



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovenská spoločnosť klinickej biochémie
Slovak Society of Clinical Biochemistry
Recenzovaný časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 2/ 2023
Ročník XXVIII.



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry
Recenzovaný časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 2/2023

Ročník XXVIII.

PRESEDA REDAKČNEJ RADY

Hedviga Pivovarníková

ODBORNÝ REDAKTOR

Oliver Rác

REDAKČNÁ RADA

Ján Balla
Pavel Blažíček
Beáta Bolerázska
Dušan Dobrota
Eva Ďurovcová
Michal Farkaš
Vladimír Heriban
Beáta Hubková
Mária Kačániová
Katarína Lepejová
Daniel Magula
Angela Molčányiová
Jana Netriová
Katarína Šebeková
Ladislav Turecký

Laboratórna Diagnostika
Vydáva Slovenská spoločnosť klinickej biochémie pri SLS
Cukrová 2373/3, 811 08 Bratislava
ISSN 2729-9201 (online)
Vychádza: 2-krát ročne



EFLM is proud to announce the launch of the
EFLM CERTIFICATION FOR
GREEN AND SUSTAINABLE LABORATORIES
aimed to implement sustainable practices in medical laboratories



BECOME A *Green Lab*

SUSTAINABILITY IN LABORATORY MEDICINE: THE ROLE OF LABORATORIES

Sustainability measures in the healthcare sector are needed to reduce its negative impacts on the environment and economy. Laboratory medicine should contribute to a sustainable healthcare system ensuring that resources are used efficiently from ecological, social, and economical perspectives, while providing high-quality services to patients and physicians.

WHY TO BECOME A GREEN & SUSTAINABLE LAB CERTIFIED BY EFLM...

- to ensure a healthy, safe and efficient laboratory environment.
- to reduce resources consumption such as energy, water, hazardous chemicals, and waste.
- to align clinical labs with sustainability goals and strategy.
- to attract qualified personnel providing them to work in a Green Lab.
- to help hospitals and laboratories to achieve their sustainability goals.
- to grow the community of Green Lab Leaders.



WE ARE NOW READY TO RECEIVE APPLICATIONS FROM MEDICAL LABORATORIES

VISIT: <https://greenlabs.eflm.eu/>

Clinical laboratories worldwide interested in receiving EFLM Green Lab Certification are welcome to apply!

OBSAH

ÚVODNÍK

PRÍHOVOR PREZIDENTKY SSKB	7
---------------------------------	---

JUBILANTI

Prof. RNDr. Jozef Čársky, CSc.: Jubilant prof. MUDr. Ladislav Turecký, CSc.	9
MUDr. Daniel Magula, CSc.: K životnému jubileu profesora MUDr. Stanislava Oravca, CSc.	11
MUDr. Hedviga Pivovarníková: K významnému životnému jubileu Ing. Jána Ballu, zakladateľa odbornej konferencie LABKVALITA na Slovensku.....	15

IN MEMORIAM

Prof. RNDr. Jozef Čársky, CSc.: Za docentom Ing. Lukáčom Halčákom, PhD.	18
--	----

ABSTRAKTY

Springer Drahomíra, Koudelková Marcela, Hejzmanová Kateřina: Screeningové programy jako nástroj prevence závažných onemocnění.....	20
Jabor Antonín: Nové přístupy k řízení dokumentace a tvorbě laboratorní příručky	23
Plebani Mario: Integrative diagnostics: role of laboratory medicine	25
Rajdl Daniel: Vzdělávání v klinické biochemii/laboratorní medicíně z perspektivy ČR a EFLM: jaký je zájem o obor, informační zdroje a příležitosti k odbornému rozvoji	26
Sečník Peter: Kvalitná laboratórna diagnostika v SR – máme záujem?	27
Pivovarníková Hedviga: Súčasnosť a budúcnosť klinickej biochémie v SR - personálny rozvoj, motivácia novej generácie.....	28
Racek Jaroslav: Preeklampsie a HELLP syndrom – rozbor kazuistiky	30
Turčan Anton, Firment Peter, Palenčíková Erika: Stevens-Johnsonov syndróm – kazuistika.....	32
Lešková Jaroslava: Riziko kardiotoxicity u pacientky s HER2 pozitívnym karcinómom prsníka.....	36
Javorová Rihová Zuzana: Interpretácia sérových koncentrácií liečiv očami klinika.....	38
Franecková Janka: Kazuistiky z laboratorní medicíny	40
Sečník Peter, Halmová Henrieta: Tumorom indukovaná osteomalácia – kazuistika.....	42
Jabor Antonín: Troponiny a natriuretické peptidy – je něco nového?.....	44
Daňová Katarína: Vysoko senzitivne stanovenie kardiálneho troponínu T miestami oblačno?	47
Slanina Miroslav: Úloha laboratórných ukazovateľov pri ochoreniach srdca.....	49
Čmelíková Kristína: Horieť a nevyhorieť – syndróm vyhorenia	51
Palková Andrea: Biomarkery v diagnostike sclerosis multiplex: porovnanie oligoklonálnej syntézy IgG v likvore a voľných ľahkých reťazcov kappa v likvore.....	53
Magula Daniel, Vaverková Gabriela, Vinklerová Silvia: Vyšetřovanie sérových nukleokapsidových anti-SARS-CoV-2 IgM/IgG protilátok - nástroj na sledovanie vývoja pandémie COVID-19 v období rokov 2020-2023 (analýza vlastných dát).....	55
Hillmich Ondřej: Odhalení toxicity 5-fluorouracilu pomocí automatizovaného LCMS	58

