdie zaradených 17 pacientov hospitalizovaných v Univerzitnej nemocnici Bratislava – Ružinov, ktorým bola sérová koncentrácia stanovená pomocou jednoduchej LC-MS metódy s predúpravou vzorky zahŕňajúcou precipitáciu proteínov. Následne bola dynamiku sérových koncentrácií ceftazidímu modelovaná individuálne pre každého pacienta v prostredí farmakokinetického softvéru MWPharm++ a navrhnutá úprava dávkovania. Pri štandardnom empirickom dávkovaní žiaden z pacientov nedosiahol cieľovú minimálnu sérovú koncentráciu ceftazidímu (35 mg/l). Korelačná analýza preukázala trend negatívnej závislosti medzi koncentráciami ceftazidímu a BMI, hoci bez štatistickej významnosti. Na záver konštatujeme, že štandardné režimy ceftazidímu sú často nedostatočné na dosiahnutie požadovaných PK/PD cieľov, čím sa zvyšuje riziko zlyhania liečby a rozvoja bakteriálnej rezistencie. Na základe farmakokinetického modelovania odporúčame prechod z intermitentnej na kontinuálnu infúziu s cieľom dosiahnuť optimálny PK/PD cieľ. Implementácia TDM do klinickej praxe sa javí ako nevyhnutný nástroj na zaistenie klinickej účinnosti aj bezpečnosti terapie ceftazidímom.

Summary: In the management of critically ill patients, beta-lactam antibiotics including ceftazidime represent an indispensable pillar of anti-infective therapy. Due to its time-dependent pharmacodynamic effect, therapeutic success is tightly linked to maintaining stable plasma concentrations with pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) target defined as four- to eightfold the minimum inhibitory concentration of the causative pathogen for 100 % of the dosing interval. The aim of this pilot study was to evaluate the relationship between obesity and serum ceftazidime concentrations in hospitalized patients and to propose dosage adjustments. Based on the inclusion criteria, 17 patients hospitalized at the University Hospital Bratislava – Ružinov were included in the study. Ceftazidime plasma concentration was determined using a simple LC-MS method with sample pretreatment including protein precipitation. Pharmacokinetic modelling of ceftazidime plasma concentrations was performed using MWPharm++ software, which was subsequently used to generate individualized dosing

adjustments proposals. Under standard empirical dosing, none of the patients achieved the target minimum plasma concentration of ceftazidime (35 mg/l). Correlation analysis demonstrated a trend of negative correlation between ceftazidime concentrations and BMI, although without statistical significance. In conclusion, standard ceftazidime regimens are frequently insufficient to achieve the required PK/PD targets, increasing the risk of therapeutic failure and the development of bacterial resistance. Based on pharmacokinetic modelling we recommend a shift from intermittent to continuous infusion for achieving optimal PK/PD target, while minimizing the risk of drug toxicity. The implementation of TDM into clinical practice appears to be an essential tool, particularly in patients with altered pharmacokinetics, to ensure both clinical efficacy and safety of ceftazidime treatment.

Kľúčové slová: terapeutické monitorovanie liečiv, ceftazidím, sérová koncentrácia, farmakokinetické/farmakodynamické ciele
Keywords: therapeutic drug monitoring, ceftazidime, plasma concentration, pharmacokinetic/pharmacodynamic targets

ÚVOD

Ceftazidím patrí medzi širokospektrálne beta-laktámové antibiotiká so známymi farmakokinetickými a farmakodynamickými vlastnosťami a preukázanou bezpečnosťou a účinnosťou. Zaraďujeme ho medzi cefalosporíny tretej generácie. Podobne ako iné beta-laktámové antibiotiká sa ceftazidím viaže na rôzne typy PBP (proteíny viažuce penicilín), pričom ceftazidím má najvyššiu afinitu k PBP3 gram-negatívnych baktérií. Dôsledkom väzby cefalosporínov na PBP je inhibícia syntézy bunkovej steny baktérií, čo vedie k smrti bakteriálnej bunky (1).

Ceftazidím vykazuje *in vitro* aktivitu voči širokému spektru gramnegatívnych a fakultatívne anaeróbnych baktérií. Medzi najvýznamnejšie citlivé patogény voči ceftazidímu patria Enterobacteriaceae vrátane *Escherichia coli* a *Klebsiella spp., Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus spp., Moraxella spp.* a *Neisseria spp*. (1). Od uvedenia ceftazidímu do klinickej praxe však došlo k zníženiu jeho účinnosti proti gramnegatívnym patogénom v dôsledku šírenia rezistencie prostredníctvom beta-laktamáz so širokým spektrom účinku (ESBL), karbapenemáz typu KPC atď., čo limituje využiteľnosť samotného ceftazidímu v monoterapii v súčasnej klinickej praxi (1). Vysoká mortalita spojená s pseudomonádovými infekciami je podmienená aj inými faktormi virulencie a rôznymi mechanizmami úniku pred imunitným systémom hostiteľa, vrátane schopnosti tvorby biofilmu (2), či vznikom rezistencie *de novo* (3).

Z týchto dôvodov sa javí ako kľúčové zabrániť šíreniu bakteriálnej rezistencie používaním takých dávok antibiotík, ktoré sú terapeuticky aktívne a zabezpečia usmrtenie patogénov. V prípade beta-laktámových antibiotík vrátane ceftazidímu sa rutinne využíva empirické dávkovanie podľa SPC. V ostatných rokoch však mnohé štúdie preukázali, že empirické dávkovanie nepostačuje na dosiahnutie terapeutických sérových koncentrácií a často vedie k subterapeutickým koncentráciám antibiotika, čo má za následok zlyhanie liečby a tiež šírenie bakteriálnej rezistencie (4). Čoraz častejšie sa preto aj v prípade beta-laktámových antibiotík preferuje prístup ich monitorovania prostredníctvom TDM, ktoré však nie je na Slovensku rutinne aplikovanou metódou.

Pri TDM beta-laktámových antibiotík boli pomocou experimentálnych modelov a na základe ich farmakokinetických a farmakodynamických vlastností stanovené tzv. farmakokinetické/farmakodynamické (PK/PD) terapeutické ciele. Podľa vedeckého konsenzu vo všeobecnosti platí pre cefalosporíny tzv. konzervatívny PK/PD cieľ pre dosiahnutie terapeutického úspechu, ktorý sa definuje ako sérová koncentrácia voľnej frakcie liečiva v hodnotách 2- až 4-násobku minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) vyvolávajúceho

patogénu, ktorú je potrebné udržať počas 50 % až 70 % dávkovacieho intervalu (50 % - 70 % fT ≥ 2–4 x MIC) (4). Pri liečbe závažných infekcií vyvolaných gramnegatívnymi patogénmi je však pre eradikáciu bakteriálnej infekcie nevyhnutné dosahovanie tzv. „agresívnejších“ PK/PD cieľov spočívajúcich v koncentráciách nad hodnotou MIC počas 100% času dávkovacieho intervalu, pričom takýto prístup signifikantne zvyšuje pravdepodobnosť vyliečenia (4). U kriticky chorých pacientov by sme mali cieliť na „agresívny“ PK/PD cieľ, čo v praxi znamená udržanie voľnej sérovej koncentrácie ceftazidímu medzi 4- až 8-násobkom MIC počas 100 % času (100 % fT ≥ 4–8 x MIC). Toto zodpovedá hodnotám sérových koncentrácií ceftazidímu 35 – 80 mg/l (5). Udržiavanie sérových koncentrácií ceftazidímu v uvedenom terapeutickom rozmedzí je optimálne z hľadiska zabezpečenia jeho účinnosti v zmysle eradikácie vyvolávajúceho patogénu a zároveň zabraňuje manifestácii možných prejavov toxicity.

SÚBOR PACIENTOV A METÓDY

Projekt bol schválený Etickou komisiou Univerzitnej nemocnice Bratislava – Ružinov. Celý proces zhromažďovania a vyhodnocovania dát sa riadil ustanoveniami zákona č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov. Všetky údaje pacientov boli pred analýzou upravené do anonymnej formy.

Do štúdie s prospektívnym dizajnom bolo zaradených 17 pacientov hospitalizovaných v Univerzitnej nemocnici Bratislava – Ružinov, ktorým bol intravenózne podávaný ceftazidím v časovom intervale od 5.2.2024 až 31.5.2024. Inklúzne kritériá boli vek nad 18 rokov, potvrdená alebo suspektná bakteriálna infekcia vyžadujúca liečbu ceftazidímom a podpísaný informovaný súhlas v súlade s etickými štandardmi pracoviska.

U každého pacienta boli zaznamenané demografické ukazovatele vek, pohlavie, hmotnosť a výška. Taktiež bola sledovaná koncentrácia sérového kreatinínu, sérová koncentrácia ceftazidímu a jeho aktuálny dávkovací interval (dávka, interval podávania, dĺžka infúzie). BMI pacientov bolo vypočítané pomocou voľne dostupnej kalkulačky https://www.nhlbi.nih.gov/calculate-your-bmi. Na základe BMI boli pacienti zaradení do kategórií hmotnosti na základe štandardného diagnostického a terapeutického postupu pre komplexný manažment nadhmotnosti/obezity v dospelom veku (6). Koncentrácia sérového kreatinínu bola použitá na výpočet odhadovanej rýchlosti glomerulárnej filtrácie (eGFR) pomocou rovnice CKD-EPI 2009 voľne dostupnej na https://www.ikem.cz/cs/odhad-glomerularni-filtrace-podle-rovnice-ckd-epi-2009-kreatinin/a-2183/.
Pacienti boli klasifikovaní do kategórií funkcie obličiek G1 až G5 podľa KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease (7).

Odbery periférnej krvi boli realizované personálom klinických oddelení UNB Ružinov, vždy 30 minút pred podaním nasledujúcej v čase ustálenej hladiny liečiva, tzv. steady state, a to najskôr na druhý deň od začiatku liečby. Po príprave séra boli vzorky uskladnené pri teplote -80 ºC na zabezpečenie analytickej stability. Vlastná kvantifikácia sérových koncentrácií bola realizovaná pomocou ultra-vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (UHPLC-MS/MS) po predúprave biologickej vzorky precipitáciou acetonitrilom (8).

Priebehy nameraných koncentrácií ceftazidímu boli modelované v prostredí softvéru MWPharm++ využívajúcim Bayesovskú štatistiku. Po vložení parametrov pre každého individuálneho pacienta bol použitý model „ceftazidime_georges_2009_C2“ na modelovanie dynamiky sérových koncentrácií ceftazidímu. Následne boli pomocou softvéru individuálne navrhované zmeny v dávkovaní tak, aby boli dosiahnuté cieľové PK/PD parametre pre ceftazidím u každého pacienta. Keďže sme nemali k dispozícii hodnoty MIC vyvolávajúcich patogénov, pracovali sme s hraničnou hodnotou MIC vo výške 8 mg/l na základe údajov z databázy EUCAST (9).

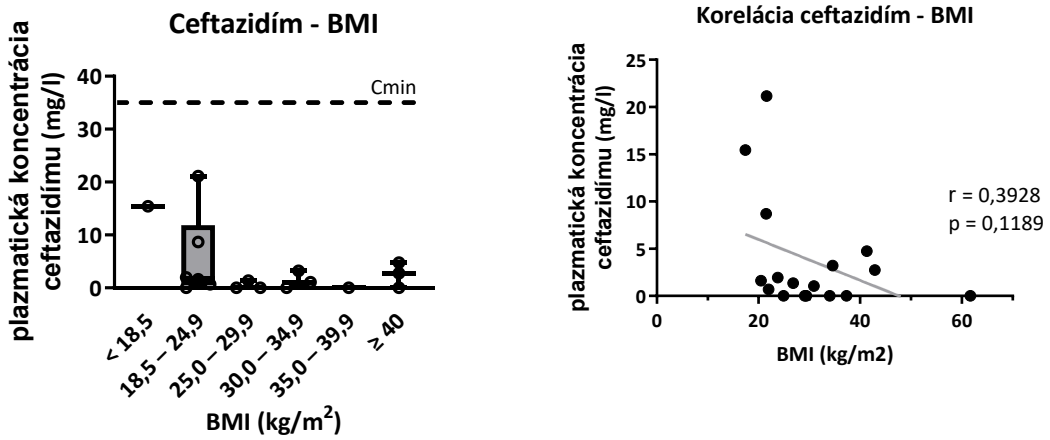
Po úvodnom spracovaní údajov v softvéri Microsoft Excel boli získané klinické a analytické dáta štatisticky vyhodnotené pomocou softvéru GraphPad Prism 11.0.0. Distribúcia nameraných hodnôt bola overená pomocou Shapirovho-Wilkovho testu normality. Pre komparáciu rozličných skupín pacientov bola použitá jednosmerná analýza rozptylu ANOVA, konkrétne neparametrický Kruskalov-Wallisov test. Korelačná analýza vzťahu medzi nezávisle premennou (BMI) a závisle premennou (sérová koncentrácia ceftazidímu) bola testovaná metódou jednoduchej lineárnej regresie. Na vyhodnotenie sily a smeru vzťahu bol využitý Spearmanov korelačný koeficient (r). Za štatisticky významné boli považované hodnoty $p \leq 0,05$.

VÝSLEDKY

Základné demografické a klinické údaje sledovaného súboru pacientov sú uvedené v tabuľke 1. Sledovaný súbor tvorilo 17 pacientov, z toho 13 mužov (76,5%) a 4 ženy (23,5%).

Tabuľka 1: Demografická a klinická charakteristika sledovaného súboru pacientov.

Charakteristika	Priemerné hodnoty ± smerodajná odchýlka
Počet pacientov	17
Počet mužov / žien	13 / 4
Vek (medián, roky)	63 (20 – 84)
Výška (cm)	175,1 ± 8,7
Hmotnosť (kg)	94,4 ± 37
BMI (kg/m^2)	30,57 ± 10,94
eGFR ($ml/min/1,73m^2$)	82,39 ± 36,41



Obrázok 1: Sérové koncentrácie ceftazidímu v sledovanom súbore pacientov. A: distribúcia sérových koncentrácií ceftazidímu v skupinách pacientov rozdelených podľa BMI. Minimálna hodnota terapeutického PK/PD cieľa (Cmin 35 mg/l) je označená prerušovanou čiarou. B: Korelačná analýza sérovej koncentrácie ceftazidímu s BMI pacientov. Spearmanov korelačný koeficient , r = -0,3928, p = 0,1189.

Na obrázku 1A je znázornená distribúcia sérových koncentrácií ceftazidímu v skupinách pacientov rozdelených podľa BMI. Rozdiely medzi jednotlivými sledovanými skupinami neboli štatisticky významné. Z obrázku 1A tiež vyplýva, že ani jeden pacient

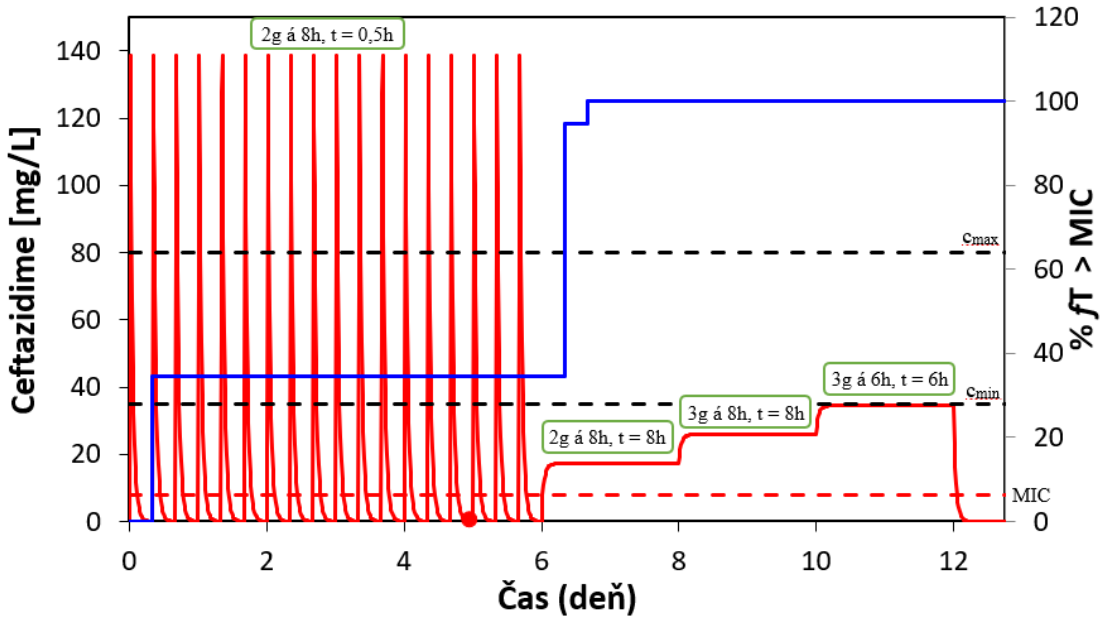
v sledovanom súbore nedosiahol cieľovú terapeutickú koncentráciu ceftazidímu (35 mg/l). Analýza vzťahu medzi BMI pacientov a sérovou koncentráciou ceftazidímu ukázala trend negatívnej korelácie (r = -0,3928), hoci dosiahnutá hodnota významnosti p = 0,1189 nepotvrdila štatistickú signifikanciu (obrázok 1B).

Súčasťou práce bolo farmakokinetické modelovanie dynamiky koncentrácií ceftazidímu u jednotlivých pacientov. V nasledujúcej časti vyberáme ukážku kazuistiky pacienta trpiaceho obezitou. Základné parametre pacienta relevantné z hľadiska klinickej situácie a farmakokinetickej interpretácie boli nasledovné:

- Muž, 40 rokov,
- Výška 180 cm, hmotnosť 200 kg,
- BMI 61,7 kg/m2 (obezita 3. stupňa),
- Renálne funkcie: sérový kreatinín 42,1 µmol/l, eGFR 138,3 ml/min (G1).

Pacientovi bola nastavená štandardná empirická liečba podľa rutinných dávkovacích schém, konkrétne ceftazidím 2 g každých 8 hodín s dĺžkou infúzie 30 minút, čiže celková denná dávka zodpovedala 6 g. Na piaty deň liečby bola pacientovi odobratá vzorka krvi na stanovenie koncentrácie ceftazidímu. Výsledok analýzy ukázal sérovú koncentráciu ceftazidímu pod limitom detekcie (c = 0 mg/l).

Na obrázku 2 sú znázornené sérové koncentrácie ceftazidímu modelované vo farmakokinetickom softvéri MWPharm++ pre uvedeného pacienta. Podľa pôvodného dávkovacieho režimu pacient dosahuje v prvých šiestich dňoch liečby supraterapeutické sérové koncentrácie (riziko toxicity liečiva) a zároveň koncentrácie ceftazidímu sa nachádzajú len 34,4% času nad MIC (obrázok 2, deň 0 – 6), čo znamená riziko zlyhania terapie a vznik rezistencie.