KONGRESOVÉ PREDNÁŠKY

Kováč Gustáv, Porubenová Anna, Farkaš Michal, Blažíček Pavel, Kečkéš Štefan, Hudecová Lucia, Zenková Eva, Malík Ivan: Paralely vzniku Slovenskej spoločnosti pre laboratórnu medicínu a americkej Asociácie pre diagnostiku a laboratórnu medicínu.....	59
Dobrota Dušan, Cibulka Michal, Čierny Daniel: Postgraduálne vzdelávanie v klinickej biochémií na Slovensku	64
Kováč Gustáv, Porubenová Anna, Farkaš Michal, Blažíček Pavel, Kečkéš Štefan, Hudecová Lucia, Zenková Eva, Malík Ivan, Hubková Beáta: Od Katedry klinickej biochémiie Ústavu pre ďalšie vzdelávanie lekárov a farmaceutov po Ústav chémie, klinickej biochémiie a laboratórnej medicíny lekárskej fakulty Slovenskej zdravotníckej univerzity	68

PREHĽADOVÉ ČLÁNKY

Gaško, Rudolf: Metódy stanovenia LDL-cholesterolu – dá sa výsledkom dôverovať?	73
Hostačná Lenka, Ďurovcová Eva: Dyslipidémia u pacientov s primárnou biliárnou cholangitídou.....	79
Kička Miloš, Roškovičová Veronika, Madárová Natália, Lenárt Marek, Hulík Štefan, Gajdzik Tomáš, Adandedjan Dávid, Kalanin Rastislav, Kaťuchová Jana, Radoňak Jozef: Výskyt včasných komplikácií po vyšetrení endoskopickou retrográdnou cholangiopankreatikografiou	86
Hostačná Lenka, Ďurovcová Eva: Význam stanovenia fibroblastového rastového faktora 23	91
Hubková Beáta, Mašlanková Jana, Fiľakovská Daniela, Birková Anna, Hertelyová Zdenka, Chovan Shoshana: Metabolizmus železa a možné následky jeho narušenej homeostázy vplyvom sociálnych determinantov	99

VEDECKÉ PRÁCE

Chovan Shoshana, Hubková Beáta, Füzér Ján, Kollár Peter, Čižmárová Beáta, Fiľakovská Bobáková Daniela: Socioekonomické znevýhodnenie a stres: hladiny kortizolu merané vo vlasoch matiek z marginalizovaných rómskych komún a z majoritnej populácie	107
Chlebová Zuzana, Chlebo Peter, Magula Daniel, Vaverková Gabriela, Vinklerová Silvia, Bihari Maroš: Stanovenie subfrakcií HDL a LDL cholesterolu ako ďalšie hodnotiace kritérium pri predikcii vzniku aterosklerózy	113
Kička Miloš, Radoňak Jozef, Kaťuchová Jana, Šoltés Marek, Mašlanková Jana, Večurková Ivana: Využitie MMP-9 ako biomarkera v skríningu kolorektálneho karcinómu	121
Palenčíková Erika, Pivovarníková Hedviga, Romanová Lubomíra: Biochemické zápalové markery – cesta k efektívnej antibiotickej liečbe u kriticky chorého?	129
Sukovský Lukáš, Tomečková Vladimíra, Sukovská Lakyová Lucia, Chandoga Ján, Radoňak Jozef: Biochemické stanovenie biomarkerov ischémie a zápalu ako skorá diagnostika rozpadu črevnej anastomózy	132
Urbanská Nicol, Kukeľová Diana, Kisková Terézia: Extrakt z levandule stimuluje hipokampálnu neurogenézu počas depresii podobných stavov laboratórnych zvierat	137



FOUR SIMPLE ACTIONS TO BE MORE SUSTAINABLE AND GREEN IN YOUR LABORATORY!



Section “Chemicals Management”

Are chemicals
labelled?

Do you switch off lights,
computers, instrumentation
and equipment at the end of
the day or when not in use?

Section “Energy Management”



Section “Waste Management”

Do you insist that
minimum packaging
materials be used?

Has your lab identified clearly
which level of water purity is
needed for the work, to
minimize the cost and
environmental impact?

Section “Water Management”



CONTENT

EDITORIAL

SSKB PRESIDENT MESSAGE	7
------------------------------	---

JUBILANTS

Prof. RNDr. Jozef Čársky, CSc.: Jubilant professor Ladislav Turecký, MD., CSc.	9
MUDr. Daniel Magula, CSc.: On the anniversary of professor Stanislav Oravec MD., PhD.	11
MUDr. Hedviga Pivovarníková - On the life anniversary of Ing. Ján Balla, founder of the scientific conference LABKVALITA in Slovakia	15

IN MEMORIAM

Prof. RNDr. Jozef Čársky, CSc.: In memoriam to associate professor Lukáč Halčák, MSc., PhD.	18
---	----

ABSTRACTS

Springer Drahomíra, Koudelková Marcela, Hejčmanová Kateřina: Screening programs as a tool for the prevention of serious diseases	20
Jabor Antonín: New approaches to the laboratory document control and laboratory handbook	23
Plebani Mario: Integrative diagnostics: role of laboratory medicine	25
Rajdl Daniel: Education in the field of clinical biochemistry/laboratory medicine in the Czech Republic and from the EFLM perspective: information resources and professional development opportunities	26
Sečník Peter: Quality in laboratory diagnostics in Slovakia – do we care?.....	27
Pivovarníková Hedviga: Present and Future of the Clinical Biochemistry in Slovakia - Personal Progress and a New Generation Motivation	28
Racek Jaroslav: Preeclampsia and HELLP syndrome – case study analysis	30
Turčan Anton, Firment Peter, Palenčíková Erika: Stevens-Johnson syndrome - case report.....	32
Lešková Jaroslava: Risk of cardiotoxicity in a patient with HER2-positive breast cancer.....	36
Javorová Rihová Zuzana: Interpretation of drug concentrations in serum from clinical viewpoint.....	38
Franečková Janka: Case reports from laboratory medicine	40
Sečník Peter, Halmová Henrieta: Tumour-induced osteomalacia – case report	42
Jabor Antonín: Troponins and natriuretic peptides – what is new?.....	44
Daňová Katarína: High-sensitive cardiac troponin T partly cloudy?	47
Slanina Miroslav: The role of laboratory markers in heart diseases.....	49
Čmelíková Kristína: To burn and not to burn out – burnout syndrome	51
Palková Andrea: Biomarkers in multiple sclerosis: comparison oligoclonal bands IgG in cerebrospinal fluid and kappa free light chains in cerebrospinal fluid.....	53
Magula Daniel, Vaverková Gabriela, Vinklerová Silvia: Detection of serum nucleocapsid anti-SARS-CoV-2 IgM/IgG antibodies - a tool for monitoring the development of the COVID-19 pandemic over the years 2020-2023 (Analysis of own data)	55
Hillmich Ondřej: Detection of 5-fluorouracil toxicity using automated LCMS	58

CONGRESS PRESENTATIONS

Kováč Gustáv, Porubenová Anna, Farkaš Michal, Blažíček Pavel, Kečkéš Štefan, Hudecová Lucia, Zenková Eva, Malík Ivan: Parallels between the formation of the Slovak Society for Laboratory Medicine and the American Association for Diagnostics and Laboratory Medicine.....	59
Dobrota Dušan, Cibulka Michal, Čierny Daniel: Postgraduate education in clinical biochemistry in Slovakia	64
Kováč Gustáv, Porubenová Anna, Farkaš Michal, Blažíček Pavel, Kečkéš Štefan, Hudecová Lucia, Zenková Eva, Malík Ivan, Hubková Beáta: From the Department of Clinical Biochemistry of the Institute for Further Education of Physicians and Pharmacists to the Department of Chemistry, Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine of the Medical Faculty of the Slovak University of Health Sciences	68

REVIEWS

Gaško Rudolf: LDL-cholesterol determination methods - can the results be trusted?	73
Hostačná Lenka, Ďurovcová Eva: Dyslipidaemia in patients with primary biliary cholangitis	79
Kička Miloš, Roškovičová Veronika, Madárová Natália, Lenárt Marek, Hulík Štefan, Gajdzik Tomáš, Adandedjan Dávid, Kalanin Rastislav, Kaľuchová Jana, Radoňak Jozef: Incidence of early complications after endoscopic retrograde cholangiopancreatography	86
Hostačná Lenka, Ďurovcová Eva: Importance of fibroblast growth factor 23 determination	91
Hubková Beáta, Mašlanková Jana, Fiľakovská Daniela, Birková Anna, Hertelyová Zdenka, Chovan Shoshana: Iron metabolism, and possible consequences of its disturbed homeostasis due to the influence of social determinants	99

ORIGINAL RESEARCH MANUSCRIPTS

Chovan Shoshana, Hubková Beáta, Fűzer Ján, Kollár Peter, Čižmárová Beáta, Fiľakovská Bobáková Daniela: Socioeconomic disadvantage and stress: Hair cortisol concentrations of mothers from marginalized Roma communities and from majority population	107
Chlebová Zuzana, Chlebo Peter, Magula Daniel, Vaverková Gabriela, Vinklerová Silvia, Bihari Maroš: The determination of HDL and LDL cholesterol subfractions as another evaluation criterion in the prediction of the atherosclerosis	113
Kička Miloš, Radoňak Jozef, Kaľuchová Jana, Šoltés Marek, Mašlanková Jana, Večurkovská Ivana: Use of MMP-9 as a biomarker in the screening of colorectal cancer	121
Palenčíková Erika, Pivovarníková Hedviga, Romanová Ľubomíra: Biochemical inflammation markers – the way towards effective antibiotic treatment of a critical patient?	129
Sukovský Lukáš, Tomečková Vladimíra, Sukovská Lakyová Lucia, Chandoga Ján, Radoňak Jozef: Biochemic evaluation of biomarker of ischemia and inflammation as early detection of anastomotic leak	132
Urbanská Nicol, Kukeľová Diana, Kisková Terézia: Lavender extract stimulates hippocampal neurogenesis during depression-like state of laboratory animals	137



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 7–8

ÚVODNÍK

*Vážené a milé kolegyně a kolegovia,
vážení členovia Slovenskej spoločnosti
klinickej biochémie!*

Po zaslúžených a príjemných dovolenkách sa pomaly dostávame do pracovného tempa a spoločných pracovných odborných stretnutí. Aj tieto riadky budú venované konaniu odbornej konferencie s medzinárodnou účasťou LABKVALITA 2023 pod záštitou EFLM konanej 8.-10. októbra 2023, ale aj iným uplynulým medzinárodným odborným podujatiam.

Na našej odbornej konferencii budú ocenení viacerí platiaci členovia SSKB pri ich životných jubileách. Posledné číslo časopisu „Laboratórna diagnostika“ v roku 2023 bude mať slávnostnejší nádych, bude obsahovať laudáciá ocenených jubilantov a bude súhrnom abstraktov a článkov prednášok našich a aj významných zahraničných hostí, ktoré odznegli na konferencii LABKVALITA 2023.

Začiatok roka 2023 bol posledným funkčným obdobím výboru SSKB zvoleného na roky 2019-2023. Nový výbor SSKB na nasledujúce funkčné obdobie 2023 - 2027 začal svoju činnosť od ustanovujúceho zasadania 19.6.2023.

*Výbor v novom zložení plynule nadviazal na aktivity predchádzajúcich členov výboru SSKB a intenzívne pripravoval odbornú konferenciu s medzinárodnou účasťou **LABKVALITA 2023**, ktorá sa koná každé dva roky. Od jej založenia uplynulo 30 rokov a pri tejto príležitosti by som sa chcela v mene celého výboru aj touto cestou poďakovať jeho zakladateľovi Ing. Jánovi Ballovi.*

Konferencia má vždy atraktívny odborný program s mnohotematickým zameraním hlavne pre laboratórných, ale aj klinických pracovníkov – lekárov, o čom sa môžete presvedčiť v obsahu tohto čísla časopisu. Dôraz je kladený na kvalitu laboratórných procesov, postupov, inovatívne metodiky a ich aplikácie do praxe, manažment

a interpretácie neobvyklých a neočakávaných laboratórných výsledkov. Dôležitá je vzájomná komunikácia a neustála edukácia klinických partnerov, uplatňovanie etiky a psychológie v medicíne. Recept na to, aby sme síce „pre odbor“ horeli, ale nevyhoreli, nám pripravila odborníčka v psychológii.