Obrázok 2: Farmakokinetické modelovanie priebehu sérových koncentrácií ceftazidímu u pacienta s obezitou. Červená plná čiara znázorňuje zmeny sérových koncentrácií ceftazidímu v čase, červená prerušovaná čiara znázorňuje MIC, čierne prerušované čiary ohraničujú terapeutické rozmedzie cieľových PK/PD koncentrácií ceftazidímu, modrá plná čiara znázorňuje % času nad MIC, červený bod označuje sérovú koncentráciu ceftazidímu v deň odberu vzorky

Z uvedených dôvodov navrhujeme nasledovné možné intervencie:

• Zmena intermitentného podávania ceftazidímu na kontinuálnu infúziu, t.j. 2 g každých 8 hodín s dĺžkou infúzie 8 hodín (obrázok 2, deň 6 – 8). Táto intervencia by priniesla zlepšenie v zmysle % času nad MIC, dosahované sérové koncentrácie ceftazidímu by však boli stále nízke (c = 17,23 mg/l).

• Zvýšenie dávky ceftazidímu z 2 g každých 8 hodín na 3 g každých 8 hodín (obrázok 2, deň 8 - 10) – táto intervencia by spôsobila zvýšenie koncentrácie na c = 25,85 mg/l, čo je stále nedostatočné z hľadiska splnenia PK/PD cieľa.

• Zvýšenie frekvencie podávania ceftazidímu z 3 g každých 8 hodín na 3 g každých 6 hodín pre dosiahnutie celkovej dennej dávky 12 g (Obrázok 10, deň 10 - 12), čo zabezpečí cieľovú koncentráciu 35 mg/l s udržaním koncentrácie 100% času nad MIC. Tým dosiahneme najvyššiu pravdepodobnosť klinického zlepšenia u pacienta. Túto intervenciu považujeme za optimálnu z hľadiska dosiahnutia PK/PD cieľa.

U tohto pacienta je nutné prekročiť maximálnu dennú dávku ceftazidímu 9 g/deň udávanú SPC (10). Je to najmä kvôli vysokému klírensu liečiva, čo je typické u obéznych pacientov, a zvýšenému distribučnému objemu, vďaka ktorému dochádza k drastickému zníženiu vrcholovej koncentrácie hydrofilného ceftazidímu hneď po podaní.

DISKUSIA A ZÁVER

Cieľom predloženého pilotného projektu bolo zhodnotiť vplyv obezity na farmakokinetiku ceftazidímu a analyzovať opodstatnenosť terapeutického monitorovania liečiv v klinickej praxi. Naše výsledky naznačujú signifikantnú variabilitu v dosahovaných sérových koncentráciách, pričom alarmujúcim zistením je, že pri použití rutinných dávkovacích schém ani jeden pacient v sledovanom súbore nedosiahol cieľovú minimálnu koncentráciu ceftazidímu (c_{min} = 35 mg/l), čo predstavuje riziko zlyhania liečby a rozvoja bakteriálnej rezistencie.

Dôležitým faktorom, ktorý však mohol ovplyvniť výsledné namerané koncentrácie ceftazidímu, je stabilita liečiva počas dlhodobého skladovania. V našej štúdii boli vzorky analyzované s odstupom od 21 do 24 mesiacov od samotného odberu krvi, pričom vzorky boli uchovávané pri teplote – 80 ºC. Podľa dostupnej literatúry je stabilita ceftazidímu v ľudskej plazme pri tejto teplote experimentálne overená na obdobie maximálne 12 mesiacov (11). Po tomto čase by teoreticky mohlo dochádzať k postupnej degradácii liečiva, čo by v praxi znamenalo, že skutočné koncentrácie v čase odberu mohli byť o niečo vyššie ako nami namerané.

Pri analýze vplyvu BME na koncentráciu ceftazidímu sme pozorovali trend negatívnej korelácie (r = - 0,3928). Aj napriek tomu, že výsledok nedosiahol štatistickú významnosť (p = 0,1189), uvedený trend naznačuje, že u obéznych pacientov ceftazidím dosahuje nižšie sérové koncentrácie. Tento jav je v súlade s patofyziologickými poznatkami o distribúcii hydrofilných liečiv, kde zvýšený objem extracelulárnej tekutiny u obéznych pacientov vedie k nárastu distribučného objemu, čo má za následok zníženie vrcholových aj minimálnych koncentrácií liečiv v krvi (12). V prípade väčšieho súboru pacientov by sa mohla táto hypotéza potvrdiť.

Uvedená kazuistika ilustruje zlyhanie štandardného dávkovania u pacienta s morbídnou obezitou. Nameraná sérová koncentrácia ceftazidímu pod limitom detekcie (cmin = 0 mg/l) pri režime 2 g každých 8 hodín potvrdzuje, že rutinné dávkovacie schémy sú u pacienta z tejto špecifickej populácie nedostatočné. U morbídne obéznych pacientov dochádza k masívnej distribúcii liečiva do extracelulárnych tekutín, čo vedie k drastickému zníženiu vrcholových koncentrácií hneď po podaní, pretože u týchto pacientov je prítomné zvýšenie distribučného objemu. Pacient má zároveň zvýšenú renálnu funkciu (eGFR = 138,3 ml/min), čo vedie k urýchlenej eliminácii hydrofilného ceftazidímu obličkami opísanej v literatúre (13). Ako najvhodnejšia intervencia sa javí prechod na kontinuálnu infúziu ceftazidímu pri dávkovaní

3 g každých 6 hodín (celková denná dávka 12 g). Tým sa dosiahne stabilná sérová koncentrácia ceftazidímu 35 mg/l. Aj napriek tomu, že táto nami odporúčaná dávka prekračuje odporúčanú maximálnu dennú dávku 9 g uvádzanú v SPC, u pacientov s morbídnou obezitou je prekročenie týchto limitov často nevyhnutné na zabezpečenie efektivity terapie a prevenciu vzniku antimikrobiálnej rezistencie. Táto kazuistika demonštruje, že narastajúca prevalencia morbídnej obezity v populácii predstavuje jednu z najväčších výziev pre klinickú farmakológiu v najbližších rokoch. Súčasné SPC liekov sú založené na dátach od pacientov s priemernou telesnou hmotnosťou, čo sa v kontexte obéznych pacientov javí ako nepostačujúce s rizikom terapeutického zlyhania. Riešením tohto problému nie je len automatické zvyšovanie dávok liečiv, ale predovšetkým implementácia TDM do bežnej klinickej praxe. Len takýmto spôsobom dokážeme u pacientov s neštandardnou farmakokinetikou eliminovať riziko suboptimálnej liečby, ktorá je hrozbou nielen pre pacienta, ale významne prispieva aj ku vzniku a šíreniu multirezistentných bakteriálnych kmeňov (14).

Pri aplikácii kontinuálnych infúzií je nevyhnutné brať do úvahy aj praktické a technické aspekty ako možnosť podávania do osobitného portu s využitím infúznej pumpy, ale aj faktory stability liečiva. V prípade, že by sme chceli pacientovi podávať jednu kontinuálnu infúziu ceftazidímu počas celého dňa, je potrebné myslieť aj na samotnú stabilitu ceftazidímu po rekonštitúcii a zriedení liečiva. Pri teplote 25 °C vo vhodnom roztoku po rekonštitúcii a zriedení liečiva výrobca podľa SPC zabezpečuje chemickú a fyzikálnu stabilitu ceftazidímu len počas 2 hodín. Stabilitné štúdie ceftazifímu však preukázali, že roztoky ceftazidímu sú pri teplote 25 °C s koncentráciou v rozmedzí 4% až 12% stabilné počas 24 hodín (degradácia nepresiahla 10 % pôvodného množstva liečiva). Hodnota pH je pre stabilitu ceftazidímu taktiež dôležitá, pričom sa musí pohybovať medzi 7,1 a 7,7 (15). Podľa SPC bola chemická a fyzikálna stabilita po rekonštitúcii a zriedení ceftazidímu preukázaná počas 24 hodín len pri teplote 2 až 8 ºC (10).

Pri zavádzaní kontinuálneho podávania ceftazidímu je nevyhnutné zohľadniť aj fyzikálno-chemickú kompatibilitu s ostatnými súbežne podávanými liečivami. Fyzikálne inkompatibility u ceftazidímu vznikajú pri simultánnom podávaní vankomycínu, nikardipínu, midazolamu alebo propofolu. Fyzikálne inkompatibility sa najčastejšie prejavujú vznikom precipitátu. Známa je aj chemická inkompatibilita s N-acetylcysteínom, ktorý spôsobuje lineárny pokles obsahu ceftazidímu o 20% za hodinu pri 25 °C (15). Ak sú lieky fyzikálne alebo chemicky inkompatibilné, ideálnym riešením je podávať ich do rôznych žíl alebo cez viaclúmenový centrálny venózny katéter.

Výsledky predloženej práce potvrdzujú, že u kriticky chorých pacientov dochádza pri podávaní ceftazidímu k veľkej farmakokinetickej variabilite, ktorú nie je možné spoľahlivo pokryť štandardnými dávkovacími schémami uvádzanými v SPC. K obzvlášť závažným fluktuáciám sérových koncentrácií ceftazidímu môže kvôli zmenám v distribučnom objeme dochádzať u obéznych pacientov. Naše zistenia vedú k nasledujúcim záverom a odporúčaniam smerom ku klinickej praxi:

1. *Kontinuálna infúzia ako nevyhnutnosť pre PK/PD cieľ:*

Farmakokinetické modelovanie u všetkých 17 pacientov jednoznačne preukázalo, že prechod z intermitentného na kontinuálne podávanie ceftazidímu je najúčinnejším spôsobom, ako dosiahnuť optimálne sérové koncentrácie ceftazidímu. Zatiaľ čo pri intermitentnom podávaní pacienti vrátane obéznych často kolíšu medzi rizikom neurotoxicity a rizikom terapeutického zlyhania, kontinuálna infúzia zabezpečuje stabilné udržanie sérových hladín v cieľovom terapeutickom rozmedzí 35 – 80 mg/l. Kontinuálna infúzia je kľúčom k dosiahnutiu „agresívneho“ PK/PD cieľa 100% fT > 4 – 8x MIC, ktorý predstavuje najvyššiu pravdepodobnosť na klinické zlepšenie u kriticky chorých pacientov a minimalizuje riziko rozvoja antimikrobiálnej rezistencie.

2. TDM ako pilier personalizovanej medicíny:

V sledovanom súbore pacientov sa sme odhalili trend negatívnej korelácie medzi BMI a sérovými koncentráciami ceftazidímu, hoci rozdiely v distribúcii koncentrácií ceftazidímu v jednotlivých skupinách pacientov rozdelených na základe BMI neboli štatisticky významné. Absencia týchto vzťahov poukazuje na to, že u kriticky chorých pacientov dochádza ku komplexným a nepredvídateľným zmenám vo farmakokinetike v takej miere, že nevieme spoľahlivo predikovať ideálne dávkovanie u konkrétneho pacienta. Práve kvôli tomu sa TDM stáva jediným objektívnym nástrojom na zabezpečenie efektívnej a bezpečnej liečby. Bez priameho merania koncentrácií liečiv zostáva liečba len empirickým odhadom, ktorý v našom súbore neviedol ani u jedného pacienta k dosiahnutiu PK/PD cieľa.

Najzásadnejšou limitáciou predloženej štúdie je obmedzený počet pacientov v sledovanom súbore. Porovnateľné štúdie v odbornej literatúre zahŕňajú desiatky (16) prípadne až stovky pacientov (17). Ďalšiu limitáciu predstavuje neexistujúce stanovenie MIC prítomných patogénov pre ceftazidím. Keďže od skutočnej MIC sa priamo odvodzuje PK/PD cieľová sérová koncentrácia, museli sme pracovať s najvyššou možnou predpokladanou MIC pre citlivé patogény. Tento fakt mohol spôsobiť skreslenie niektorých výsledkov a ich interpretácií. Poslednou limitáciou je meranie koncentrácií až po 24 mesiacoch skladovania vzoriek séra. Napriek skladovacej teplote – 80 °C nemôžeme vylúčiť čiastočnú degradáciu ceftazidímu, čo mohlo ovplyvniť namerané výsledky.

Poďakovanie: Táto práca bola podporená grantami VEGA 1/0302/24 a UK/1257/2026.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Lagacé-Wiens P, Walkty A, Karlowsky JA. Ceftazidime-avibactam: an evidence-based review of its pharmacology and potential use in the treatment of Gram-negative bacterial infections. *Core Evid*. 2014;9:13-25.
2. Daikos GL, da Cunha CA, Rossolini GM, et al. Review of Ceftazidime-Avibactam for the Treatment of Infections Caused by Pseudomonas aeruginosa. *Antibiotics*. 2021;10(9):1126.
3. Feng Y, Jonker MJ, Moustakas I, Brul S, ter Kuile BH. Dynamics of Mutations during Development of Resistance by Pseudomonas aeruginosa against Five Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(7):4229-4236.
4. Fratoni AJ, Nicolau DP, Kuti JL. A guide to therapeutic drug monitoring of β-lactam antibiotics. *Pharmacotherapy*. 2021;41(2):220-233.
5. Guilhaumou R, Benaboud S, Bennis Y, et al. Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients-guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique-SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société Française d'Anesthésie et Réanimation-SFAR). *Crit Care Lond Engl*. 2019;23(1):104.
6. Fábryová Ľ, Kissová V. Štandardný diagnostický a terapeutický postup na komplexný manažment nadhmotnosti/obezity v dospelom veku 1. revízia. Published online 2021.
7. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2024;105(4S):S117-S314.
8. Piestansky J, Cizmarova I, Mikus P, et al. An Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for Simultaneous Determination of 4 β-Lactam Antibiotics, Tazobactam, and Linezolid in Human Plasma Samples. *Ther Drug Monit*. 2022;44(6):784-790.

9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC and Zone Distributions and ECOFFs [online]. Växjö: EUCAST. 2026. Accessed June 24, 2026. https://www.eucast.org/vetcast/mic-distributions-and-ecoffs/
10. Súhrn charakteristických vlastností lieku. Ceftazidime Olikla 2 g prášok na injekčný alebo infúzny roztok [online]. ADC.sk. April 2025. Accessed June 24, 2026. https://www.adc.sk/databazy/produkty/detail/ceftazidime-olikla-2-g-508829.html
11. Dalla Zuanna P, Curci D, Lucafò M, Addobbati R, Fabretto A, Stocco G. Preanalytical Stability of 13 Antibiotics in Biological Samples: A Crucial Factor for Therapeutic Drug Monitoring. *Antibiotics*. 2024;13(7):675.
12. Alobaid AS, Hites M, Lipman J, Taccone FS, Roberts JA. Effect of obesity on the pharmacokinetics of antimicrobials in critically ill patients: A structured review. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;47(4):259-268.
13. Fanton D'Andon C, Correia P, Rigaill J, Kably B, Perinel-Ragey S, Launay M. Ceftazidime dosing in obese patients: is it time for more? *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2022;18(4):277-284.
14. Gatti M, Pea F. Raising the Bar of PK/PD Target Attainment of Beta-Lactams in Daily Clinical Practice: An Effective Strategy to Overcome Resistance Development to Novel Beta-Lactams? *Infect Dis Rep*. 2026;18(1):3.
15. Servais H, Tulkens PM. Stability and compatibility of ceftazidime administered by continuous infusion to intensive care patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(9):2643-2647.
16. Launay M, Ollier E, Kably B, et al. Loading Dose of Ceftazidime Needs to Be Increased in Critically Ill Patients: A Retrospective Study to Evaluate Recommended Loading Dose with Pharmacokinetic Modelling. *Antibiotics*. 2024;13(8):756.
17. Hagel S, Bach F, Brenner T, et al. Effect of therapeutic drug monitoring-based dose optimization of piperacillin/tazobactam on sepsis-related organ dysfunction in patients with sepsis: a randomized controlled trial. *Intensive Care Med*. 2022;48(3):311-321.

OPTIMALIZÁCIA FARMAKOTERAPIE U STARŠÍCH PACIENTOV: POHĽAD KLINICKÉHO FARMACEUTA

OPTIMIZATION OF PHARMACOTHERAPY IN OLDER PATIENTS: A CLINICAL PHARMACIST'S PERSPECTIVE

Olbertová D[1,2] Chromeková K[1,3]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika
[2]Stredoslovenský Ústav srdcových a cievnych chorôb a.s, Lekáreň Ústavu farmácie SZU, Oddelenie klinickej farmácie, Banská Bystrica, Slovenská republika
[3]Stredoslovenský Ústav srdcových a cievnych chorôb a.s, Oddelenie kardiológie, Banská Bystrica, Slovenská republika

Abstrakt: Polyfarmácia patrí medzi najčastejšie liekové problémy u starších pacientov. Vedie k interakciám, toxicite, zvýšenému riziku pádov a k nonadherencii. Často súvisí s používaním potenciálne nevhodných liečiv (PIM), ktoré zvyšujú počet hospitalizácií aj ekonomickú záťaž zdravotníckych systémov.
Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť výskyt PIM u hospitalizovaných starších pacientov na oddelení angiológie, poukázať na význam spolupráce lekára a klinického farmaceuta, vyhodnotiť úspešnosť konzultácií a vypracovať zoznam PIM pre dané pracovisko.
Do štúdie boli zaradení starší pacienti hospitalizovaní na oddelení angiológie počas 3- mesačného obdobia. Na základe vstupných kritérií (pacient nad 65 rokov, viac ako 5 liekov v liekovej anamnéze, aspoň jedno PIM pri príjme) boli zahrnutí 50 pacienti. Pri hodnotení sme použili zoznam EU(7)PIM a Databázu lékových interakcií DrugAgency.
Z celkového počtu 594 liekov pri prijatí bolo 149 (25 %) označených ako PIM a pri prepustení 475 liečiv z toho 76 (16 %) PIM. Najčastejšie išlo o liečivá z ATC skupín C, N a A. Podľa zoznamu EU(7)PIM bol najčastejšie zachytené PIM pantoprazol 24-krát (16,1%) pri prijatí a 8-krát (5,3%) pri prepustení, podľa databázy DrugAgency naftidrofuryl (15,4 % a 9,4 %). Najčastejším dôvodom nevhodnosti PIM bolo riziko nežiaducich účinkov a nejasná indikácia. Klinický farmaceut navrhol úpravy ako vysadenie, zníženie dávky, zmenu či prerušenie liečby, doplnenie monitoringu a edukáciu pacienta. Celkovo bolo 58 % odporúčaní akceptovaných, 21 % neakceptovaných a 21 % čiastočne akceptovaných.
Výsledky poukazujú na vysoký výskyt PIM a význam interdisciplinárnej spolupráce pri zlepšovaní bezpečnosti farmakoterapie u starších pacientov.