21. – 25. mája 2023 sa konal v Ríme XXV. Kongres IFCC WorldLab EuroMedLab ako spoločný 25. medzinárodný kongres klinickej chémie a laboratórnej medicíny (WorldLab) a 25. európsky kongres klinickej chémie a laboratórnej medicíny (EuroMedLab), ktorého hosťiteľom bola Talianska spoločnosť klinickej biochémie a klinickej molekulárnej biológie pri príležitosti ich 55. výročného kongresu v kongresovom centre La Nuvoletta. Kongresu bolo venované aj číslo [Newsletter EFLM 3/2023](#).

V súlade s **Európskou Zelenou dohodou (Green Deal)** zriadila v novembri 2021 Výkonná rada EFLM pracovnú skupinu „Zelené a udržateľné laboratóriá“ (EFLM WG GSL). Jej ambíciou je stať sa lídrom pri implementácii trvalo udržateľných postupov v klinických a medicínskych laboratóriách v Európe. Cieľom tejto iniciatívy je transformovať v Európe 15 000 klinických laboratórií v 49 členských spoločnostiach EFLM na bezpečné a udržateľné priestory a implementáciou efektívnych každodenných činností znížiť ich škodlivý vplyv na životné prostredie a podniknutím krokov na minimalizáciu spotreby energií a vody, znížením odpadov a nebezpečných chemikálií bez toho, aby bola ohrozená kvalita zdravotnej starostlivosti. Túto možnosť má **každé verejné alebo súkromné laboratórium** v odboroch: Klinická chémia, Hematológia, Mikrobiológia, Transfúzna služba, Imunológia, Patológia a Cytológia a môže získať prestížny certifikát „Zelené a trvalo udržateľné laboratórium“.

EFLM neustále vyzýva mladých odborníkov do nových pracovných skupín akou je napr. aj pracovná skupina „Biomarkery mierneho traumatického poranenia mozgu“

(WG-BTBI), kde sa môže prihlásiť mladý odborník, vedec-plnoprávny člen (vo veku do 35 rokov v čase nominácie).

Z ďalších významných medzinárodných odborných akcií sa pripravuje **XXVI. IFCC WORDLAB**, ktorý sa bude konať **26. – 30. mája 2024 v Dubaji**, Spojených arabských emirátoch.

XXVI. IFCC-EFLM EUROMEDLAB 2025 sa bude konať **18. – 22. mája 2025 v Bruseli**.

Na webovej stránke SSKB sa okrem iného môžete dočítať **ako a prečo sa stať členom SSKB** a SLS ako aj o výzve SSKB na spoluprácu **pri zaraďovaní nových laboratórných výkonov** do Zoznamu zdravotníckych výkonov (ZZV) MZSR a môžete získať mnoho ďalších aktuálnych informácií.

Všetci členovia výboru SSKB veria, že sa postupne zvýši publikačná aktivita aj mladých odborníkov formou rôznych pôvodných článkov a zaujímavých informácií o nových špeciálnych metódach na ich pracoviskách ako aj návštevnosť webových stránok SSKB, EFLM, IFCC...

Verím, že **LABKVALITA 2023** bude bohatým zdrojom nových poznatkov, nápadov, inšpirácií pre ďalšie zlepšovanie sa a vzájomnú edukáciu s našimi klinickými partnermi, kedy túto komunikáciu potrebujeme zintenzívniť s cieľom dbať hlavne na bezpečnosť pacienta.

Aktuálne informácie nájdete na webovej stránke www.sskb.sk, ktorá má už zmenenú štruktúru, a tým uľahčí vyhľadávanie a prehľadnú dôležitosť informácií.

Podakovanie patrí všetkým...

Prajem zdravie, silu, trpezlivosť a nádej.

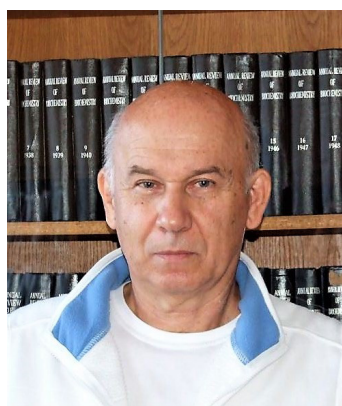
25.8.2023

Hedviga Pivovarníková
prezidentka SSKB



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 9–10

JUBILANT prof. MUDr. LADISLAV TURECKÝ, CSc.
JUBILANT PROFESSOR LADISLAV TURECKÝ, MD., CSc.



Medzi jubilujúcich členov Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie sa tohto roku zaradil aj profesor MUDr. Ladislav Turecký, CSc., prednosta Ústavu lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave. Jubileum je vhodnou príležitosťou na pripomenutie si významných míľnikov jeho profesionálnej kariéry ako i jeho prínosu pre slovenskú medicínu, najmä v odboroch lekárskej a klinickej biochémie.

Jubilant sa narodil v Bratislave (5. 3. 1953), kde ukončil stredoškolské štúdium na SVŠ Juraja Hronca s vyznamenaním (1971). Už počas tohto štúdia sa zaujímal o odbornú činnosť aktívnou účasťou na chemických olympiádach. Vysokoškolské štúdium – všeobecné lekárstvo, absolvoval na LF UK v Bratislave (1977), s červeným diplomom. V rámci štúdia pôsobil ako pomocná vedecká sila na katedre biochémie a zúčastňoval sa fakultných konferencií organizovaných ŠVOČ, kde jeho príspevky mali najvyššie hodnotenie, s postupom do celoštátneho kola. Aj v tejto najvyššej súťaži získal prvé miesto a jeho práca bola ohodnotená Cenou SAV.