Summary: Polypharmacy is one of the most common medication-related problems among older patients. It leads to drug interactions, toxicity, an increased risk of falls, and non-adherence. It is often associated with the use of potentially inappropriate medications (PIMs), which contribute to higher hospitalization rates and increased healthcare costs.
The aim of this study was to evaluate the prevalence of PIMs among hospitalized older patients in an angiology department, highlight the importance of collaboration between physicians and clinical pharmacists, assess the acceptance of pharmacist consultations, and develop a list of PIMs specific to the department.
Older patients hospitalized in the angiology department over a three-month period were included in the study. Based on the inclusion criteria (age over 65 years, use of more than five medications in the medication history, and at least one PIM at admission), a total of 50 patients were enrolled. The EU(7)-PIM list and the DrugAgency Drug Interaction Database were used for medication assessment.

Of the 594 medications recorded at admission, 149 (25%) were identified as PIMs. At discharge, patients were prescribed a total of 475 medications, of which 76 (16%) were classified as PIMs. The most frequently involved medications belonged to ATC groups C, N, and A. According to the EU(7)-PIM list, pantoprazole was the most frequently identified PIM, occurring 24 times (16.1%) at admission and 8 times (5.3%) at discharge. According to the DrugAgency database, naftidrofuryl was the most commonly identified PIM (15.4% and 9.4%, respectively). The most common reasons for PIM classification were the risk of adverse effects and unclear indication. Clinical pharmacists proposed interventions such as medication discontinuation, dose reduction, therapy modification or interruption, additional monitoring, and patient education. Overall, 58% of recommendations were accepted, 21% were not accepted, and 21% were partially accepted.
The results demonstrate a high prevalence of PIMs and emphasize the importance of interdisciplinary collaboration in improving the safety of pharmacotherapy among older patients.

Kľúčové slová: potenciálne nevhodné liečivá, starší ľudia, polyfarmácia, EU(7)PIM zoznam
Keywords: potentially inappropriate medications, older adults, polypharmacy, EU(7)-PIM list

ÚVOD

S pribúdajúcim vekom narastá incidencia akútnych aj chronických ochorení, čo vedie k vyššiemu počtu predpisovaných liekov. Polypragmázia je uznávaným rizikovým faktorom pre nežiaduce liekové interakcie a nízku adherenciu k liečbe. Polypragmázia, definovaná ako chronické užívanie piatich alebo viacerých liekov, sa vyskytuje u približne 40 % dospelých starších ako 65 rokov. U dospelých nad 75 rokov môže prevalencia polypragmázie pri prijatí do nemocnice dosahovať až 90 %. U starších dospelých je bežná multimorbidita (súbežná prítomnosť viacerých chronických stavov), preto farmakoterapia zohráva v liečbe týchto pacientov dôležitú úlohu (1). Potenciálne nevhodné lieky (PIMs) sú liečivá, pri ktorých riziká nežiaducich účinkov prevažujú nad očakávaným klinickým prínosom u starších pacientov, najmä ak sú dostupné bezpečnejšie alebo účinnejšie alternatívy. Pri určitých liekoch môžu byť súvisiace riziká zmiernené úpravou dávkovania podľa renálnych alebo hepatálnych funkcií alebo zvýšeným monitorovaním (napr. plazmatických koncentrácií liečiva, krvného tlaku alebo klinických príznakov). V mnohých prípadoch je však na optimalizáciu farmakoterapie a minimalizáciu poškodenia indikovaný deprescribing (znižovanie dávok až vysadenie lieku) alebo terapeutická substitúcia (2). Každý liek nesie určitý stupeň rizika, ktorý je u starších dospelých zosilnený. Fyziologické zmeny súvisiace s vekom, zmenená farmakokinetika a farmakodynamika, narušené homeostatické mechanizmy a znížená funkčná nezávislosť túto zraniteľnosť ďalej zvyšujú (3). V kombinácii s polypragmáziou, multimorbiditou a užívaním PIM môžu tieto zmeny vyústiť do nežiaducich liekových reakcií, kognitívneho poklesu, pádov a fraktúr, ortostatickej hypotenzie, zvýšeného rizika krvácania a v mnohých prípadoch k hospitalizácii. Pacienti nad 65 rokov sú hospitalizovaní pre nežiaduce účinky liekov častejšie než mladší pacienti, pričom užívanie PIM je bežným prispievajúcim faktorom (4). Prevalencia hospitalizácií súvisiacich s liekmi sa pohybuje od 1,3 % do 41,3 %. Lieky najčastejšie uvádzané ako príčiny hospitalizácie boli antitrombotiká, antiepileptiká, antihypertenzíva, analgetiká, antidiabetiká, antipsychotiká a antineoplastiká (5). Geriatrické syndrómy sú klinické stavy postihujúce prevažne starších dospelých, vyplývajúce z multifaktoriálnych procesov spojených so starnutím. Medzi primárne geriatrické syndrómy patrí krehkosť (frailty), pády, delírium, demencia, urinárna a fekálna inkontinencia, malnutrícia a úbytok hmotnosti, dekubity a poruchy mobility (6). PIM by sa starším dospelým nemali predpisovať, ak sú dostupné bezpečnejšie a účinnejšie alternatívy, alebo ak potenciálne riziká prevažujú nad klinickým prínosom (7).

Jedným z najúčinnejších prístupov k obmedzeniu predpisovania PIM u starších dospelých je hodnotenie farmakoterapie pomocou stanovených kritérií, databáz alebo zoznamov PIM. Medzinárodné kritériá na hodnotenie PIM, ako sú Beersove kritériá (2023), STOPP/START a európsky zoznam EU(7)-PIM, slúžia ako základné nástroje na identifikáciu liekov, ktorých prínos v geriatrickej populácii je sporný. Zoznam EU(7)-PIM bol vyvinutý v spolupráci siedmich európskych krajín a obsahuje viac ako 300 liekov spolu s odporúčaniami pre ich bezpečnejšie používanie u starších pacientov (2,8). Tieto nástroje pomáhajú lekárom a klinickým farmaceutom identifikovať rizikové lieky a znižovať ich prevalenciu v klinickej praxi. Napriek dostupnosti týchto kritérií zostáva prevalencia PIM vysoká. Globálne metaanalýzy naznačujú, že približne 36 – 38 % starších ambulantných pacientov užíva aspoň jeden potenciálne nevhodný liek. V Európe je prevalencia podobná, pričom miery v krajinách strednej a východnej Európy sa pohybujú v rozmedzí 30 – 40 % (7).

SÚBOR PACIENTOV A METÓDY

V Stredoslovenskom ústave srdcových a cievnych chorôb (SÚSCCH) existuje dlhoročná spolupráca medzi Oddelením angiológie a nemocničnou lekárňou. Klinickí farmaceuti poskytujú farmakoterapeutické konzultácie Oddeleniu angiológie ako súčasť štandardných služieb klinickej farmácie. Tieto služby zahŕňajú liekové kozultácie pri prijatí do nemocnice a odporúčania na optimalizáciu farmakologickej liečby pri prepustení. Táto štúdia hodnotí používanie potenciálne nevhodných liekov (PIMs) u hospitalizovaných starších pacientov. Etická komisia Stredoslovenského ústavu srdcových a cievnych chorôb projekt schválila a súhlasila s publikovaním získaných údajov.

Výber hospitalizovaných pacientov na analýzu a zaznamenávanie údajov.

Záznamy o farmakoterapii boli analyzované u pacientov vo veku > 65 rokov hospitalizovaných na Oddelení angiológie.

Kritériá inklúzie boli: a) vek > 65 rokov, b) užívanie ≥ 5 liekov pri prijatí, c) prítomnosť aspoň jedného potenciálne nevhodného lieku (PIM) pri prijatí.

Pacienti boli zo štúdie vylúčení, ak boli mladší ako 65 rokov, užívali menej ako päť liekov pri prijatí alebo nemali v terapii žiadne PIM.

Klinické údaje boli získané z elektronického nemocničného informačného systému (LOZIS) a zahŕňali: vek, pohlavie, dĺžku hospitalizácie, lekársku a liekovú anamnézu pri prijatí, komorbidity a rizikové faktory, hladinu sérového kreatinínu a predpísané lieky pri prepustení.

Zber údajov prebiehal počas trojmesačného obdobia (od 1. októbra do 31. decembra 2024) ako súčasť observačnej štúdie. Počas tohto času bolo hospitalizovaných 185 pacientov, z ktorých 70 absolvovalo farmakoterapeutickú konzultáciu. 50 pacientov splnilo kritériá inklúzie a bolo zaradených do analýzy.

Analýza preskripcie potenciálne nevhodných liečiv pre starších pacientov

Pre analýzu potenciálne nevhodných liečiv pre starších pacientov sme použili európsky EU(7)PIM zoznam potenciálne nevhodných liečiv vo vyššom veku a Databázu lékových interakcií DrugAgency.

Pri rekonciliácii celkovej farmakoterapie a získavanie podrobných informácií o konkrétnych liečivách sme používali platné súhrny charakteristických vlastností liekov zverejnených na stránke Štátneho ústavu pre kontrolu liečiv (www.sukl.sk), informačnú databázu UpToDate a Databázu lékových interakcií DrugAgency. Do analýzy boli zahrnuté všetky lieky zaznamenané v liekovej anamnéze pacientov pri prijatí aj pri prepustení. Z tohto súboru sme identifikovali liečivá považované za potenciálne nevhodné pre starších dospelých.

Identifikované PIM boli následne kategorizované podľa systému Anatomicko-terapeuticko-chemickej (ATC) klasifikácie. Z analýzy boli vylúčené voľnopredajné lieky, topické (kožné) prípravky a lieky podávané podľa potreby (p.p). Počet týchto liekov slúžil primárne na posúdenie účinnosti intervencií klinického farmaceuta (napr. odporúčania na ukončenie liečby, úpravu dávky, monitorovanie, zmenu alebo substitúciu terapie, prerušenie liečby alebo edukáciu pacienta). Akceptácia týchto odporúčaní lekármi bola kategorizovaná ako: akceptované, neakceptované alebo čiastočne akceptované. Čiastočná akceptácia sa týkala prípadov, kedy bol liek pri prepustení ponechaný napriek odporúčaniu farmaceuta na jeho vysadenie, pričom bolo pridané odporúčanie na ďalšiu konzultáciu so špecialistom.

VÝSLEDKY

Do analýzy bolo na základe vopred definovaných kritérií inklúzie zahrnutých celkovo päťdesiat pacientov, z toho 30 mužov (60 %) a 20 žien (40 %). Priemerný vek bol 73,96 ± 0,87 roka, v rozpätí od 65 do 87 rokov. Vo vybranej kohorte boli identifikovaní pacienti s polymorbiditou. Celkovo 58 % pacientov uviedlo fajčiarsku anamnézu.

Medzi najčastejšie rizikové faktory spojené s polypragmáziou patrila artériová hypertenzia a periférne artériové ochorenie (obe prítomné u 82 % pacientov), nasledované dyslipidémiou (54 %), diabetes mellitus (48 %) a ischemickou chorobou srdca (50 %). Ďalšími často uvádzanými ochoreniami boli fibrilácia predsiení (24 %), koronárna choroba srdca (22 %), srdcové zlyhávanie (22 %), ateroskleróza (20 %), ochorenie obličiek (20 %) a peptická vredová choroba (6 %). Okrem toho 74 % pacientov vykazovalo aj iné sprievodné ochorenia (komorbidity).

Priemerná dĺžka hospitalizácie bola 4,12 ± 0,17 dňa [min. 2, max. 8].

Celkový počet predpísaných liekov v sledovanej kohorte pacientov klesol z 594 pri prijatí na 475 pri prepustení. Tento priaznivý výsledok predstavuje 20 % zníženie, čo naznačuje účinnosť rekonciliácie vykonávanej klinickým farmaceutom na oddelení.

Celkový počet PIM identifikovaných v sledovanom súbore pri príjme bol 149 a pri prepustení 76, išlo o pokles o 48%.

Podiel potenciálne nevhodných liečiv podľa EU(7)-PIM zoznamu z celkového počtu potenciálne nevhodných liečiv pri prijatí (n = 101; 68 %) a pri prepustení (n= 45; 59 %), čo predstavuje pokles o 55 %.

Podiel potenciálne nevhodných liečiv podľa Databázy lékových interakcií DrugAgency z celkového počtu potenciálne nevhodných liečiv pri príjme (n= 48; 32 %) a pri prepustení (n = 31; 41 %). Najčastejšie zachytené potenciálne nevhodné liečivá podľa EU(7)-PIM boli zo skupiny C – kardiovaskulárny systém (n = 37; 36 %), N - centrálny nervový systém (n = 29; 29 %), A – tráviaci trakt a metabolizmus (n = 26; 26 %). Menej často boli predpisované potenciálne nevhodné liečivá podľa EU(7)-PIM zo skupiny M - muskuloskeletárny systém , R - respiračný systém a G - urogenitálny trakt a pohlavné hormóny.

Podľa Databázy lékových interakcií DrugAgency (iné zdroje) najčastejšie zachytené potenciálne nevhodné liečivá podľa zaradenia do ATC skupín boli liečivá zo skupiny C - kardiovaskulárny systém (n = 30; 60 %), N - nervový systém (n = 8; 17 %). Menej často boli predpísané PIM z ATC skupín A - tráviaci trakt (n = 3; 6 %), J - antiinfektíva na systémové použitie (n = 3; 6 %), G – urogenitálny trakt a pohlavné hormóny (n = 3; 6 %), M – muskuloskeletárny systém (n = 1; 2 %).

Medzi najčastejšie predpisovanými PIM pri prijatí aj prepustení bol najbežnejší pantoprazol (ATC skupina A), zaznamenaný u 24 pacientov pri prijatí a 8 pri prepustení. Druhým najčastejšie identifikovaným PIM bol naftidrofuryl (ATC skupina C), predpísaný 23 pacientom pri prijatí a 14 pri prepustení. Ostatné bežne identifikované PIM, ako aj údaje o znížení počtu PIM po rekonciliácií a konzultácii s lekármi, sú uvedené v tabuľke 1 a tabuľke 2.

Tabuľka 1: Identifikované PIM zaradené do ATC skupín pri príjme a prepustení podľa EU(7)-PIM zoznamu.

EU 7PIM				
ATC skupina	**Liečivá**	**Počet predpísaných liečiv pri prijatí (n)**	**Počet predpísaných liečiv pri prepustení (n)**	**Pokles v %**
A	pantoprazol	24	8	-67 %
	glimepirid	1	1	0 %
	metoklopramid	1	0	-100 %
C	spironolaktón	10	5	-50 %
	digoxín	6	4	-33 %
	doxazosín	6	4	-33 %
	trimetazidín	5	3	-40 %
	amiodarón	4	4	0 %
	rilmenidín	3	1	-67 %
	verapamil	2	2	0 %
	pentoxifylín	1	0	-100 %
G	solifenacín	1	1	0 %
M	diklofenak	4	0	-100 %
	ibuprofén	1	0	-100 %
	meloxikam	1	0	-100 %
N	alprazolam	8	7	-13 %
	tramadol	6	1	-83 %
	Ginko biloba	4	0	-100 %
	piracetam	4	0	-100 %
	zolpidem	2	0	-100 %
	bromazepam	1	1	0 %
	diazepam	1	0	-100 %
	karbamazepín	1	1	0 %
	paroxetín	1	1	0 %
	zopiklón	1	0	-100 %
R	teofylín	2	1	-50 %

Tabuľka 2: Identifikované PIM zaradené do ATC skupín pri príjme a prepustení podľa Databázy lékových interakcií DrugAgency.

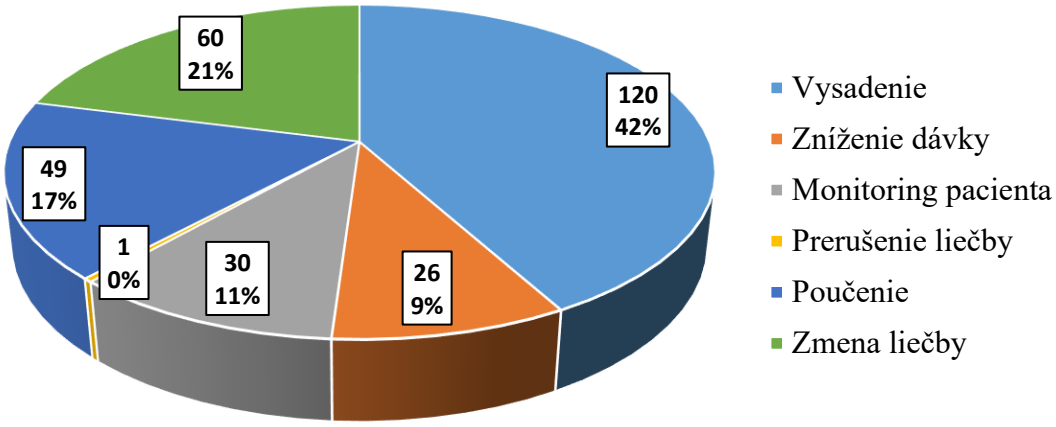
DrugAgency				
ATC skupina	**Liečivá**	**Pri prijatí**	**Pri prepustení**	**Pokles v %**
A	bisakodyl	1	0	-100%
	domperidón	1	0	-100%
	famotidín	1	0	-100%
C	naftidrofuryl	23	14	-39%
	moxonidín	3	2	-33%
	urapidil	2	2	0%
	ivabradín	1	1	0%
	propafenón	1	1	0%
G	silodozín	2	2	0%
	trospium	1	1	0%
J	ciprofloxacín	3	3	0%
M	kolchicín	1	1	0%
N	tiaprid	4	0	-100%
	oxazepam	2	2	0%
	fenytoín	1	1	0%
	chlorprotixén	1	1	0%

Významný pokles počtu liekov pri prepustení sme zaznamenali vo všetkých skupinách pacientov, nezávisle od ich komorbidít.

Pre každý PIM klinický farmaceut uviedol odôvodnenie jeho nevhodnosti, ktoré zahŕňalo nejasnú indikáciu, chýbajúcu terapeutickú účinnosť, nevhodné dávkovanie, nadmernú dĺžku liečby alebo zvýšené riziko nežiaducich účinkov a potenciálnych liekových interakcií.

Najčastejším dôvodom klasifikácie lieku ako nevhodného bolo riziko nežiaducich účinkov, čo predstavovalo 143 prípadov (46 %). Okrem toho bolo 65 liekov identifikovaných ako lieky s nejasnou indikáciou (21 %) a 55 (17 %) sa považovalo za nevhodné z dôvodu nadmernej dĺžky liečby.

Súčasťou intervencie klinického farmaceuta bol pri každom identifikovanom PIM aj návrh riešenia. V niektorých prípadoch bolo pre jeden PIM poskytnutých viacero odporúčaní, čo viedlo k celkovému počtu 286 návrhov intervencií pre 140 identifikovaných PIM. Najčastejšie odporúčania znázorňuje obrázok 1.



Obrázok 1: Najčastejšie návrhy(intervencie) k identifikovaným PIM v sledovanom súbore (n=286).

Zo 140 PIM identifikovaných pri prijatí bolo ošetrujúcimi lekármi akceptovaných 58 % navrhovaných úprav farmakoterapie. Intervencie boli v 21 % implementované len čiastočne a v 21 % neboli akceptované vôbec.
Zníženie celkového počtu liekov ako aj pokles užívania PIM preukázali veľkú silu účinku, čo naznačuje klinicky významné zlepšenie farmakoterapie medzi prijatím a prepustením.

DISKUSIA A ZÁVER

Užívanie potenciálne nevhodných liekov (PIMs) je spojené so zvýšeným rizikom hospitalizácií, poklesom fyzickej výkonnosti, zhoršením funkčného stavu a dokonca vyššou mortalitou u geriatrických pacientov (9). Viaceré štúdie naznačujú kumulatívny vzorec rizika, kde narastajúci počet PIM súvisí s progresívne vyššou pravdepodobnosťou nežiaducich účinkov liekov a rehospitalizácie. Tento vzťah medzi dávkou a odpoveďou bol preukázaný v kohortových štúdiách a metaanalýzach hodnotiacich záťaž PIM a súvisiace klinické výsledky (10).

Účinným prístupom k zníženiu počtu PIM je implementácia farmaceutických intervencií – systematických revízií liekov vykonávaných klinickým farmaceutom. V spolupráci s ošetrujúcim lekárom môže klinický farmaceut identifikovať vysoko rizikové lieky, odporučiť deprescribing (znižovanie dávok až vysadenie) alebo úpravu terapie, a tým zlepšiť klinické výsledky pacienta. Nedávne systematické prehľady potvrdzujú, že intervencie vedené farmaceutom vedú k významnému zníženiu užívania PIM a optimalizácii terapie, pričom prispievajú aj k zníženiu nákladov súvisiacich s liečbou (9).

Naším primárnym cieľom nebolo len kvantifikovať prevalenciu PIM, ale preskúmať pridanú klinickú hodnotu zapojenia klinického farmaceuta do rekonciliácie liekov. Zameraním sa na odporúčania iniciované farmaceutom sme sa snažili posúdiť mieru akceptácie týchto intervencií predpisujúcimi lekármi a ich účinnosť pri racionalizácii užívania PIM. Stanovenie miery akceptácie je kľúčové, pretože odráža interdisciplinárnu spoluprácu a uskutočniteľnosť implementácie stratégií optimalizácie vedených farmaceutom v bežnej praxi. Skúmali sme aj rozsah, v akom sa tieto intervencie premietli do merateľného zníženia počtu potenciálne nevhodných liekov v momente prepustenia do domácej starostlivosti. Tento výsledok je obzvlášť relevantný, pretože prechody v starostlivosti predstavujú kritické momenty, kedy sa môžu kumulovať riziká súvisiace s liekmi a cielené zapojenie farmaceuta môže priniesť podstatný klinický úžitok. V našej práci sme pri vyhodnotení a analýze PIM použili zoznam

EU(7)-PIM (2), pretože predstavuje komplexný a aktuálny nástroj na hodnotenie predpisovania PIM v Európe; niekoľko štúdií špecifických pre jednotlivé krajiny však preukázalo nižšiu špecifickosť tohto zoznamu na farmaceutických trhoch niektorých krajín (11). Z dôvodu, že EU(7)-PIM zoznam neobsahuje všetky registrované lieky na Slovenku, použili sme na hodnotenie potenciálne nevhodných liečiv u starších pacientov aj doplnkový zdroj - Databázu lékových interakcí DrugAgency. Databáza zahŕňa liečivá registrované v Českej a Slovenskej reublike a na základe medicíny založenej na dôkazoch upozorňuje na všetky ostatné potenciálne nevhodné liečivá pre starších pacientov, ktoré sú hodnotené podľa Beersových kritérií, STOPP/START kritérií a iných používaných zoznamov. Prevalencia PIM sa v štúdiách líši v dôsledku rozdielov v použitých nástrojoch (Beers, STOPP/START, EU(7)-PIM), prostrediach a populáciách. Globálna metaanalýza ambulantných údajov uvádza súhrnnú prevalenciu PIM približne 37 % s výraznou regionálnou heterogenitou, čo zdôrazňuje rozsah problému a kontextuálnu povahu kvality predpisovania (7). Nemocničné štúdie častejšie využívali Beersove kritériá; menej štúdií u hospitalizovaných pacientov explicitne prijalo zoznam EU(7)-PIM. Vo veľkej japonskej analýze v jednom centre Komagamine a kolegovia preukázali významné zníženie podielu pacientov s ≥1 PIM medzi prijatím a prepustením pri aplikácii Beersových kritérií z roku 2015 (12).

V tejto kohorte starších pacientov hospitalizovaných na angiologickom oddelení sme pozorovali podstatné zníženie celkovej liekovej záťaže aj potenciálne nevhodných liekov od prijatia po prepustenie. Priemerný počet liekov klesol z 12 na 10 liekov na pacienta (≈20 % zníženie), zatiaľ čo celkový počet PIM klesol zo 149 na 76. Jednou z definujúcich charakteristík našej populácie pacientov bola vysoká prevalencia multimorbidity a cievnych ochorení, pričom hypertenzia a periférne arteriálne ochorenie boli prítomné u väčšiny pacientov. Mnohé z liekov označených za nevhodné patrili hlavne do ATC tried kardiovaskulárneho systému, centrálneho nervového systému a gastrointestinálneho traktu. Podobné vzorce boli hlásené v európskych aj ázijských prostrediach, kde kardiovaskulárne lieky a lieky na CNS často dominujú v zoznamoch PIM kvôli ich komplexným rizikovým profilom, úzkym terapeutickým indexom alebo nepriaznivému pomeru prínosu a rizika u starších pacientoch (13).

Medzi jednotlivými liekmi bol v našej štúdii najčastejšie predpisovaným PIM pantoprazol, identifikovaný u 24 pacientov pri prijatí. Pozoruhodné je, že viac ako polovici týchto predpisov chýbala jasná indikácia založená na dôkazoch. Po posúdení farmaceutom kleslo užívanie pantoprazolu o 67 %, pričom pri prepustení dostávalo tento liek len osem pacientov, všetci s validovanými indikáciami. Toto zistenie je v súlade s globálnou literatúrou uvádzajúcou rozšírené nadmerné predpisovanie inhibítorov protónovej pumpy (PPI). Napríklad štúdia bodovej prevalencie, ktorú uskutočnili Chia a kol., zistila, že 54,1 % hospitalizovaných dospelých dostávalo PPI bez indikácie schválenej FDA, čo naznačuje, že problém je systémový v rámci celého zdravotníctva (14). Magalhães a kolegovia rovnako uviedli pantoprazol ako najčastejšie predpisovaný PIM u brazílskych hospitalizovaných starších dospelých, pričom väčšina dostávala PPI dlhšie ako osem týždňov, čo prekračuje odporúčania pre bezpečné užívanie (15).

Okrem identifikácie prevalencie PIM sa naša štúdia snažila pochopiť aj dôvody nevhodnosti a analyzovať vplyv odporúčaní vedených farmaceutom. Najčastejším dôvodom klasifikácie PIM bolo riziko nežiaducich účinkov (46 %), nasledované nejasnou indikáciou (21 %), predĺženou dĺžkou liečby (17 %), chýbajúcou terapeutickou účinnosťou (11 %) a nevhodným dávkovaním (5 %). Naše výsledky tiež naznačujú, že mnohé PIM pretrvávajú pri prechodoch v starostlivosti v dôsledku nedostatočného prehodnotenia (7). Na riešenie týchto problémov vydali farmaceuti v našej štúdii 286 odporúčaní pre 149 identifikovaných PIM. Ukončenie liečby bolo najčastejším odporúčaním (42 %), po ktorom nasledovala úprava terapie (21 %), edukácia pacienta (17 %), návrhy na monitorovanie (11 %) , zníženie dávky (9 %) a zriedkavé prerušenie liečby (0,4 %). Celková miera akceptácie 58 % je v dobrom súlade s

mierami z iných štúdií farmaceutických intervencií, ako napríklad prierezová štúdia Babaeiho, v ktorej lekári akceptovali 46 % odporúčaní farmaceutov, a Farhatova štúdia, ktorá uviedla mieru akceptácie 84 %. Tieto zistenia kolektívne naznačujú, že odporúčania farmaceutov sú v klinickej praxi dobre prijímané a môžu zmysluplne ovplyvniť rozhodnutia o predpisovaní (16,17).

Táto štúdia nie je bez obmedzení. Relatívne malá veľkosť vzorky limituje zovšeobecniteľnosť zistení. Krátka dĺžka hospitalizácie mohla tiež obmedziť pozorovateľný vplyv PIM na klinické výsledky. Napriek tomu sú rozsah a konzistentnosť našich zistení povzbudivé a naznačujú, že budúci výskum s väčšími a rozmanitejšími populáciami hospitalizovaných pacientov by mohol ďalej objasniť úlohu intervencií farmaceutov pri znižovaní poškodenia súvisiaceho s PIM.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Puig T, Leache L, González-Senac NM, et al. Prevalence of potentially inappropriate medications and prescription dynamics in elderly hospitalized patients in Spain. *BMC Geriatr*. 2024;24(1):798. doi:10.1186/s12877-024-05308-3
2. Renom-Guiteras A, Meyer G, Thürmann PA. The EU(7)-PIM list: a list of potentially inappropriate medications for older people consented by experts from seven European countries. *Eur J Clin Pharmacol*. 2015;71(7):861-875. doi:10.1007/s00228-015-1860-9
3. Charles L, Kumar E, Elghol E, Dobbs B, Tian PGJ, Babenko O. Potentially Inappropriate Medication Use in the Elderly. *Can J Aging Rev Can Vieil*. 2022;41(2):176-183. doi:10.1017/S0714980821000234
4. Ma W, Wang H, Wen Z, Liu L, Zhang X. Potentially inappropriate medication and frailty in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Arch Gerontol Geriatr*. 2023;114:105087. doi:10.1016/j.archger.2023.105087
5. Ayalew MB, Tegegn HG, Abdela OA. Drug Related Hospital Admissions; A Systematic Review of the Recent Literatures. *Bull Emerg Trauma*. 2019;7(4):339-346. doi:10.29252/beat-070401
6. Gómez-Ramos JJ, González-Guerra M, Dávalos-Rodríguez IP, Pérez-Ruíz ME, Peña-Durán E, Marín-Medina A. Geriatric Syndromes and Their Relationship with Mortality in a Population of Mexican Older Adults Aged 65 and Over, Admitted to the Emergency Department of a Second-Level Care Hospital. *Healthcare*. 2024;12(12):1166. doi:10.3390/healthcare12121166
7. Tian F, Chen Z, Zeng Y, Feng Q, Chen X. Prevalence of Use of Potentially Inappropriate Medications Among Older Adults Worldwide. *JAMA Netw Open*. 2023;6(8):e2326910. doi:10.1001/jamanetworkopen.2023.26910
8. Krüger C, Schäfer I, Van Den Bussche H, et al. Comparison of FORTA, PRISCUS and EU(7)-PIM lists on identifying potentially inappropriate medication and its impact on cognitive function in multimorbid elderly German people in primary care: a multicentre observational study. *BMJ Open*. 2021;11(9):e050344. doi:10.1136/bmjopen-2021-050344
9. Rodrigues DA, Plácido AI, Mateos-Campos R, Figueiras A, Herdeiro MT, Roque F. Effectiveness of Interventions to Reduce Potentially Inappropriate Medication in Older Patients: A Systematic Review. *Front Pharmacol*. 2022;12:777655. doi:10.3389/fphar.2021.777655
10. Muzzarelli I, Neumeier VI, Gagesch M, Rösler W, Burch AR. Association of potentially inappropriate medications with rehospitalisation and death within three months in older patients: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Pharm*. Published online September 25, 2025. doi:10.1007/s11096-025-02013-y

11. Fialová D, Brkić J, Laffon B, et al. Applicability of EU(7)-PIM criteria in cross-national studies in European countries. *Ther Adv Drug Saf*. 2019;10:2042098619854014. doi:10.1177/2042098619854014
12. Komagamine J. Prevalence of potentially inappropriate medications at admission and discharge among hospitalised elderly patients with acute medical illness at a single centre in Japan: a retrospective cross-sectional study. *BMJ Open*. 2018;8(7):e021152. doi:10.1136/bmjopen-2017-021152
13. Zhao J, Chae H, Ah YM, Jun K, Lee JY. Impact of post-admission changes in potentially inappropriate medication use on risk of subsequent hospitalization among nursing home residents. *Front Pharmacol*. 2025;16:1655681. doi:10.3389/fphar.2025.1655681
14. Chia CTW, Lim WP, Vu CKF. Inappropriate use of proton pump inhibitors in a local setting. *Singapore Med J*. 2014;55(7):363-366. doi:10.11622/smedj.2014087
15. Magalhães MS, dos Santos FS, Reis AMM. Factors associated with the use of potentially inappropriate medication by elderly patients prescribed at hospital discharge. *Einstein*. 18:eAO4877. doi:10.31744/einstein_journal/2020AO4877
16. Nader Babaei Y, Niazkhani Z, Makhdoomi K, Esmaeili A. Potentially inappropriate medication prescribing based on 2019 Beers criteria and the impact of pharmacist intervention in elderly patients with kidney diseases: A report from Iran. *Health Sci Rep*. 2024;7(3):e1894. doi:10.1002/hsr2.1894
17. Farhat A, Abou-Karroum R, Panchaud A, Csajka C, Al-Hajje A. Impact of Pharmaceutical Interventions in Hospitalized Patients: A Comparative Study Between Clinical Pharmacists and an Explicit Criteria-Based Tool. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2021;95:100650. doi:10.1016/j.curtheres.2021.100650

INTEGROVANÝ OPORTÚNNY SKRÍNING ATRIÁLNEJ FIBRILÁCIE A KOGNITÍVNEJ PORUCHY V PODMIENKACH VEREJNÝCH LEKÁRNÍ

INTEGRATED OPPORTUNISTIC SCREENING FOR ATRIAL FIBRILLATION AND COGNITIVE IMPAIRMENT IN COMMUNITY PHARMACIES

Stanko P.[1], Snopková M.[2], Fazekaš T.[3], Mačeková Z.[4], Klimas J.[1]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská Republika
[2]Katedra organizácie a riadenia farmácie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská Republika
[3]Katedra fyzikálnej chémie liečiv, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská Republika
[4] Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, Slovenská Republika

Abstrakt: Vo verejných lekárňach sa v súčasnosti udomácňuje poskytovanie rozšírených lekárenských služieb v oblasti podpory verejného zdravia. Atriálna fibrilácia (AF) je považovaná za významný rizikový faktor rozvoja kognitívneho poškodenia. Skúmali sme uskutočniteľnosť prepojenia starostlivosti o pacientov s AF a súčasne s kognitívnym zhoršením na úrovni lekárenských služieb. V podmienkach verejnej lekárne sme súčasne realizovali dva skríningy, t.j. okrem skríningu výskytu suspektnej AF (sAF) aj skríning poruchy kognitívnych funkcií u tých istých pacientov. Retrospektívne sme analyzovali záznamy meraní 109 návštevníkov Univerzitnej lekárne Farmaceutickej fakulty UK v Bratislave. Na meranie tlaku krvi bol použitý tlakomer Microlife A150 AFIB, ktorý umožňuje detegovať prítomnosť atriálnej fibrilácie. V prípade, ak u meranej osoby bola zachytená prítomnosť sAF, bola vykonaná aj krátka verzia Montrealského kognitívneho testu (sMoCA). Súčasťou vyšetrenia bolo aj stanovenie CAIDE (Cardiovascular Risk Factors, Aging and Dementia) skóre na identifikáciu rizika vzniku demencie vo väzbe na stúpajúci vek a zvyšovanie celkového kardiovaskulárneho rizika. Prítomnosť sAF sme zaznamenali u 4 osôb (3,67%). Všetky osoby so sAF mali znížené skóre sMoCA. Jedna osoba mala zvýšené CAIDE skóre. Naše výsledky dokumentujú uskutočniteľnosť realizácie súčasného skríningu AF a skríningu zhoršenia kognitívnych funkcií vo verejnej lekárni na Slovensku.

Abstract: Community pharmacies are currently becoming more established in providing expanded pharmacy services in the field of public health support. Atrial fibrillation (AF) is considered a significant risk factor for the development of cognitive impairment. We investigated the feasibility of joint care for patients with AF and cognitive impairment at the level of pharmacy services. In the conditions of a community pharmacy, we simultaneously performed two screenings, i.e. in addition to screening for the occurrence of suspected AF (sAF), we also performed screening for cognitive impairment in the same patients. We retrospectively analyzed the measurement records of 109 visitors to the University Pharmacy of the Faculty of Pharmacy, Comenius University Bratislava. The Microlife A150 AFIB blood pressure monitor was used to measure blood pressure, which allows the detection of the presence of atrial fibrillation. In the case where the presence of sAF was detected in the measured person, a short version of the Montreal Cognitive Assessment (sMoCA) was also performed. The examination also included the determination of the CAIDE (Cardiovascular Risk Factors, Aging and Dementia) score to identify the risk of dementia in relation to increasing age and increasing overall cardiovascular risk. We recorded the presence of sAF in 4 individuals (3.67%). All individuals with sAF had a reduced sMoCA score. One individual

had an increased CAIDE score. Our results document the feasibility of implementing simultaneous AF screening and cognitive impairment screening in a community pharmacy in Slovakia.