Po ukončení štúdia medicíny nastúpil ako asistent na Katedru biochémie LF UK v Bratislave, kde pôsobí doteraz. Absolvoval atestáciu z *Klinickej biochémie* na III. Internej klinike FN v Bratislave (1981), a postgraduálne štúdium v odbore Biochémia - získanie titulu CSc. (1997). V r. 2003

sa stal docentom tohto odboru, a r. 2006 bol menovaný profesorom *Laboratórných vyšetrovacích metód* na Fakulte zdravotníctva a sociálnej práce Trnavskej univerzity. V r. 1991 – 1996 pôsobil vo funkcii zástupcu Ústavu lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF UK, od r. 2011 – doteraz, je prednostom tohto ústavu. V r. 2013 sa stal garantom špecializačného štúdia v odbore *Klinická biochémia* na Jesseniovej LF UK v Martine.

V pedagogickej činnosti – prof. MUDr. L. Turecký, CSc. prednáša, vedie semináre, laboratórne cvičenia a je examinátorom predmetu *Lekárska biochémia* – poslucháčov 2. roč. LF UK. Po zaradení *Klinickej biochémie* do výučby – ako voliteľný predmet (v šk. r. 2019–2020), bol poverený vypracovaním jeho koncepcie a prednáškami. Ako externista pôsobí na Prírodovedeckej fakulte UK v Bratislave, kde prednáša predmet *Základy patobiochémie a klinickej biochémie* poslucháčom 4. a 5. ročníka. Je členom Komisie pre štátne záverečné skúšky z predmetu Biochémia a garantom predmetu *Nové trendy lekárskej, klinickej a farmaceutickej biochémie* – pre doktorandov postgraduálneho štúdia. Ako externista prednášal Biochémiu aj na Vysokej škole zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety v Bratislave, tiež na SZU v Bratislave - v rámci doškolenia zameraného na *Klinickú biochémiu*.

Bol školiteľom diplomových prác poslucháčov Prírodovedeckej fakulte UK v odbore *Biochémia*, diplomových

a bakalárskych prác poslucháčov všeobecného lekárstva LF UK, a doktorandov so zameraním na lekársku a klinickú biochémiu. Je autorom a spoluautorom viacerých vysokoškolských učebných textov, a autorom učebnice biochémie pre stredné školy.

V rámci **vedecko-výskumnej činnosti** – spočiatku sa venoval problematike neurochémiu, v zameraní na neuromediátory a demyelinizačné ochorenia. V spolupráci s Katedrou biológie a genetiky LF UK začal ako prvý na Slovensku zavádzať biochemické vyšetrenia plodovej vody v rámci prenatalnej diagnostiky rázštepov neurálnej trubice. Aktuálne sa venuje problematike experimentálnej hepatológie, v prepojení na biotransformačný systém pečene a oxidačný stres – pri diabete, toxických poškodeniach pečene a pri pôsobení hypolipidemík na pečeň.

V oblasti klinicko-biochemickej sa zameriava na diagnostiku hepatopatií pri steatóze pečene a možnosti vyšetrenia fibromarkerov. Ďalšou jeho výskumnou oblasťou je štúdium zmien funkcie obličiek pri diabete a biochemických zmien pri športovej záťaži. Získané výsledky výskumu prezentuje v domácich a zahraničných vedeckých periodikách a na odborných konferenciách doma i v zahraničí, s celkovým počtom 938 (počet citácií 596, z toho v zahraničí 464). V rámci výskumu bol zodpovedným riešiteľom – 3 grantových projektov, zástupcom zodpovedného riešiteľa – 9, a spoluriešiteľom bol v ďalších 11 úspešne obhájených projektoch.

Členstvo v odborných spoločnostiach

European Association of Study of Diabetes (EASD) – od r. 1994. Hepatologická spoločnosť SLS - člen výboru v troch funkčných obdobiach.

Diabetologická spoločnosť SLS.

Spoločnosť klinickej biochémie SLS.

Gastroenterologická spoločnosť SLS.

Spoločnosť telovýchovného lekárstva SLS.

Ocenenia:

1976 – Cena Slovenskej akadémie vied za najlepšiu študentskú vedeckú prácu.

1986 – Cena Hepatologickej spoločnosti SLS – za najlepšiu publikáciu.

1990 – Cena hepatologickej spoločnosti SLS – za najlepšiu publikáciu.

1997 – Cena Spoločnosti klinickej biochémie – za najlepšiu publikáciu.

1999 – Prémia Literárneho fondu v kategórii prírodných vied – za monografiu „*Voľné radikály a antioxidanty v medicíne*“ (spoluautor).

2000 – Slovmedika – Slovfarma – Slovreha: Čestné uznanie Grand Prix – za monografiu „*Voľné radikály a antioxidanty v medicíne*“ (spoluautor).

2001 – Prémia Literárneho fondu za knižnú publikáciu „*Biochémia*“, v kategórii prírodných vied..

Ďalšie aktivity

V rokoch 1994 – 2004 bol odborným redaktorom a členom redakčnej rady „*Encyklopédie medicíny*“ (16 zväzkov).

Od roku 1993 – doteraz je členom Edičnej komisie LF UK.

V r. 2008 – 2010 bol predsedom redakčnej rady časopisu „*Praktická gynekológia*“.



Jubilantovi želáme do ďalších rokov veľa pracovných úspechov a pohody aj v osobnom živote.

Prof. RNDr. Jozef Čársky, CSc., profesor emeritus



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 11–14

K ŽIVOTNÉMU JUBILEU PROFESORA MUDr. STANISLAVA ORAVCA, CSc. ON THE ANNIVERSARY OF PROFESSOR STANISLAV ORAVEC MD., PHD.



Do galérie výnimočných osobností slovenskej medicíny sa nedávno zaradil aj jubilant – profesor MUDr. Stanislav Oravec, CSc., klinik internista–endokrinológ, lipidológ a laboratórny lekár – klinický biochemik, hlavný odborník Ministerstva zdravotníctva SR pre odbor klinická biochémia. Významné životné jubileum je okrem blahoprianí zároveň aj vhodnou príležitosťou na poobhliadnutie sa späť a krátke zhodnotenie jeho odborného a profesijného života.