Kľúčové slová: skríning, atriálna fibrilácia, kognitívne poruchy, verejná lekáreň
Keywords: screening, atrial fibrillation, cognitive impairment, community pharmacy

ÚVOD

Okrem konvenčných poradenských služieb súvisiacich s farmakoterapiou (1) zohrávajú v súčasnosti verejné lekárne významnú úlohu pri poskytovaní intervencií v oblasti verejného zdravia vrátane rôznych programov skríningu civilizačných ochorení (2,3). Najmä starší ľudia s chronickými ochoreniami v mnohých krajinách navštevujú lekárne každé 1 až 3 mesiace, takže nová úloha verejných lekárnikov pre podporu verejného zdravia je veľmi dôležitá. Vďaka ich ľahkej dostupnosti pre pacientov v miestnych komunitách umožňujú veľmi efektívny dosah na celú populáciu vrátane tých, ktorí sú zdanlivo zdraví (4). Zber a vedecké hodnotenie meraní v rámci skríningov a kampaní na zvyšovanie povedomia však často chýba, aj keď môžu obsahovať dôležité informácie o dotknutej populácii (5).

V predchádzajúcich prácach sme predstavili výsledky meraní kognitívneho zdravia v podmienkach verejných lekární (1,6-8) ako aj protokol pre tento typ výskumu (9). Kognitívne funkcie sme sledovali v súvislosti s prítomnosťou metabolického syndrómu a zistili sme, že prítomnosť metabolického syndrómu prispieva k zhoršeniu kognitívnych funkcií pacientov (6). Pokles kognitívnych funkcií súvisí najviac s prítomnosťou diabetu mellitus, hypertenzie a obezity, avšak nie dyslipidémie (7), pričom u seniorov vo veku nad 75 rokov je súvis medzi kognitívnym zhoršením a metabolickým syndrómom výrazný (8). Kognitívne hodnotenie v lekárňach teda môže byť dôležitým nástrojom na identifikáciu rizikových skupín pacientov, najmä seniorov, ktorí by mohli mať prospech zo špecifického prístupu a skríningových postupov v rámci farmaceutickej starostlivosti.

V nedávnej práci (5) sme predstavili možnosti lekárnika v identifikácii osôb s podozrením na atriálnu fibriláciu (AF). Toto ochorenie je už desaťročia známe ako najčastejšie diagnostikovaná s vekom súvisiaca pretrvávajúca srdcová arytmia v klinickej praxi (10) s vážnymi dôsledkami (11,12), ktorej incidencia aj prevalencia rastie (13,14). Údaje zo Slovenska sú relatívne vzácne, ale naznačujú, že 1,95 % slovenskej populácie má prítomnú AF (15). Podľa globálnych dát z roku 2021 patrí Slovensko medzi 15 krajín sveta s najhoršími výsledkami, pokiaľ ide o následky AF (16). Tieto zistenia zdôrazňujú dôležitosť komplexných, pre krajinu špecifických stratégií skríningu asymptomatickej AF u vysoko rizikových populácií a následnej účinnej včasnej liečby AF so zameraním na tromboprofylaxiu (15). My sme retrospektívnou analýzou údajov z celonárodnej osvetovej kampane „Od srdca k srdcu“ spojenej s oportúnnym skríningom suspektnej atriálnej fibrilácie (sAF) dokumentovali silný súvis sAF s vysokým tlakom krvi (TK) a pulzovým tlakom (PT), užívaním antikoagulancií a antihypertenzív a abnormálnou pokojovou srdcovou frekvenciou (PSF), čiže údajmi bežne získanými v rámci poskytovanie farmaceutickej starostlivosti (5).

AF môže viesť ku kognitívnemu poškodeniu alebo demencii v dôsledku klinicky zjavnej a/alebo tichej cievnej mozgovej príhody. Môže však byť zapojených aj niekoľko dráh, ktoré sú nezávislé od cievnej mozgovej príhody (17,18), vrátane systémového zápalu pozorovaného u pacientov s AF, či chronickej hypoperfúzie mozgu (19) a vedľajších účinkov liekov vyskytujúcich sa u pacientov s AF (20). Problematika prepojenia starostlivosti o pacientov s AF a súčasne s kognitívnym zhoršením na úrovni lekárenských služieb v súčasnosti nie je preskúmaná. V tejto štúdii sme sa zamerali na skúmanie uskutočniteľnosti realizovať dva

skríningy v rámci jednej lekárenskej konzultácie, t.j. okrem skríningu výskytu sAF aj skríning poruchy kognitívnych funkcií u suspektných pacientov.

SÚBOR PACIENTOV A METÓDY

V období rokov 2025 a 2026 prebiehala v nadväznosti na naše nedávno publikované štúdie (1,5) štúdia uskutočniteľnosti integrovaného skríningového testovania včasného odhalenia kognitívnych porúch u osôb, u ktorých bola zachytená prítomnosť sAF v rámci poskytovania rozšírenej lekárenskej služby. Retrospektívne spracovanie a analýza dát boli schválené etickou komisiou Farmaceutickej fakulty UK v Bratislave (Stanovisko EK FaF UK č. 01/2024 a (Stanovisko EK FaF UK č. 08/2025). V pilotnej fáze sme analyzovali záznamy meraní 109 návštevníkov Univerzitnej lekárne Farmaceutickej fakulty UK v Bratislave. Realizácia vyšetrení prebiehala v rámci poskytovania lekárenskej starostlivosti v súlade so Zákonom 362/2011 Z.z. o liekoch a zdravotníckych pomôckach a v súlade so Štandardným postupom pre výkon prevencie kardiovaskulárnych ochorení v podmienkach verejných lekární vydanom Ministerstvom zdravotníctva Slovenskej republiky v roku 2022. V lekárňach zapojených do skríningu bol na meranie použitý konkrétny typ meracieho prístroja, ktorým je digitálny tlakomer Microlife A150 AFIB, ktorý na meranie tlaku využíva technológiu *Microlife Average Mode* (MAM). Patentovaná technológia MAM spoločnosti Microlife vykonáva tri automatizované sekvenčné (po sebe opakujúce sa) merania v každom cykle v súlade so všeobecnými zásadami a technikami merania tlaku krvi (21). Aby sa dosiahol čo najpresnejší výsledok, namerané hodnoty sú analyzované, a následne sa zobrazuje výsledná priemerná hodnota tlaku krvi. Tlakomer Microlife A150 AFIB je zároveň vybavený technológiou *AFIBsens*, ktorá umožňuje detegovať prítomnosť atriálnej fibrilácie u meranej osoby. Technológia *AFIBsens* deteguje AF s vysokou presnosťou (senzitivita 98 %, špecificita 92 %), ako sa preukázalo v porovnávacích štúdiách s EKG prístrojmi (22,23).

V prípade, ak u vyšetrovanej osoby bola zachytená prítomnosť sAF, bola po písomnom súhlase tejto osoby vykonaná aj krátka verzia Montrealského kognitívneho testu (*short version of Montreal Cognitive Assessment*; sMoCA; 9) zameraného na hodnotenie krátkodobej pamäte, vizuálno-priestorových schopností, exekutívnych funkcií, orientácie, pozornosti a koncentrácie (Obrázok 1). Za zlatý štandard medzi skríningovými nástrojmi pre kognitívne funkcie je MoCA, ale pre potreby rýchleho skríningu v podmienkach verejných lekární používame jeho skrátený variant sMoCA v slovenskom jazyku. Ten predstavuje porovnateľnú alternatívu na včasnú detekciu mierneho kognitívneho zhoršenia a demencie a je použiteľný ako súčasť farmaceutickej starostlivosti o dospelých pacientov vo veku 50 rokov a starších s kardiovaskulárnym ochorením a/alebo podozrením na metabolický syndróm (9). Táto skrátená forma stupnice MoCA má rozsah 0 – 16 bodov; čas dokončenia je 5 – 7 minút (čo je len jedna tretina dĺžky pôvodnej stupnice MoCA) a hraničná hodnota ≤ 12 predstavuje kognitívnu poruchu (24).

Súčasťou krátkeho posúdenia kognitívnej výkonnosti pacientov so sAF použitím sMoCA testu bolo aj zisťovanie alebo meranie rizikových faktorov kardiovaskulárnych ochorení a širšia revízia liekovej anamnézy. Výstupom z konzultačného vyšetrenia bolo okrem zistenia sMoCA skóre aj stanovenie tzv. CAIDE (*Cardiovascular Risk Factors, Aging and Dementia*) skóre (1; Obrázok 2), ktoré popisuje riziko vzniku demencie vo väzbe na stúpajúci vek a zvyšovanie celkového kardiovaskulárneho rizika (25). Tento validovaný nástroj dopĺňajúci sMoCA je relatívne jednoduchý a dokáže predpovedať riziko vzniku demencie u pacienta v priebehu nasledujúcich 20 rokov.

Po ukončení zberu dát z meraní boli výsledky a odpovede na otázky z dotazníkov štatisticky spracovávané a vyhodnocované pomocou systému centrálneho zaznamenávania meraní a pomocou tabuľkového procesora MS Excel. Zo získaných záznamov sme analyzovali

základné demografické faktory (vek a pohlavie meranej osoby), prítomnosť aktívneho alebo pasívneho fajčenia (áno/nie), a ďalej všetky namerané hodnoty: systolický a diastolický tlak krvi (sTK a dTK), pokojová srdcová frekvencia (PSF), prítomnosť alebo neprítomnosť atriálnej fibrilácie (áno/nie) oznámením ikonou „AFIB“ na zariadení počas sekvenčného trojmerania (t.j. prítomnosť sAF).

Kontinuálne a kategorické parametre krvného tlaku (sTK a dTK) boli hodnotené retrospektívne. Pulzový tlak (PT) bol definovaný ako rozdiel medzi jednotlivými hodnotami sTK a dTK. Systolický TK bol kategorizovaný ako normálny, resp. kontrolovaný pre hodnoty <140 mmHg a vysoký pre hodnoty ≥140 mmHg (26). Diastolický TK bol považovaný za normálny, resp. kontrolovaný pre hodnoty <90 mmHg a vysoký pre hodnoty ≥90 mmHg. Kategórie PT boli definované ako normálne pre hodnoty <55 mm Hg, zvýšené pre hodnoty 55–62 mmHg a vysoké pre hodnoty ≥63 mmHg. PSF bola klasifikovaná ako nízka pri výsledku <60 ú$^{-1}$, normálna pre hodnoty medzi 60–99 ú$^{-1}$ a vysoká pri výsledku ≥100 ú$^{-1}$. Parametre ako vek, hodnoty krvného tlaku a srdcová frekvencia sú vo výsledkoch uvedené ako priemery s 95% intervalmi spoľahlivosti (95 % CI) alebo ako mediány s interkvartilným rozpätím (IQR).

Vzhľadom na zameranie na populáciu s kardiovaskulárnym rizikom, v rámci skríningu sa zaznamenávali, a potom vyhodnocovali informácie o užívanej farmakoterapii s ohľadom na kardiovaskulárne ochorenia. Konkrétne bolo zisťované u meraných osôb, či na základe predchádzajúcej diagnostiky a na základe predpísania lekárom užívajú lieky na vysoký krvný tlak (antihypertenzíva; AH), resp. lieky ovplyvňujúce zrážanie krvi (antikoagulanciá; AKo).

VÝSLEDKY

Kohorta účastníkov štúdie pozostávala zo 109 dospelých osôb, z toho bolo 20 mužov a 89 žien, pričom 27 osôb (25%) bolo vo veku 65 a viac rokov. Medzi účastníkmi bolo 20 fajčiarov. V rámci rozhovoru 37 osôb uviedlo, že sa lieči na hypertenziu, 3 z nich užívali zároveň aj AKo. Pri meraní malo 37 osôb zistený zvýšený tlak 140+ sTK a/alebo 90+ dTK. Z tejto skupiny 11 užívali AH. V celej kohorte ukázala Spearmanova korelačná analýza trend inverzného vzťahu skóre MoCA s pulzným tlakom, avšak vzhľadom na malú veľkosť vzorky sa nedosiahla štatistická významnosť.

Nález sAF bol zaznamenaný u 4 osôb z daného súboru (3,67 %; Tabuľka 1), pričom jedna osoba bola vo veku 38 rokov a tri osoby boli z vekovej kategórie 65 a viac rokov. Zo štyroch osôb, u ktorých bola zachytená sAF, jedna osoba uviedla fajčenie, tri osoby udávali, že užívajú antihypertenzíva predpisované lekárom, žiadna z nich neužívala AKo. U dvoch osôb so sAF bola zaznamenaná vysoká hodnota sTK aj dTK, u jednej vyšší PT, u dvoch vysoká PSF.

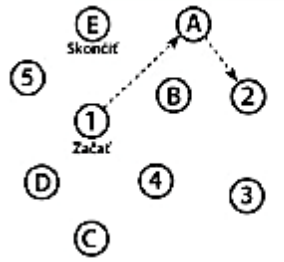
IV. Montreálsky test MoCA – krátka verzia

PAMÄŤ

Prečítajte zoznam slov, ktoré má vyšetrovaná osoba (ďalej VO) zopakovať. Urobte dva pokusy, aj keď bol prvý pokus úspešný. K tejto úlohe sa vráťte asi po piatich minútach.

	TVÁR	HODVÁB	KOSTOL	SEDMOKRÁSKA	ČERVENÁ	Žiadne body
1.POKUS						
2.POKUS						

VIZUÁLNO-PRIESTOROVÉ SCHOPNOSTI EXEKUTÍVNE FUNKCIE



☐

Nakreslite HODINY desať minút po jedenástej (3 body)

☐ obrysy
☐ čísla
☐ ručičky

..... / 4

POZORNOSŤ

Sériové odpočítavanie po 7, začínajúc číslom 100. ☐93 ☐86 ☐79 ☐72 ☐65

4 - 5 správnych odpočítaní: **3 body**, 2 - 3 správne: **2 body**, 1 správne: **1 bod**, 0 správne: **0 bodov**

..... / 3

ABSTRAKCIA

Podobnosť medzi napr. banánom a pomarančom – ovocie ☐ hodinky – pravítko ..... / 1

JAZYK

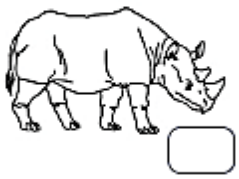
Verbálna plynulosť: Vymenujte za jednu minútu čo najviac slov, ktoré sa začínajú na písmeno „K"

☐ ..... (N≥11slov) ..... / 1

ORIENTÁCIA

☐ Miesto ..... / 1

POMENOVANIE ZVIERAT



☐

..... / 1

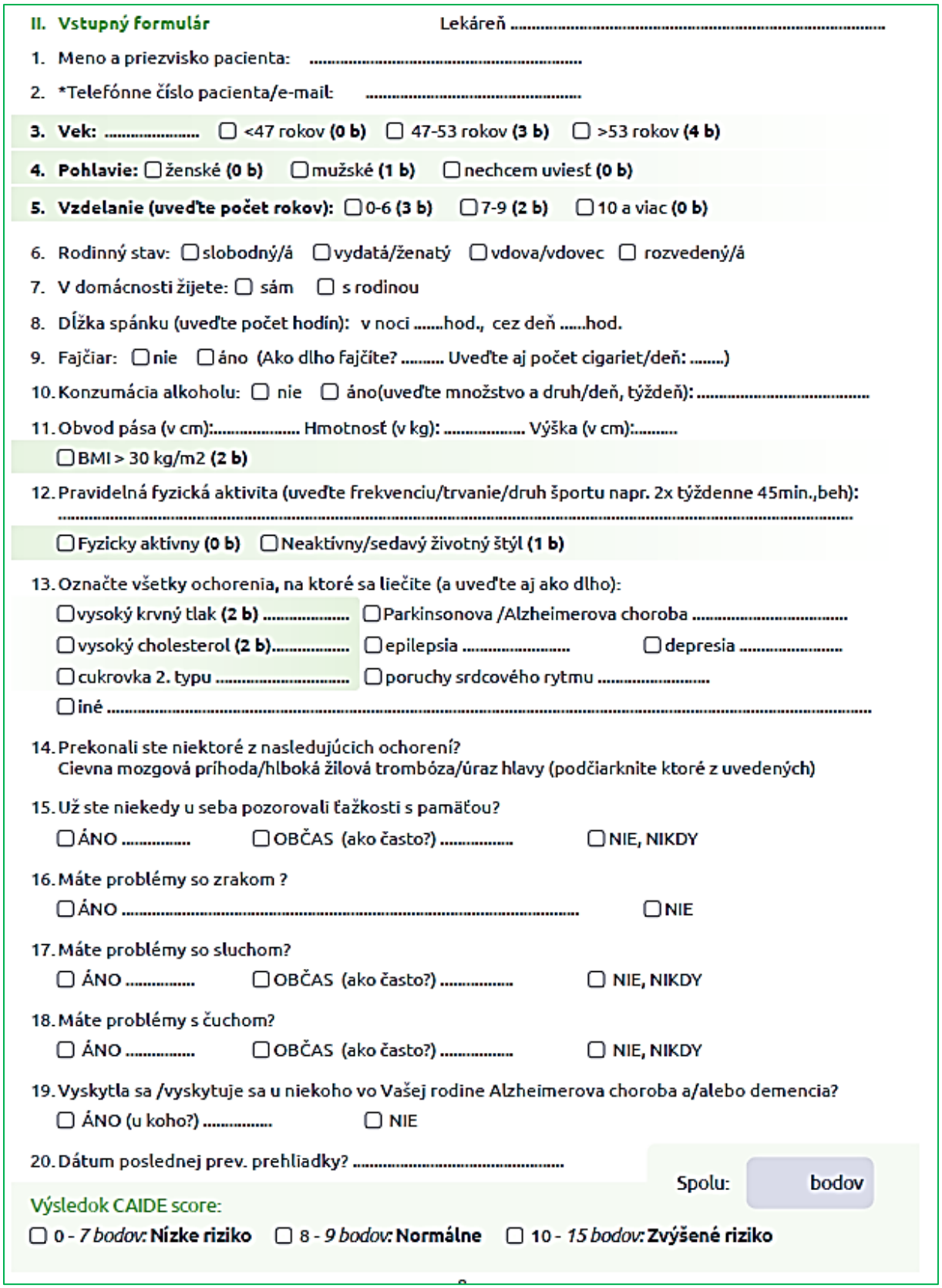
ONESKORENÉ VYBAVOVANIE SLOV

VO si musí spomenúť na slová BEZ NÁPOVEDÍ.

		TVÁR☐	HODVÁB ☐	KOSTOL ☐	SEDMOKRÁSKA☐	ČERVENÁ☐	Body len za slová BEZ NÁPOVEDÍ ..... / 5
NEPOVINNÉ	Nápoveď: kategória						
	Nápoveď: výber z možností						

Celkom sMoCA..... / 16

Obrázok 1: Ukážka zo skríningového formulára na realizáciu testu sMoCA používaného farmaceutmi pri poskytovaní poradenstva zameraného na kognitívne zdravie.



II. Vstupný formulár Lekáreň .....

1. Meno a priezvisko pacienta: .....
2. *Telefónne číslo pacienta/e-mail: .....
3. **Vek:** ..... ☐ <47 rokov **(0 b)** ☐ 47-53 rokov **(3 b)** ☐ >53 rokov **(4 b)**
4. **Pohlavie:** ☐ ženské **(0 b)** ☐ mužské **(1 b)** ☐ nechcem uviesť **(0 b)**
5. **Vzdelanie (uveďte počet rokov):** ☐ 0-6 **(3 b)** ☐ 7-9 **(2 b)** ☐ 10 a viac **(0 b)**
6. Rodinný stav: ☐ slobodný/á ☐ vydatá/ženatý ☐ vdova/vdovec ☐ rozvedený/á
7. V domácnosti žijete: ☐ sám ☐ s rodinou
8. Dĺžka spánku (uveďte počet hodín): v noci .....hod., cez deň .....hod.
9. Fajčiar: ☐ nie ☐ áno (Ako dlho fajčíte? ..... Uveďte aj počet cigariet/deň: .....)
10. Konzumácia alkoholu: ☐ nie ☐ áno(uveďte množstvo a druh/deň, týždeň): .....
11. Obvod pása (v cm):..... Hmotnosť (v kg): ..... Výška (v cm):.....
    ☐ BMI > 30 kg/m2 **(2 b)**
12. Pravidelná fyzická aktivita (uveďte frekvenciu/trvanie/druh športu napr. 2x týždenne 45min.,beh):
    .....
    ☐ Fyzicky aktívny **(0 b)** ☐ Neaktívny/sedavý životný štýl **(1 b)**
13. Označte všetky ochorenia, na ktoré sa liečite (a uveďte aj ako dlho):
    ☐ vysoký krvný tlak **(2 b)** ..... ☐ Parkinsonova /Alzheimerova choroba .....
    ☐ vysoký cholesterol **(2 b)**..... ☐ epilepsia ..... ☐ depresia .....
    ☐ cukrovka 2. typu ..... ☐ poruchy srdcového rytmu .....
    ☐ iné .....
14. Prekonali ste niektoré z nasledujúcich ochorení?
    Cievna mozgová príhoda/hlboká žilová trombóza/úraz hlavy (podčiarknite ktoré z uvedených)
15. Už ste niekedy u seba pozorovali ťažkosti s pamäťou?
    ☐ ÁNO ..... ☐ OBČAS (ako často?) ..... ☐ NIE, NIKDY
16. Máte problémy so zrakom ?
    ☐ ÁNO ..... ☐ NIE
17. Máte problémy so sluchom?
    ☐ ÁNO ..... ☐ OBČAS (ako často?) ..... ☐ NIE, NIKDY
18. Máte problémy s čuchom?
    ☐ ÁNO ..... ☐ OBČAS (ako často?) ..... ☐ NIE, NIKDY
19. Vyskytla sa /vyskytuje sa u niekoho vo Vašej rodine Alzheimerova choroba a/alebo demencia?
    ☐ ÁNO (u koho?) ..... ☐ NIE
20. Dátum poslednej prev. prehliadky? .....

Spolu: bodov

Výsledok CAIDE score:

☐ 0 - *7 bodov:* **Nízke riziko** ☐ 8 - *9 bodov:* **Normálne** ☐ 10 - *15 bodov:* **Zvýšené riziko**

Obrázok 2: Ukážka zo skríningového formulára na hodnotenie CAIDE skóre používaného farmaceutmi pri poskytovaní poradenstva zameraného na kognitívne zdravie.

Výsledky testu sMOCA, stanovenia CAIDE a vyšetrení realizované lekárnikom v rámci vyšetrení uvádza Tabuľka 2. Všetky osoby so sAF mali znížené skóre sMoCA. Jedna osoba mala zvýšené CAIDE skóre (t.j. hodnotu 10+ bodov).

Tabuľka 1: Základná charakteristika zachytených osôb so sAF. sAF – suspektná atriálna fibrilácia, AH – užívanie antihypertenzív, AKo – užívanie antikoagulancií, sTK a dTK – systolický a diastolický tlak krvi, PSF – pokojová srdcová frekvencia.

Označenie	Pohlavie	Vek	Fajčenie	AH	AKo	sTK (mmHg)	dTK (mmHg)	PT (mmHg)	PSF ($ú^{-1}$)
sAF1	Ž	66	N	A	N	146	98	48	63
sAF2	Ž	71	N	A	N	136	74	62	71
sAF3	Ž	77	A	A	N	105	68	37	108
sAF4	Ž	38	N	N	N	162	108	54	103

Tabuľka 2. Výsledky hodnotenia testu sMoCA, stanovenia CAIDE skóre a výsledky vyšetrení realizovaných vo verejnej lekárni u subjektov, u ktorých bola identifikovaná sAF. sAF – suspektná atriálna fibrilácia, TV – telesná výška, TH – telesná hmotnosť, BMI – body mass index, OP – obvod pása, Chol – cholesterol, TG – triglyceridy, Glu – glukóza.

Označenie	TV (cm)	TH (kg)	BMI (kg/m^2)	OP (cm)	Chol (mmol/l)	TG (mmol/l)	Glu (mmol/l)	CAIDE skóre (body)	sMoCA skóre (body)
sAF1	178	95	29,8	108	5,8	2,16	5,4	8	3
sAF2	164	53	19,7	76	5,1	1,63	4,8	9	5
sAF3	159	68	26,9	77	6,0	2,57	5,6	10	9
sAF4	166	62	22,5	81	4,6	0,94	4,2	1	8

DISKUSIA A ZÁVER

Hlavným výsledkom tejto štúdie je, že súčasná realizácia skríningu sAF a skríningu kognitívneho poškodenia je možná vo verejnej lekárni. Nevyhnutnou podmienkou je zaškolenie odborného zamestnanca vykonávajúceho oba skríningy.

Termín „suspektná atriálna fibrilácia“ používame v našich prácach na zdôraznenie skutočnosti, že kombinácia oscilometrickej metódy so špecifickým algoritmom na detekciu AF použitá aj v tejto aj predchádzajúcej štúdii (5) má len indikatívny charakter, a aj aby sme sa vyhli neprimeranej interpretácii pri hodnotení našich zistení. Napriek tomu, že sa jednalo o malú vzorku účastníkov, identifikovali sme mieru výskytu sAF na úrovni 3,7 %. Tento výskyt je v súlade s našim predošlým nálezom výskytu u inej, väčšej kohorty v rámci národnej osvetovej kampane realizovanej v rokoch 2017-2020 (4103 subjektov, 3,8 % výskyt sAF; 5).

V aktuálnej práci sme zaznamenali 30 % (11 z 37) pacientov s predpísanými antihypertenzívami, ktorí pri návšteve lekárne nemali dobre kontrolovaný tlak krvi, čo naznačuje veľké nedostatky v kontrole tlaku krvi v populácii hypertonikov na Slovensku. Napriek desaťročiam výskumu, jasným prínosom antihypertenzív a existujúcim podrobným usmerneniam (27) zostáva záťaž vysokého krvného tlaku vážnym problémom verejného

zdravia, najmä vo východoeurópskych krajinách (28) vrátane Slovenska (29). Naše výsledky sú porovnateľné s výsledkami podobného výskumu realizovaného vo Fakultnej lekárni Farmaceutickej fakulty UK v Bratislave publikovanom pred takmer štvrťstoročím (30). Toto, bohužiaľ, naznačuje, že napriek uplynutiu relatívne dlhého obdobia, a už aj existencii štandardných postupov pre starostlivosť o hypertenzných pacientov vo verejných lekárňach (31), je ešte potrebné vynaložiť veľa úsilia aby nastalo výrazné zlepšenie vo výsledkoch starostlivosti o hypertenzných pacientov na Slovensku.

Všetci pacienti so sAF v našom súbore vykázali zhoršenie skóre sMoCA. Toto pozorovanie je v súlade s publikovanými údajmi o vzťahu AF a kognitívneho poškodenia a demencie (32,33). Vo vedeckej literatúre sa objavujú úvahy, že integrovaná liečba AF, ktorá zohľadňuje posúdenie kognitívnych funkcií, môže znížiť riziko demencie (34). Potenciálna ochranná úloha možností liečby AF pri udržiavaní kognitívnych funkcií však nie je dobre preukázaná, pretože dostupné údaje pochádzajú iba z populačných observačných štúdií (34). Vzhľadom na absenciu špecifických odporúčaní v usmerneniach Európskej kardiologickej spoločnosti môže byť nedostatočné povedomie o vplyve AF na kognitívne funkcie medzi zdravotníkmi, resp. ich pacientmi, kľúčovou prekážkou riešenia tejto problematiky v klinickej praxi. Je potrebné zapojenie pacienta, jeho rodiny/opatrovateľa (opatrovateľov) a praktického lekára, ale aj farmaceuta, čo podporujú aj naše zistenia.

Naša práca naznačuje uskutočniteľnosť implementácie integrovaného skríningu suspektnej atriálnej fibrilácie a kognitívneho poškodenia v podmienkach verejných lekární na Slovensku. Verejný lekárnik môže súčasnou realizáciou oboch skríningov navzájom súvisiacich ochorení intenzifikovať prínos rozšírenej lekárenskej služby pre pacienta. V budúcnosti bude potrebné preskúmať racionálnosť a efektívnosť poskytovaných služieb, aby sa zabránilo preťaženiu lekárskej starostlivosti po neodôvodnených odporúčaniach lekárnikov pre návštevu lekára z dôvodu falošne pozitívnych nálezov u zdravých osôb.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Macekova Z, Hudakova N, Fazekas T, Snopkova M, Dragasek J, Zufkova V, Klimas J. Risk of Mild Cognitive Impairment and Its Relation to Anticholinergics Revealed Within Screening in a Community Pharmacy. Bratisl Med J. 2026; 127:301–10.
2. Mumbi A, Mugo P, Barasa E, Abiiro GA, Nzinga J. Factors influencing the uptake of public health interventions delivery by community pharmacists: A systematic review of global evidence. PLoS One. 2024 Aug 1;19(8):e0298713.
3. Macekova Z, Krivosova M, Viola R, Zufkova V, Klimas J, Snopkova M. Advanced pharmaceutical services in community pharmacies. Pharm Pract (Granada). 2025 Mar 26;23(1):1–17.
4. Cunha S, Antunes E, Antoniou S, Tiago S, Relvas R, Fernandez-Llimós F, Alves da Costa F. Raising awareness and early detection of atrial fibrillation, an experience resorting to mobile technology centred on informed individuals. Res Social Adm Pharm. 2020;16(6):787-92.
5. Stanko P, Macekova Z, Zufkova V, Snopkova M, Klimas J, Fazekas T. Blood pressure monitors in screening of atrial fibrillation by community pharmacists: data from a nationwide awareness campaign. Bratisl Med J. 2026;127:3023-3033.
6. Mačeková Z, Krivošová M, Fazekaš T, Snopková M, Klimas J. Short cognitive screening in elderlies as a part of advanced pharmaceutical care in Slovak community pharmacies - The pilot study KOGNIMET-SK. Eur Pharm J. 2022;69(1):37-42.
7. Macekova Z, Fazekas T, Stanko P, Vyhnalek M, Dragasek J, Krivosova M, Krenek P, Snopkova M, Klimas J. Cognitive Screening within Advanced Pharmaceutical Care in Elderly Patients with Suspected Metabolic Syndrome. Int J Gerontol. 2022;16:355-360.

8. Macekova Z, Fazekas T, Krivosova M, Dragasek J, Zufkova V, Klimas J, Snopkova M. Identification of a Link between Suspected Metabolic Syndrome and Cognitive Impairment within Pharmaceutical Care in Adults over 75 Years of Age. Healthcare. 2023 Jan;11(5):718.
9. Macekova Z, Krivosova M, Hudakova N, Dragasek J, Hajduk M, Zufkova V, Klimas J, Snopkova M. Study protocol for identification of patients with risk of cognitive impairment in advanced pharmaceutical care in a community pharmacy. Front Public Health. 2025;13:1606381.
10. Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, McNamara PM. Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study. N Engl J Med. 1982;306(17):1018-22.
11. Wolf PA, Dawber TR, Thomas HE Jr, Kannel WB. Epidemiologic assessment of chronic atrial fibrillation and risk of stroke: the Framingham study. Neurology. 1978;28(10):973-7.
12. Fabritz L, Hatem SN, Sossalla S. Arrhythmia-induced cardiomyopathy: focus on atrial fibrillation. Nat Rev Cardiol. 2026;23(3):197-207.
13. Krijthe BP, Kunst A, Benjamin EJ, Lip GY, Franco OH, Hofman A, Witteman JC, Stricker BH, Heeringa J. Projections on the number of individuals with atrial fibrillation in the European Union, from 2000 to 2060. Eur Heart J. 2013;34(35):2746-51.
14. Chugh SS, Havmoeller R, Narayanan K, Singh D, Rienstra M, Benjamin EJ, Gillum RF, Kim YH, McAnulty JH Jr, Zheng ZJ, Forouzanfar MH, Naghavi M, Mensah GA, Ezzati M, Murray CJ. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study. Circulation. 2014;129(8):837-47.
15. Babela R, Baráková A, Hatala R. Epidemiology and comprehensive economic impact of atrial fibrillation and associated stroke in Slovakia. BMC Health Serv Res. 2024;24(1):637.
16. Wang JL, Li YL, Shi SB, Yang B. The global burden of atrial fibrillation and atrial flutter in older adults (≥ 65 years): trends, disparities, and drivers (1990-2021). BMC Cardiovasc Disord. 2025;25(1):823.
17. Dagres N, Chao TF, Fenelon G, Aguinaga L, Benhayon D, Benjamin EJ, Bunch TJ, Chen LY, Chen SA, Darrieux F, de Paola A, Fauchier L, Goette A, Kalman J, Kalra L, Kim YH, Lane DA, Lip GYH, Lubitz SA, Márquez MF, Potpara T, Pozzer DL, Ruskin JN, Savelieva I, Teo WS, Tse HF, Verma A, Zhang S, Chung MK. European Heart Rhythm Association (EHRA)/Heart Rhythm Society (HRS)/Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS)/Latin American Heart Rhythm Society (LAHRS) expert consensus on arrhythmias and cognitive function: what is the best practice? Heart Rhythm. 2018 Jun;15(6):e37-e60.
18. Dietzel J, Haeusler KG, Endres M. Does atrial fibrillation cause cognitive decline and dementia? Europace. 2018 Mar 1;20(3):408-419.
19. Gardarsdottir M, Sigurdsson S, Aspelund T, Gardarsdottir VA, Forsberg L, Gudnason V, Arnar DO. Improved brain perfusion after electrical cardioversion of atrial fibrillation. Europace. 2020 Apr 1;22(4):530-537.
20. Kim D, Yang PS, Yu HT, Kim TH, Jang E, Sung JH, Pak HN, Lee MY, Lee MH, Lip GYH, Joung B. Risk of dementia in stroke-free patients diagnosed with atrial fibrillation: data from a population-based cohort. Eur Heart J. 2019 Jul 21;40(28):2313-2323.
21. Waszyk-Nowaczyk M, Jasińska-Stroschein M, Dymek J, Drozd M, Sierpniowska O, Stankiewicz A, Jędra A, Banach M, Gierlotka M, Jankowski P, Windak A, Osadnik T, Tomasik T, Wolf J, Guzenda W, Stryczyński Ł, Jóźwiak J. The Critical Role of Community Pharmacists in Blood Pressure Monitoring. Med Sci Monit. 2024 Aug 15;30:e944657.
22. Chan PH, Wong CK, Pun L, Wong YF, Wong MM, Chu DW, Siu CW. Head-to-Head Comparison of the AliveCor Heart Monitor and Microlife WatchBP Office AFIB for Atrial Fibrillation Screening in a Primary Care Setting. Circulation. 2017 Jan 3;135(1):110-112.

23. Chan PH, Wong CK, Pun L, Wong YF, Wong MM, Chu DW, Siu CW. Diagnostic performance of an automatic blood pressure measurement device, Microlife WatchBP Home A, for atrial fibrillation screening in a real-world primary care setting. BMJ Open. 2017 Jun 15;7(6):e013685.
24. Roalf DR, Moore TM, Wolk DA, Arnold SE, Mechanic-Hamilton D, Rick J, Kabadi S, Ruparel K, Chen-Plotkin AS, Chahine LM, Dahodwala NA, Duda JE, Weintraub DA, Moberg PJ. Defining and validating a short form Montreal Cognitive Assessment (s-MoCA) for use in neurodegenerative disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2016 Dec;87(12):1303-1310.
25. Sindi S, Calov E, Fokkens J, Ngandu T, Soininen H, Tuomilehto J, Kivipelto M. The CAIDE Dementia Risk Score App: The development of an evidence-based mobile application to predict the risk of dementia. Alzheimers Dement (Amst). 2015 Jul 2;1(3):328-333.
26. Strbova J, Kmecova J, Klimas J. Elevated pulse pressure in treated hypertensive patients during 24-hour ambulatory blood pressure monitoring. Bratisl Lek Listy. 2011;112(10):562-567.
27. McEvoy JW, McCarthy CP, Bruno RM, Brouwers S, Canavan MD, Ceconi C, Christodorescu RM, Daskalopoulou SS, Ferro CJ, Gerdts E, Hanssen H, Harris J, Lauder L, McManus RJ, Molloy GJ, Rahimi K, Regitz-Zagrosek V, Rossi GP, Sandset EC, Scheenaerts B, Staessen JA, Uchmanowicz I, Volterrani M, Touyz RM; ESC Scientific Document Group. 2024 ESC Guidelines for the management of elevated blood pressure and hypertension. Eur Heart J. 2024 Oct 7;45(38):3912-4018.
28. Waszyk-Nowaczyk M, Guzenda W, Plewka B, Michalak M, Cerbin-Koczorowska M, Stryczyński Ł, Byliniak M, Ratka A. Screening Services in a Community Pharmacy in Poznan (Poland) to Increase Early Detection of Hypertension. J Clin Med. 2020 Aug 8;9(8):2572.
29. WHO. Global report on hypertension 2025: high stakes – turning evidence into action. Geneva: World Health Organization; 2025. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. ISBN: 978-92-4-011556-9. https://www.who.int/publications/i/item/9789240115569. Prístupné 12. júla 2026.
30. Matejka P, Zborovjanová E, Motešická M, Švec P, Seginko J. Analysis of effectiveness and structure of blood-pressure lowering treatment at public pharmacy [Analýza účinnosti antihypertenzívnej liečby a jej zloženia v podmienkach verejnej lekárne]. Farmaceuticky Obzor. 2002;71 (5-6): 118 – 125.
31. Matejka P, Jeník P, Snopková M, Sukeľ O, Farský Š, Jauschová A. Štandardný postup pre výkon prevencie kardiovaskulárnych ochorení v podmienkach verejných lekární. Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky. 2022. https://www.health.gov.sk/Zdroje?/Sources/dokumenty/SDTP/standardy/Prevencia/5-standardny-postup-pre-vykon-prevencie-KVO-v-podmienkach-verejnych-lekarni_GK-OK.pdf. Prístupné 12. júla 2026.
32. Malavasi VL, Zoccali C, Brandi MC, Micali G, Vitolo M, Imberti JF, Mussi C, Schnabel RB, Freedman B, Boriani G. Cognitive impairment in patients with atrial fibrillation: Implications for outcome in a cohort study. Int J Cardiol. 2021 Jan 15;323:83-89.
33. Rivard L, Friberg L, Conen D, Healey JS, Berge T, Boriani G, Brandes A, Calkins H, Camm AJ, Yee Chen L, Lluis Clua Espuny J, Collins R, Connolly S, Dagres N, Elkind MSV, Engdahl J, Field TS, Gersh BJ, Glotzer TV, Hankey GJ, Harbison JA, Haeusler KG, Hills MT, Johnson LSB, Joung B, Khairy P, Kirchhof P, Krieger D, Lip GYH, Løchen ML, Madhavan M, Mairesse GH, Montaner J, Ntaios G, Quinn TJ, Rienstra M, Rosenqvist M, Sandhu RK, Smyth B, Schnabel RB, Stavrakis S, Themistoclakis S, Van Gelder IC, Wang