Prof. MUDr. Stanislav Oravec, CSc. sa narodil 25. júla 1948 v Bratislave do lekárskej rodiny. Jeho otec MUDr. Dionýz Oravec bol prvým asistentom akademika Dérea a jeho nástupcom in spe na I. Internej klinike. To sa však po roku 1948 nezrealizovalo, keďže dostal poverenie založiť na I. Internej klinike Lekárskej fakulty v Bratislave nový odbor internej medicíny – klinickú endokrinológiu a možno ho považovať za zakladateľa klinickej endokrinológie na Slovensku. Matka, MUDr. Cecília, bola detskou lekárkou. Prvé roky svojho života prežil malý Stanislav, spolu s rodičmi na lekárskej izbe I. Internej kliniky Lekárskej fakulty UK v Bratislave.

Už počas stredoškolských štúdií ho zaujímali prírodovedné predmety, osobitne chémia, ktorá predurčila v roku 1966 jeho rozhodnutie pre štúdium medicíny, i keď v sebe pociťoval túžbu venovať sa profesionálne výtvarnému umeniu. Určitý čas ešte pokračoval v súkromnom štúdiu

u prof. Jozefa Kostku, ktorý ho považoval za svojho talentovaného žiaka; venoval sa figurálnej tvorbe – vytvoril plastiky, portréty, či sochy, reliéfy i menšie artefakty tesané do mramoru, ktoré majú vysokú výtvarnú hodnotu.

Popri štúdiu medicíny pracoval ako vedecká pomocná sila na Katedre biochémie u prof. Timoteja Turškého. Štúdium na Lekárskej fakulte UK v Bratislave ukončil v roku 1972 s titulom “*medicinae universae doctor*”. To, že na Katedru biochémie po skončení štúdia nakoniec napriek očakávaniu na oboch stranách nenastúpil, bolo dôsledkom politických čistiek po roku 1968, ktoré postihli aj profesora Turškého o núteným odchodom z pozície vedúceho katedry Klinickej biochémie Lekárskej fakulty.

Hlboký vzťah k biochémií ho priviedol najprv do Výskumného ústavu pre liečivá (tu sa venoval sledovaniu farmakokinetiky beta–blokátorov na modeli in vivo experimentálneho zvieratá), ale vzápätí nastúpil v roku 1973 na Oddelenie klinickej biochémie Fakultnej nemocnice v Bratislave. Počas práce na oddelení absolvoval svoju prvú atestáciu z klinickej biochémie na vtedajšom Inštitúte pre ďalšie vzdelávanie lekárov a farmaceutov v Bratislave (1977). Jeho školiteľ akademik prof. MUDr. T. R. Nierland DrSc. vtedy (2.5.1977) zhodnotil Dr. Oravca takto: „Ide o seriózneho pracovníka s neobyčajným zápalom a záujmom pre odbor. Počas počas školiaceho štúdia (u akademika Nierlanda) Dr. Oravec

teoreticky objasnil vznik hyperurikémie defektom enzýmu hypoxantín–guanín–fosforibozyltransferázy“ (čo je podkladom Lesch-Nyhanovho syndrómu, objasneného v roku 1964).

Na jeseň 1981 sa v jeho živote udial jeden z malých zázrakov – možnosť absolvovať ročný študijný pobyt v Rakúsku na Institut für Medizinische Biochemie Karl-Franzens Universität v Grazi. Stáž absolvoval u prof. Gerharda K o s t n e r a, lipidológa, ktorý sa vrátil z USA, kde pôsobil v laboratóriu u prof. P. A l a u p o v i c a, zakladateľa „*modern field of lipoproteins*“ na Oklahoma Medical Research Foundation. Tu aj mladý Dr. O r a v e c mohol pracovať práve v oblasti diagnostiky porúch metabolizmu lipoproteínov, čo bolo výrazným impulzom pre jeho ďalšie profesné zameranie a tvorbu vlastných výskumných zámerov, ktoré korešpondovali s výskumami tohto laboratória a boli začiatkom dlhoročnej spolupráce s prof. K o s t n e r o m, ktorá pretrváva prakticky dodnes.

Po návrate pracoval na II. internej klinike ako sekundárny lekár a pripravoval sa na ďalšiu atestáciu – z vnútorného lekárstva (1981). V tomto období sa mu darilo realizovať niečo, o význame a dôležitosti čoho bol hlboko presvedčený, a to prepojenie klinickej práce s výskumnou prácou v klinickom laboratóriu (dovtedy chápané striktné oddelene) ako niečo prirodzené na univerzitnom pracovisku. Vytvoril a viedol ambulanciu pre poruchy metabolizmu lipidov na Oddelení klinickej biochémie FN v Bratislave, kde zaviedol nové laboratórne metódy v diagnostiku porúch metabolizmu lipoproteínov.

Výsledky výskumnej práce zo študijného pobytu v Grazi prezentoval na viacerých vedeckých sympóziách a kongresoch doma a v zahraničí (Drážďany 1979, Bratislava 1980, Graz, Budapešť 1983, Moskva 1984, Košice, Praha, Drážďany 1985, Berlín, Brno 1986, Hydarabad 1989, Viedeň 1989).

V rokoch 1983 – 1985 sa popri práci v endokrinologickej ambulancii pripravoval na atestáciu z endokrinológie, absolvoval študijný pobyt v Odbornom liečebnom ústave endokrinologickom v Ľubochni. Atestačnú skúšku z endokrinológie na ILF absolvoval v roku 1985. V rámci práce na endokrinologickej ambulancii poskytoval aj odborné endokrinologické služby na Gynekologickej klinike LFUK-FN na Šulekovej ulici. Do praxe zaviedol gonadorelínový test pre diagnostiku ovariálnej insuficiencie s cieľenou liečbou infertilných žien. To je oblasť, ktorej sa mimoriadne úspešne v endokrinologickej ambulancii venuje doteraz a jeho

výsledky podčiarkujú význam endokrinologickej diagnostiky v liečbe infertility. Viedol tiež ambulanciu pre poruchy metabolizmu lipidov na OKB-FN.

Vedený záujmom rozšíriť svoju pôsobnosť, prípadne pracovať aj v zahraničí absolvoval kurz medicíny trópov a subtrópov na ILF v roku 1989 a získal certifikát pre prácu v trópoch.

Z rozhodnutia vtedajšieho riaditeľa FN bol však v roku 1988 preložený na Interné oddelenie NsP Ružinov, kde pôsobil ako ordinár pre endokrinológiu a viedol Endokrinologickú ambulanciu, povedľa konziliárnej praxe internistu. Na II. Internú kliniku FN sa vrátil začiatkom roka 1991 ako ordinár pre klinickú endokrinológiu a vedúci laboratória na klinike. Tu nastúpil aj svoju akademickú kariéru.

V tomto období absolvoval viacero pracovných pobytov: Institut für Endokrinologie und Nuklearmedizin Berlin-Buch, Department of Endocrinology of Birmingham University, UK a štipendijný pobyt v AKH Viedeň, Innere Medizin III, Ambulancia pre poruchy štítnej žľazy, prof. W. Waldhäusl.

V rokoch 1992 - 1994 si počas študijného pobytu na INSERM Université de Paris VI, Hôpital Broussais, Laboratoire des Eicosanoides, prof. A. H o r n y c h a prof. M. K a z a t c h k i n e, osvojil metódy analýzy prostanoïdov v biologických tekutinách a metódy kultivácie ľudských endotelových buniek HUVEC. Výsledky spolupráce s francúzskymi kolegami prezentoval na viacerých medzinárodných sympóziách a kongresoch (Paríž, Dijon, Amsterdam, Florencia, Bratislava, Olomouc) a publikované boli v domácich i zahraničných vedeckých a odborných časopisoch.

V roku 1995 úspešne obhájil dizertačnú prácu „Lipoproteíny plazmy v diferenciálnej diagnostike cholestatických ochorení pečene“ a získal hodnosť kandidáta lekárskeho vied (CSc.).

V rokoch 1996 – 1998 vybudoval metabolické laboratórium na II. Internej klinike LF UK-FN pre prácu s ľudskými endotelovými bunkami a možnosťami analýzy prostanoïdov v plazme u pacientov s arteriálnou hypertenziou. Toto laboratórium však bolo v roku 1998 zrušené.

V tomto období výsledky svojich prác publikoval v monografii „Lipoproteíny v diagnostike interných ochorení“ (Vydavateľstvo SAV, Bratislava, 1999).

Roku 2000 získal vedecko-pedagogickú hodnosť docent pre odbor vnútorné choroby.

Posledným dlhším zahraničným pobytom doc. Oravca bola v rokoch 2001–2004 práca experta pre Ministry of

Health, State of Kuwait. Okrem prednášok a vedenia seminárov ho práca vedúceho biochemického - prístrojovo nadštandardne vybaveného - laboratória priviedla na myšlienku využívať metódu Lipoprint LDL System na hĺbkovú analýzu subfrakcií lipoproteínového spektra. Túto originálnu analytickú metódu - Lipoprint LDL System - na kvantitatívnu analýzu aterogénnych a neaterogénnych lipoproteínov a na určovanie aterogénneho/neaterogénneho lipoproteínového profilu u pacientov s poruchou metabolizmu lipoproteínov zaviedol doc. O r a v e c aj vo Viedni v Labor Dr. Dostal a navrhol aj novú interpretáciu analýzy lipoproteínových parametrov. Doc. O r a v e c sa jej odvtedy venoval nielen vo Viedni, ale aj na II. Internej klinike LF UK a neskôr na I. Internej klinike LF UK v Bratislave. Výsledky zo súboru viac ako tisíc vyšetrených pacientov poskytujú nielen empirické dôkazy ale aj "evidence based medicine" pre poruchy metabolizmu lipoproteínov, ich liečbu, ako aj pre prevenciu rozvoja aterogenézy.

Po roku 2004 pokračoval v pedagogickej a vedeckej práci na LFUK v odbore vnútorné lekárstvo, propedeutika vnútorného lekárstva, viedol praktickú výučbu domácich i zahraničných študentov Lekárskej fakulty UK, zúčastňoval sa na odborných konferenciách a kongresoch doma a v zahraničí. Naďalej pokračoval aj v konzultačnej práci v Krankenanstalten Labor Dr. Dostal vo Viedni, ako i v konzultáciách v klinickej endokrinológii, pri poruchách metabolizmu lipoproteínov, v klinickej biochémií a laboratórnej medicíne. Viedol diplomové práce študentov, bol odborným školiteľom piatich úspešných doktorandov s tematickými okruhmi : dyslipoproteinémiá, aterogénny vs. neaterogénny lipoproteínový profil u M.Gilbert, lipoproteínový profil u novo diagnostikovanej hypotyreóze, hyperbeta-lipoproteinémiá, vplyv hypolipemickej liečby statínmi na lipoproteiny séra, lipoproteínové spektrum u pacientov s prekonanou mozgovou príhodou a u pacientov s ochoreniami srdca a ciev.

V roku 2005 absolvoval atestáciu z laboratórnej medicíny na SZU Bratislava a získal certifikát pre prácu v štátoch Európskej únie.

Je autorom viacerých vysokoškolských učebníc a skrípt. Vo vedecko-výskumnej práci bol na báze viacerých grantov MŠ SR, MDVRR-SR v roku 2006 zodpovedným riešiteľom výskumných projektov: Zavedenie určovania LDL-subpopulácií na Internej klinike LFUK – Lipoprint LDL System, viedol tiež výskumnú spoluprácu s klinikami a pracoviskami LFUK, s Österreichische Gesellschaft für Bioanalytik, viedenskou

univerzitou, univerzitou v Grazi a to v oblasti porúch metabolizmu lipoproteínov. Okrem toho pokračoval vo výskumnej spolupráci s Labor Dr. Dostal vo Viedni. Výsledkom tejto práce sú dve monografie (Lipoproteins – Role in Health and Diseases, InTech, 2012, Lipoproteins - Lipoproteins from Bench to Bedside, InTech, 2014) a najmenej 160 publikácií in extenso.