JG, Freedman B. Atrial Fibrillation and Dementia: A Report From the AF-SCREEN International Collaboration. Circulation. 2022 Feb;145(5):392-409.
34. Schnabel RB, Marinelli EA, Arbelo E, Boriani G, Boveda S, Buckley CM, Camm AJ, Casadei B, Chua W, Dagres N, de Melis M, Desteghe L, Diederichsen SZ, Duncker D, Eckardt L, Eisert C, Engler D, Fabritz L, Freedman B, Gillet L, Goette A, Guasch E, Svendsen JH, Hatem SN, Haeusler KG, Healey JS, Heidbuchel H, Hindricks G, Hobbs FDR, Hübner T, Kotecha D, Krekler M, Leclercq C, Lewalter T, Lin H, Linz D, Lip GYH, Løchen ML, Lucassen W, Malaczynska-Rajpold K, Massberg S, Merino JL, Meyer R, Mont L, Myers MC, Neubeck L, Niiranen T, Oeff M, Oldgren J, Potpara TS, Psaroudakis G, Pürerfellner H, Ravens U, Rienstra M, Rivard L, Scherr D, Schotten U, Shah D, Sinner MF, Smolnik R, Steinbeck G, Steven D, Svennberg E, Thomas D, True Hills M, van Gelder IC, Vardar B, Palà E, Wakili R, Wegscheider K, Wieloch M, Willems S, Witt H, Ziegler A, Daniel Zink M, Kirchhof P. Early diagnosis and better rhythm management to improve outcomes in patients with atrial fibrillation: the 8th AFNET/EHRA consensus conference. Europace. 2023 Feb 8;25(1):6-27.

POLYFARMÁCIA AKO KĽÚČOVÝ DETERMINANT RIZIKA LIEKOVÝCH INTERAKCIÍ

POLYPHARMACY AS A KEY DETERMINANT OF THE RISK OF DRUG–DRUG INTERACTIONS

Sukeľ O[1,5], Suchopár J[2], Snopková M[3,5], Mačeková Z[4], Klimas J[1,5]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika
[2]DrugAgency, a. s., Praha, Česká republika
[3]Katedra organizácie a riadenia farmácie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika
[4]Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, Slovenská republika
[5]Slovenská lekárnická komora, Bratislava, Slovenská republika

Abstrakt: Polyfarmácia je významný determinant rizika liekových interakcií (DDI), ktoré sú preventabilným zdrojom nežiaducich účinkov a hospitalizácií. Cieľom práce bolo odhadnúť výskyt a klinický význam DDI, zhodnotiť ich vzťah k počtu užívaných liekov a veku a posúdiť ich implikácie pre farmaceutickú starostlivosť.
Analyzovali sme údaje zo 17 470 záznamov získaných prostredníctvom aplikácie interakcieliekov.sk v období august 2024 – júl 2025. Hodnotený bol počet užívaných liekov, výskyt a závažnosť DDI a ich vzťah k veku a rozsahu farmakoterapie. Interakcie boli klasifikované na škále DDI-0 až DDI-10.
Priemerný počet užívaných liekov bol 3,23 (medián 2) a rástol s vekom ($r = 0,30$; $p < 0,001$). Medzi počtom liekov a počtom DDI bol zistený silný pozitívny vzťah (Spearman $\rho = 0,710$; $p < 0,001$), pričom každý ďalší liek bol spojený s nárastom o 0,85 interakcie. Vplyv veku na počet DDI nebol štatisticky významný.
Najčastejšie boli stredne závažné interakcie (25,82 % záznamov), nasledované málo závažnými (17,16 %) a významnými interakciami (16,24 %). Závažné interakcie a kontraindikácie boli prítomné u viac než 9 % záznamov. Liekové interakcie vykazovali opakujúce sa vzorce, koncentrované najmä v skupinách kardiovaskulárnych liečiv, analgetík a psychofarmák.
Výsledky potvrdzujú, že počet liekov je dominantným determinantom interakčného rizika, zatiaľ čo samotný vek má po jeho zohľadnení limitovaný význam. Identifikované vzorce výskytu interakcií umožňujú cielený prístup k manažmentu DDI a môžu prispieť k rozvoju farmaceutom vedených intervencií.

Summary: Polypharmacy is a significant determinant of the risk of drug–drug interactions (DDIs), which are a preventable source of adverse effects and hospitalizations. The aim of this study was to estimate the occurrence and clinical significance of DDIs, to assess their relationship with the number of medications and age, and to evaluate their implications for pharmaceutical care.
Data from 17,470 records obtained via the interakcieliekov.sk application between August 2024 and July 2025 were analyzed. The number of medications, the occurrence and severity of DDIs, and their association with age and treatment complexity were evaluated. Interactions were classified on a scale from DDI-0 to DDI-10.
The mean number of medications was 3.23 (median 2) and increased with age ($r = 0.30$; $p < 0.001$). A strong positive correlation was observed between the number of medications and the number of DDIs (Spearman $\rho = 0.710$; $p < 0,001$), with each additional drug associated with an increase of 0.85 interactions. Age had no statistically significant effect on the number of DDIs.

Moderate interactions were the most frequent (25.82% of records), followed by low-significance (17.16%) and clinically significant interactions (16.24%). Severe interactions and contraindicated combinations were present in more than 9% of records. DDIs showed recurring patterns, predominantly involving cardiovascular drugs, analgesics, and psychotropic medications.
The results confirm that the number of medications is the dominant determinant of interaction risk, while age has only a limited effect after accounting for polypharmacy. Identified patterns of drug–drug interactions support a targeted approach to DDI management and may contribute to the development of pharmacist-led interventions.

Kľúčové slová: polyfarmácia; liekové interakcie; farmaceutická starostlivosť; medication review; bezpečnosť liečby
Keywords: polypharmacy; drug–drug interactions; pharmaceutical care; medication review; medication safety

ÚVOD

Intervencie farmaceutov predstavujú odborné, na pacienta orientované aktivity presahujúce rámec výdaja liekov, zamerané na optimalizáciu farmakoterapie a zlepšenie zdravotných výsledkov pacienta. V medzinárodnom kontexte sú označované ako rozšírené farmaceutické služby (extended pharmacy services, EPS), ktoré zahŕňajú napríklad revíziu medikácie, manažment liekových interakcií (drug–drug interactions, DDI) či edukáciu pacientov (1). Tieto aktivity sú súčasťou konceptu pharmaceutical care, ktorý zdôrazňuje zodpovednosť farmaceuta za výsledky liečby (2,3). Dôkazy z metaanalýz poukazujú na ich klinický aj ekonomický prínos, vrátane zníženia hospitalizácií a nákladov zdravotných systémov (4).

Manažment DDI predstavuje jednu z významnejších a zároveň merateľných oblastí EPS. Liekové interakcie sú preventabilným zdrojom nežiaducich účinkov a hospitalizácií, pričom farmaceuti disponujú kompetenciami potrebnými na ich identifikáciu a riešenie (5). Význam tejto problematiky narastá v súvislosti so starnutím populácie a polypragmáziou, ktorá sa vyskytuje u 35–50 % pacientov nad 65 rokov, pričom významná časť z nich je vystavená riziku klinicky relevantných DDI (6).

Napriek dostupnosti elektronických nástrojov, v Slovenskej republike absentuje štandardizovaný postup rutinného a systematického hodnotenia DDI v každodennej praxi. Cieľom práce je odhadnúť výskyt a klinický význam DDI v populácii v kontexte možných intervencií farmaceutov v rámci farmaceutickej starostlivosti.

SÚBOR PACIENTOV A METÓDY

Práca má charakter observačnej analýzy údajov o farmakoterapii získaných prostredníctvom verejne dostupnej internetovej aplikácie *interakcieliekov.sk*, ktorá umožňuje zadanie užívaných liekov a automatickú identifikáciu potenciálnych DDI a terapeutických duplicít.

Analyzované boli údaje zadané v období od 1. augusta 2024 do 31. júla 2025. Hodnotený súbor pozostával zo 17 470 záznamov z toho 10 109 žien (57,86 %). Sledované premenné zahŕňali počet užívaných liekov, počet identifikovaných potenciálnych DDI, ich klinickú závažnosť a vzťah medzi počtom liekov, výskytom interakcií a vekom respondenta.
Respondenti boli rozdelení do siedmich vekových kategórií (0–17, 18–44, 45–64, 65–74, 75–84, 85–94 a ≥95 rokov). Toto rozdelenie bolo zvolené v súlade s odporúčaniami WHO pre vekovú štandardizáciu s cieľom zachytiť rozdiely v charaktere farmakoterapie a miere polyfarmácie v jednotlivých obdobiach života (7). V hodnotenom súbore boli najpočetnejšie

vekové skupiny 18–44 (32,85 %) a 45–64 rokov (31,29 %); zastúpenie vo vyšších vekových kategóriách postupne klesalo.

Identifikácia potenciálnych DDI bola realizovaná pomocou databázy liekových interakcií spoločnosti DrugAgency a. s., klasifikovanej ako zdravotnícka pomôcka triedy I, doplnenej o údaje z literatúry. Klinický význam interakcií bol hodnotený pomocou ordinálnej škály vyjadrujúcej závažnosť od nezávažných (DDI-0), menej významných interakcií (DDI-1 – DDI-3) až po závažné, resp. kontraindikované kombinácie (DDI-4 – DDI-6) a terapeutické duplicity (DDI-7 – DDI-10) (Tabuľka 1).

Tabuľka 1: Charakteristika stupňov liekových interakcií.

Stupeň DDI	Charakteristika
DDI-1 Nezávažná	Interakcia o < 25 % zvyšuje alebo znižuje plochu pod krivkou (AUC) alebo maximálnu koncentráciu liečiva (Cmax); $p < 0,05$
DDI-2 Málo závažná	Interakcia vedie k menej ako 50 % zvýšeniu AUC alebo Cmax; $p < 0,01$
DDI-3 Stredne závažná	Interakcia vyvoláva 25-99 % zvýšenie AUC alebo Cmax; $0,01 < p < 0,05$
DDI-4 Významná	Interakcia vedie k >100 % nárast AUC a/alebo Cmax; $p < 0,01$
DDI-5 Závažná	Interakcia vedie k život ohrozujúcim zmenám farmakokinetických parametrov, ktoré vyžadujú okamžitú lekársku intervenciu.
DDI-6 Kontraindikácia	Podľa údajov v Súhrne charakteristických vlastností (SmPC) je súčasné užívanie hodnotených liekov kontraindikované.
DDI-7 Duplicita A	Zhodné ATC, potrebné individuálne zhodnotenie rizika, keďže môže ísť napr. o fixnú kombináciu
DDI-8 Duplicita B	Neúčelné súčasné podanie
DDI-9 Duplicita C	Neúčelné a potenciálne rizikové súčasné podanie
DDI-10 Duplicita D	Nevhodné súčasné podanie s rizikom toxicity liečiva

Údaje boli spracované pomocou MS Office 365 (Excel, Power Query), SOFA Statistics, 1.5.4 a Jamovi 2.6.44. Na popis dát boli použité metódy deskriptívnej štatistiky. Podiely konkrétnych interakcií boli počítané na úrovni výskytov (event-based), nezávisle od počtu pacientov. Výskyt konkrétnej DDI kombinácie liečiv sme uviedli ako percentuálny podiel jej výskytu na celkovom počte výskytov zodpovedajúceho stupňa (DDI-0 až DDI-10) v analyzovanom súbore (pre jednotlivé stupne označený ako *n)*; počet analyzovaných záznamov je označený ako N.

Vzhľadom na charakter údajov, najmä diskrétny charakter počtov, asymetrické rozdelenie a prítomnosť extrémnych hodnôt, boli údaje o počte potenciálnych liekových interakcií prezentované ako medián a interkvartilové rozpätie (IQR, 25.–75. percentil), čo umožňuje zachytiť centrálnu tendenciu aj variabilitu údajov bez neprimeraného ovplyvnenia extrémnymi hodnotami.

Rozdiely v počte užívaných liekov medzi vekovými skupinami, ako aj rozdiely v počte potenciálnych liekových interakcií medzi kategóriami polyfarmácie, boli analyzované pomocou Kruskal–Wallisovho neparametrického testu s následnými post-hoc párovými porovnaniami. Na účely analýzy polyfarmácie boli pacienti rozdelení do kategórií 1–4, 5–9, 10–14 a ≥15 súbežne užívaných liekov (6). Vzťah medzi počtom súbežne užívaných liekov a počtom potenciálnych liekových interakcií alebo terapeutických duplicít bol analyzovaný pomocou Spearmanovho korelačného koeficientu. Za štatisticky významné boli považované hodnoty $p < 0,05$.

VÝSLEDKY

V záznamoch sme celkovo identifikovali 3 241 rôznych liekov podľa ŠÚKL kódu a celkovo 961 liečiv na úrovni 5. stupňa ATC klasifikácie. Priemerný počet liekov na jeden záznam mal hodnotu 3,23 ± 2,36, medián bol 2.

Počet užívaných liekov vykazoval s rastúcim vekom stúpajúci trend ($r = 0,30$; $p < 0,001$). Kruskal–Wallisov test potvrdil štatisticky významné rozdiely medzi vekovými skupinami $(\chi^2(6) = 567;\ p < 0,001;\ \varepsilon^2 = 0,0325)$. Následné post-hoc porovnania preukázali významné rozdiely najmä medzi mladšími a staršími vekovými kategóriami, zatiaľ čo medzi skupinami vo veku ≥ 65 rokov sa ďalší štatisticky významný nárast počtu liekov už nepotvrdil (Tabuľka 2).

Tabuľka 2: Porovnanie počtu užívaných liekov medzi vekovými skupinami.

Veková skupina	N	Počet liekov (AVG ± SD)	Významnosť rozdielov s vekovými skupinami
0 – 17	964	2,33 ± 1,19	***(45-64; 65-74; 75-84; 85-94) , * (95 a viac)
18 – 44	5739	2,59 ± 1,44	***(45-64; 65-74; 75-84; 85-94)
45 – 64	5466	3,09 ± 2,13	***(0-17; 18-44; 65-74; 75-84) **(85-94)
65 – 74	3382	3,89 ± 2,72	***(0-17; 18-44; 45-64)
75 – 84	1500	4,87 ± 3,52	***(0-17; 18-44; 45-64)
85 – 94	377	4,86 ± 3,59	***(0-17; 18-44) **(45-64)
95 – viac	42	5,55 ± 3,40	*(0-17)

*Post-hoc porovnania po Kruskal–Wallisovom teste: * p<0,05; ** p<0,01; *** p < 0,001*

Štruktúru farmakoterapie v hodnotenom súbore sme porovnali s údajmi o spotrebe liekov v Slovenskej republike v roku 2024 (8) a zistili sme významnú lineárnu koreláciu v zastúpení jednotlivých ATC skupín ($r = 0,819$; $p < 0,001$). Analyzovaný súbor tak odráža štruktúru farmakoterapie v populácii. Najčastejšie zastúpenými liečivami boli antitrombotiká (21,71 % hodnotených záznamov), nesteroidové antiflogistiká (NSAID, 21,43%), psychoanaleptiká (19,84 %), liečivá ovplyvňujúce renín-angiotenzínový systém (18,61 %), betablokátory (17,02 %), analgetiká (16,99 %), psycholeptiká (15,84 %). a systémové antibiotiká (13,57 %). Podiely ostatných ATC skupín boli menšie ako 10 %.

Medzi počtom súbežne užívaných liekov a počtom identifikovaných potenciálnych DDI bol zistený silný pozitívny vzťah (Spearman $\rho = 0,710$; $p < 0,001$). Každý ďalší liek bol spojený v priemere s nárastom o 0,85 interakcie. Medián počtu potenciálnych liekových interakcií narastal so stupňom polyfarmácie – od 0 interakcií pri užívaní 1 – 4 liekov až po 13,5 interakcie pri ≥ 15 liekoch (Tabuľka 3). Rozdiely medzi jednotlivými kategóriami polyfarmácie boli štatisticky vysoko významné $(\chi^2(3) = 6219;\ p < 0,001;\ \varepsilon^2 = 0,356)$, pričom post-hoc

analýza potvrdila významné rozdiely medzi všetkými skupinami (všetky $p < 0,001$). Vplyv veku na množstvo DDI nebol štatisticky významný.

Tabuľka 3: Výskyt potenciálnych liekových interakcií podľa stupňa polyfarmácie.

Rozsah polyfarmácie	N	Medián DDI (IQR)
1 – 4 lieky	13 934	0 (1,0)
5 – 9 liekov	3 011	3 (3,0)
10 – 14 liekov	471	8 (6,0)
≥ 15 liekov	54	13,5 (5,5)

Najpočetnejšie v hodnotenom súbore boli stredne závažné liekové interakcie (DDI-3), ktoré sa vyskytli u 25,82 % záznamov, nasledované málo závažnými interakciami (DDI-2, 17,16 %) a významnými interakciami (DDI-4, 16,24 %). Nezávažné interakcie (DDI-1) a preukázane bezpečné kombinácie (DDI-0) sa vyskytli u 9,38 % resp. 9,20 % záznamov a 47,76 % záznamov nemalo pre zadané kombinácie liečiv hodnotenie v použitej databáze liekových interakcií. Závažné interakcie (DDI-5) boli prítomné u 6,93 % záznamov a kontraindikované kombinácie (DDI-6) u 2,18 % záznamov. Aspoň jeden typ terapeutickej duplicity bol identifikovaný u 10,96 % záznamov.

Kombinácie stupňa DDI-0 až DDI-3, reprezentujúce preukázateľne bezpečné resp. nezávažne interagujúce kombinácie a nízko až stredne významné liekové interakcie, vykazovali široké spektrum zapojených liečiv naprieč viacerými terapeutickými skupinami, dominovali najmä antihypertenzíva, antiagregačná liečba, analgetiká a psychofarmaká (Tabuľka 4). V DDI-1 kombináciách dominovala kyselina acetylsalicylová (ASA, 33,95 % kombinácií), v DDI-2 perindopril (15,29 %) a v DDI-3 paracetamol (10,09 %). Významné zastúpenie mali KVS liečivá (perindopril, atorvastatín, metoprolol, furosemid, amlodipín a klopidogrel).

Tabuľka 4: Najčastejšie kombinácie liečiv v kategóriách DDI-0 až DDI-3.

Stupeň DDI	n	Liečivo 1	Liečivo 2	Výskyt (%n)
DDI-0	2176	Pantoprazol	Rivaroxabán	10,11 %
DDI-1	2118	ASA	Perindopril	12,98 %
DDI-2	5185	Amlodipín	Atorvastatín	4,71 %
DDI-3	8349	Ibuprofén	Paracetamol	4,0 1%

V kombináciách DDI-4 až DDI-6 (

Tabuľka 5), dominovali liečivá ovplyvňujúce centrálny nervový systém (CNS), hemostázu a KVS. V skupine DDI-4 to boli kombinácie antiarytmík (amiodarón, propafenón) a centrálne pôsobiacich antihypertenzív (rilmenidín) s betablokátormi (9,96 %), kombinácie antitrombotík (warfarín, priame orálne antikoagulanciá (DOAC), klopidogrel) s NSAID (6,64 %) a kombinácie analgetík (tramadol, fentanyl, oxykodón) s anxiolytikami a antidepresívami, (6,26 %).

Zo závažných liekových interakcií (DDI-5), predstavovali 37,80 % kombinácie s rizikom predĺženia QT intervalu (kombinácie antidepresív, antipsychotík, antiarytmík, makrolidových a fluorochinolónových antibiotík), 12 % kombinácie s rizikom porúch hemostázy (vzájomné interakcie ASA, klopidogrelu, DOAC resp. s NSAID, a SSRI).

Kombinácie typu DDI-5 spojené s ovplyvnením metabolizmu liečiv, najmä v dôsledku inhibície CYP3A4 klaritromycínom a itrakonazolom a indukcie karbamazepínom, predstavovali približne 17,18 % všetkých zaznamenaných DDI-5 kombinácií.

Kontraindikácie (DDI-6) boli najčastejšie zastúpené kombináciami warfarínu s DOAC (12,14 %), domperidónu s liečivami spojenými s rizikom predĺženia QT intervalu (približne 11,78 %) a klaritromycínu so substrátmi CYP3A4 (približne 14,49 %).

Tabuľka 5: Najčastejšie kombinácie liečiv v kategóriách DDI-4 až DDI-6.

Stupeň DDI	n	Liečivo 1	Liečivo 2	Výskyt (%n)
DDI-4	3930	Amiodarón	Metoprolol	2,92 %
DDI-5	1508	Escitalopram	Trazodón	9,23 %
DDI-6	387	Domperidón	Escitalopram	8,38 %

Duplicitám dominovali liečivá KVS, analgetiká a liečivá ovplyvňujúce CNS (Tabuľka 6). V kategórii DDI-7 bol najčastejší výskyt paracetamolu (16,05 %, vrátane fixných kombinácií) a uhličitanu vápenatého (9,91 %), nasledovaných diklofenakom (5,32 %) a alprazolamom (4,67 %). Okrem paralelného podávania identických liečiv sa v tejto kategórii uplatňovali aj kombinácie liekov s rôznymi dávkami rovnakého liečiva (diklofenak, ibuprofén). Kategória DDI-8 bola charakterizovaná kombináciami ACEi najmä perindoprilu (29,52 %) a jeho fixných kombinácií.

V kategórii DDI-9 sme zaznamenali najmä benzodiazepíny, predovšetkým bromazepam (37,50 %) a alprazolam (32,14 %). Typickým príkladom boli kombinácie dvoch benzodiazepínov. V kategórii DDI-10 jednoznačne dominovali nesteroidové antiflogistiká, najmä diklofenak (62,20 % a 12,20 % vo fixných kombináciách) a ibuprofén (47,53 %), nasledované nimesulidom (22,81 %) a naproxénom (14,83 %).

Tabuľka 6: Najčastejšie kombinácie liečiv v kategóriách DDI-7 až DDI-10

Stupeň DDI	n	Liečivo 1	Liečivo 2	Výskyt (%n)
DDI-7	1221	Paracetamol	Paracetamol	13,87 %
DDI-8	371	Nitrendipín	Amlodipín	7,61 %
DDI-9	224	Bromazepam	Alprazolam	26,44 %
DDI-10	627	Diklofenak	Ibuprofén	24,09 %

DISKUSIA A ZÁVER

Polyfarmácia je predpokladom zvýšeného rizika vzniku liekových interakcií. Naše výsledky ukazujú, že počet liekov je dominantným determinantom interakčného rizika, pričom vplyv veku je po zohľadnení počtu liekov minimálny. Tento trend je v súlade s publikovanými údajmi, ktoré poukazujú na exponenciálny nárast rizika liekových interakcií so zvyšujúcim sa počtom liekov nielen u starších pacientov (9, 10).

Analyzovaný súbor zahŕňa pacientov naprieč širokým vekovým spektrom. Hoci prevalencia multimorbidity výrazne stúpa s vekom, jej výskyt badať už v strednom veku a nie je limitovaný výlučne na staršie vekové skupiny. Súčasné populačné štúdie ukazujú, že absolútny počet

polymorbídnych pacientov môže byť vyšší v mladších vekových kategóriách ako u seniorov (11).
Progresívny nárast počtu interakcií s každým ďalším liekom naznačuje, že riziko nie je len aditívne, ale v kontexte komplexnosti liečby nadobúda kumulatívny charakter. Významným zistením je aj narastajúca variabilita počtu interakcií pri vyššom počte liekov, čo poukazuje na heterogenitu pacientov v skupinách s pokročilou polyfarmáciou. Samotný počet liekov nie je jediným determinantom rizika a klinický význam interakcií je ovplyvnený aj konkrétnou kombináciou liečiv, komorbiditami a individuálnymi charakteristikami pacienta, čo zvyšuje nároky na individuálne posudzovanie rizika a klinický úsudok.
Analýza najčastejších kombinácií liečiv ukázala, že liekové interakcie nevznikajú náhodne, ale majú opakujúce sa vzorce, vyplývajúce z charakteru farmakoterapie polymorbidných pacientov. Sú viazané na bežne používané liečivá, ako sú analgetiká, KVS lieky či psychofarmaká. Tento poznatok je v súlade s prácami, ktoré poukazujú na koncentráciu liekových interakcií do relatívne malej skupiny liečiv a ich kombinácií (10). Niektoré liečivá, ako pantoprazol, metformín alebo paracetamol, sa častejšie vyskytovali v kategóriách s nízkym alebo žiadnym interakčným potenciálom, čo korešponduje s ich priaznivým bezpečnostným profilom. Naopak, liečivá ako warfarín, klaritromycín, SSRI sa opakovane objavovali v kategóriách klinicky významných interakcií, čo je v súlade s ich farmakokinetickým a farmakodynamickým profilom (12, 13). Naše výsledky identifikujú liečivá, charakterizované častým zapojením do liekových interakcií v dôsledku ovplyvnenia metabolických dráh alebo úzkeho terapeutického indexu.
Zaujímavým zistením je výskyt kombinácie atorvastatínu s klopidogrelom u 166 pacientov. Táto kombinácia bola považovaná za potenciálne rizikovú na základe v roku 2003 publikovaných experimentálnych údajov (14), ktoré poukazovali na možnú redukciu antiagregačného účinku klopidogrelu pri súbežnom podávaní atorvastatínu vplyvom kompetície na úrovni izoenzýmov CYP3A4 a CYP2C19 cytochrómu P450. Výsledky štúdie CHARISMA však nepreukázali negatívny vplyv v zmysle zvýšeného výskytu aterotrombotických príhod (15), interakcia nemá klinický význam a kombinácia tak zostáva štandardnou súčasťou sekundárnej prevencie KVS ochorení, čo preukázal aj vysoký výskyt tejto kombinácie v hodnotenom súbore.
Medzi diskutované liekové interakcie patria aj nami preukázané kombinácie ASA s ACEi (perindopril). Inhibícia syntézy renálnych prostaglandínov prostredníctvom ASA, môže viesť k zníženiu vazodilatačného efektu a k oslabeniu antihypertenzného účinku ACE inhibítorov. Tento efekt je teoreticky výraznejší pri vyšších dávkach ASA, zatiaľ čo pri nízkych antiagregačných dávkach (30–100 mg denne) je jeho klinický význam limitovaný a kombinácie sú bezpečne využívané v terapii (16).
Identifikované kombinácie paracetamolu s NSAID (ibuprofén, diklofenak) predstavujú využitie aditívneho analgetického efektu v manažmente akútnej bolesti. Pri vyšších dávkach, dlhodobom užívaní alebo u rizikových pacientov môže dôjsť ku kumulácii nežiaducich účinkov, najmä v oblasti GIT a renálnej toxicity (17).
Vysoký výskyt kombinácií antiarytmík a centrálne pôsobiacich liečiv s betablokátormi je príkladom farmakodynamických interakcií s aditívnym negatívnym chronotropným a dromotropným účinkom, vedúcim k spomaleniu srdcovej frekvencie a atrioventrikulárneho vedenia. Rovnako však ide o klinicky bežne využívané kombinácie, pričom riziko bradykardie a porúch vedenia je relevantné najmä u pacientov s poruchou prevodového systému alebo pri srdcovom zlyhávaní (18).
Farmaceutom vedené intervencie, najmä v rámci štruktúrovaného medication review, môžu viesť k signifikantnému poklesu výskytu klinicky relevantných liekových interakcií a liekových chýb, ako aj k zlepšeniu adherencie pacientov (19). Úplné zvládnutie problematiky liekových interakcií je náročné, a preto narastá význam využívania elektronických nástrojov, ktoré

preukázateľne znižujú výskyt nežiaducich udalostí spojených s liečbou. V tomto kontexte je dôležité zdôrazniť, že významná časť nami identifikovaných liekových interakcií je potenciálne preventabilná prostredníctvom systematických intervencií. Na druhej strane, tradičné systémy upozorňovania na liekové interakcie často generujú veľké množstvo signálov bez rozlíšenia ich klinickej relevancie, čo vedie k ich rutinnému prehliadaniu (20).

Výsledky našej práce ukazujú, že výskyt liekových interakcií má definovateľné vzorce a v rôznych kombináciách a stupňoch klinickej závažnosti opakujúce sa liečivá. Tento poznatok umožňuje prechod od univerzálneho upozorňovania na všetky potenciálne interakcie k selektívnemu, dátovo riadenému prístupu zameranému na najčastejšie a klinicky najvýznamnejšie rizikové kombinácie.

Naša práca má niekoľko limitácií, ktoré je potrebné zohľadniť pri interpretácii výsledkov. Údaje boli získané prostredníctvom webovej aplikácie na základe vstupov používateľov, čo môže byť spojené s rizikom neúplnosti alebo nepresnosti údajov o farmakoterapii. Nie je možné vylúčiť, že niektorí používatelia nezadali všetky užívané lieky, najmä lieky vydávané bez lekárskeho predpisu, alebo že došlo k nesprávnemu zadaniu názvu či liekovej formy. Hodnotené záznamy neobsahovali údaje o dávkovaní, frekvencii podávania ani dĺžke liečby, čo predstavuje významné obmedzenie, keďže interakčný potenciál mnohých liečiv je dávkovo závislý. Absencia týchto údajov neumožňuje posúdiť skutočnú klinickú relevanciu identifikovaných kombinácií, najmä pri liečivách, ktorých riziko interakcií sa prejavuje až pri vyšších dávkach (napr. NSAID, ASA, SSRI). Ďalším obmedzením je absencia klinických údajov o pacientoch, ako sú komorbidity, renálne a hepatálne funkcie, laboratórne parametre či údaje o adherencii. Výsledky preto odrážajú iba teoretický interakčný potenciál, nie reálny výskyt klinických udalostí. Limitáciou je aj samotná databáza liekových interakcií použitá v aplikácii. Hoci ide o zdravotnícku pomôcku doplnenú o údaje z literatúry, jej obsah sa môže líšiť od iných databáz. Napokon, analyzovaný súbor môže byť ovplyvnený výberovým skreslením. Hoci štruktúra farmakoterapie významne koreluje s údajmi o spotrebe liekov v SR, používatelia aplikácie nemusia reprezentovať populáciu pacientov v Slovenskej republike, keďže ide o dobrovoľníkov, ktorí majú záujem o kontrolu liekových interakcií, často s vyšším počtom liekov alebo vyššou zdravotnou gramotnosťou.

Napriek uvedeným limitáciám predstavuje analyzovaný súbor rozsiahly a z hľadiska štruktúry farmakoterapie reprezentatívny zdroj údajov, ktorý umožňuje identifikovať základné vzorce výskytu liekových interakcií v populácii a poskytuje relevantné podklady pre ďalší výskum a pre rozvoj farmaceutických intervencií.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Allemann SS, Van Mil JWF, Botermann L, Berger K, Griese N, Hersberger KE. Pharmaceutical Care: the PCNE definition 2013. *Int J Clin Pharm*. 2014;36(3):544-555. doi:10.1007/s11096-014-9933-x
2. Hepler CD, Strand LM. Opportunities and responsibilities in pharmaceutical care. *Am J Health Syst Pharm*. 1990;47(3):533-543. doi:10.1093/ajhp/47.3.533
3. Mossialos E, Courtin E, Naci H, et al. From "retailers" to health care providers: Transforming the role of community pharmacists in chronic disease management. *Health Policy*. 2015;119(5):628-639. doi:10.1016/j.healthpol.2015.02.007
4. Henman MC, Ravera S, Lery FX. Council of Europe Resolution on the Implementation of Pharmaceutical Care—A Step Forward in Enhancing the Appropriate Use of Medicines and Patient-Centred Care. *Healthcare*. 2024;12(2):232. doi:10.3390/healthcare12020232

5. Griese-Mammen N, Hersberger KE, Messerli M, et al. PCNE definition of medication review: reaching agreement. *Int J Clin Pharm*. 2018;40(5):1199-1208. doi:10.1007/s11096-018-0696-7
6. Bonanno EG, Figueiredo T, Mimoso IF, et al. Polypharmacy Prevalence Among Older Adults Based on the Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe: An Update. *J Clin Med*. 2025;14(4):1330. doi:10.3390/jcm14041330
7. Geifman N, Cohen R, Rubin E. Redefining meaningful age groups in the context of disease. *AGE*. 2013;35(6):2357-2366. doi:10.1007/s11357-013-9510-6
8. Národné centrum zdravotníckych informácií. Spotreba humánnych liekov, zdravotníckych pomôcok a dietetických potravín v SR 2024. Published online 2025. https://data.nczisk.sk/statisticke_vystupy/top_100_liekov/spotreba_liekov/Spotreba_liekov_a_zdravotnickych_pomocok_v_SR_2024.pdf
9. Baxter K. *Stockley's Drug Interactions: A Source Book of Interactions, Their Mechanisms, Clinical Importance and Management*. Vol 48.
10. Hughes JE, Waldron C, Bennett KE, Cahir C. Prevalence of Drug–Drug Interactions in Older Community-Dwelling Individuals: A Systematic Review and Meta-analysis. *Drugs Aging*. 2023;40(2):117-134. doi:10.1007/s40266-022-01001-5
11. Skou ST, Mair FS, Fortin M, et al. Multimorbidity. *Nat Rev Dis Primer*. 2022;8(1):48. doi:10.1038/s41572-022-00376-4
12. Zhao M, Ma J, Li M, et al. Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *Int J Mol Sci*. 2021;22(23):12808. doi:10.3390/ijms222312808
13. Palleria C, Di Paolo A, Giofrè C, et al. Pharmacokinetic drug-drug interaction and their implication in clinical management. *J Res Med Sci Off J Isfahan Univ Med Sci*. 2013;18(7):601-610.
14. Atorvastatin Reduces the Ability of Clopidogrel to Inhibit Platelet Aggregation. doi:10.1161/01.CIR.0000047060.60595.CC
15. Saw J, Brennan DM, Steinhubl SR, et al. Lack of Evidence of a Clopidogrel–Statin Interaction in the CHARISMA Trial. *JACC*. 2007;50(4):291-295. doi:10.1016/j.jacc.2007.01.097
16. Tea KK, Yusuf S, Pfeffer M, et al. Effects of long-term treatment with angiotensin-converting-enzyme inhibitors in the presence or absence of aspirin: a systematic review. *The Lancet*. 2002;360(9339):1037-1043. doi:10.1016/S0140-6736(02)11138-X
17. Smith J, Ng L. The management of acute pain – an update. *Medicine (Baltimore)*. 2025;53(2):102-108. doi:10.1016/j.mpmed.2024.11.007
18. Van Gelder IC, Rienstra M, Bunting KV, et al. 2024 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 2024;45(36):3314-3414. doi:10.1093/eurheartj/ehae176
19. Weber C, Meyer-Massetti C, Schönenberger N. Pharmacist-led interventions at hospital discharge: a scoping review of studies demonstrating reduced readmission rates. *Int J Clin Pharm*. 2025;47(1):15-30. doi:10.1007/s11096-024-01821-y
20. Nasuhara Y, Sakushima K, Endoh A, et al. Physicians' responses to computerized drug interaction alerts with password overrides. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2015;15(1):74. doi:10.1186/s12911-015-0194-y

POKROKY VO FARMAKOLÓGII V SLOVENSKEJ REPUBLIKE XXI

Stanislava Kosírová
Diana Vavrincová
(zostavovateľky)

Vydala Univerzita Komenského v Bratislave, 2026

Za jazykovú úpravu zodpovedajú autori

Vyšlo ako elektronická publikácia

Rozsah 89 strán, prvé vydanie

ISBN 978-80-223-6359-4 (tlač)

ISBN 978-80-223-6360-0 (online)

ISBN 978-80-223-6359-4 (tlač)
ISBN 978-80-223-6360-0 (online)