Od roku 2008 profesor Oravec v spomienke na svojho otca založil tradíciu organizovania Memoriálu MUDr. Dionýza Oravca, zakladateľa klinickej endokrinológie na Slovensku, na pracoviskách II.Internej kliniky a I.Internej kliniky LFUK–UNB.

V roku 2009 sa stal aj vedúcim lekárom a konateľom Preventívneho a liečebného centra s.r.o. v Bratislave. Originálnym a významným počinom bol v roku 2011 jeho návrh novej klasifikácie dyslipoproteinémií podľa lipoproteínového profilu: aterogénne vs. neaterogénne.

Až v roku 2014 po inauguračnej prednáške pred Vedeckou radou Univerzity Komenského v Bratislave sa dr. Oravec stal profesorom vnútorného lekárstva. V jednomyselne uznanlivo naladenom publiku na vedeckej rade sa ozval hlas: „Kolegovia, to, čo sme dnes počuli, tak má vyzerať profil profesora medicíny. Mali by sme si však položiť otázku, prečo pred nami kolega O r a v e c stojí až dnes?“

Od mája 2016 je prof. O r a v e c menovaný hlavným odborníkom MZ SR pre klinickú biochémiu, túto funkciu vykonáva dodnes. V roku 2020 sa ako hlavný odborník MZ SR pre klinickú biochémiu stal členom Krízového štábu ÚV SR pre rýchlotesty na diagnostiku COVID-19 v tíme Dr. Roberta M i s t r í k a.

V roku 2022 vydal spolu s doc. P. B l a ž í č k o m monografiu Endokrinológia pre všeobecných a praktických lekárov.

Je členom Slovenskej lekárskej spoločnosti – Slovenskej internistickej spoločnosti, Slovenskej endokrinologickej spoločnosti, Slovenskej spoločnosti klinickej biochémiie, člen Slovenskej Lekárskej komory.

Za jeho celoživotnú prácu bol profesor O r a v e c ocenený viacerými poctami a vyznamenaniami. V roku 1998 mu bola udelená cena Slovenskej spoločnosti pre klinickú biochémiu pri SLS za najlepšiu publikáciu za rok 1997 za súbor prác s lipoproteínovou problematikou; v 2018 získal Striebornú medailu za rozvoj Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave; v roku 2018 mu bola udelená prémiová cena Slovenského literárneho fondu za rozvoj vedy doma i v zahraničí.

V roku 2022 mu bola na návrh Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie udelená vysoká pocta Slovenskej lekárskej spoločnosti – Strieborná medaila „Propter merita“.

Zhodnotiac celoživotný prínos a dielo jubilanta, profesora MUDr. Stanislava Oravca, CSc., možno s úctou a obdivom skonštatovať, že medicína v jej azda všetkých rozličných podobách mu postupne vypĺňala čoraz väčší, ak nie napokon dokonca celý priestor jeho života. V nej sa azda najplastickejšie prejavili všetky talenty dané mu do vienka od Pána Boha:

- schopnosť analyticky uvažovať, prepotrebná pre teoretické disciplíny medicíny ako i pre výskumnú prácu, ktorá mu svojou inovatívnosťou spojenou s exaktnou verifikáciou priniesla výsledky v podobe početných publikácií,

- láskavý, ústretový postoj k pacientovi v jeho celostnosti, ktorý sa z medicíny na jej škodu čoraz viac vytráca,

- otvorenosť pre zdieľanie poznatkov nevyhnutná pre pedagogickú činnosť, ktorú jeho študenti, doktorandi oceňujú ako veľký, nezištný prínos pre štart ich vlastnej kariéry,

a nakoniec

- vnútorná sila kráčať po tejto ceste napriek neprajnosti doby ale i ľudí, ktorú si prekliesňoval prevažne sám, často bez inštitucionálnej podpory, s presvedčením, že tak robí pre rozširovanie medicínskeho poznania, ktoré sa zúročuje v konkrétnej pomoci pacientovi zachovajúc si to najpodstatnejšie – vysoký morálny étos.

S týmto nasadením v medicíne sa prirodzene zužoval priestor pre ostatné talenty, ktorými bol obdarený – napr. športový, ale najmä umelecký: jeho výborný sluch a vzťah ku klasickej hudbe (svoju manželku si o. i. získal, keď doká-

zal prespievať hudobné motívy viacerých Beethovenových symfónií). Tieto talenty sa však akoby preniesli na mladšiu dcéru, ktorá sa hudbe venovala od útleho detstva a stala sa opernou speváčkou, kým staršia dcéra pokračovala v rodinnej tradícii a pracuje ako lekárka.

Za všetkým týmto však treba vidieť i vynikajúce rodinné zázemie, ktoré mu vytvorila a vytvárala po dlhé roky aj jeho pani manželka PhDr. Marianna, pracujúca po dlhé roky v diplomatických službách SR.

Je až neuveriteľné, čo všetko počas svojej dlhoročnej kariéry dokázal profesor Oravec pri svojej skromnosti a pracovitosti realizovať, a tak posunúť latku vedeckého výskumu a jeho aplikácií v klinickej aj laboratórnej praxi ešte vyššie. Svoje vedomosti a skúsenosti odovzdával vďačne a nezištne nielen svojim kolegom a spolupracovníkom, ale najmä v prospech mnohých vďačných vyliečených pacientov. Výsledky jeho práce ako žiarivý maják trvale reprezentujú genius loci slovenskej medicíny aj vo svete.



Profesorovi MUDr. Stanislavovi Oravcovi, CSc. k významnému životnému jubileu v mene celej Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie a priateľov srdečne blahozeláme a do ďalších rokov želáme ešte veľa pracovného elánu, inšpirácií, pevného zdravia a pohody v osobnom živote.

MUDr. Daniel Magula, CSc.,

vedecký sekretár Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie pri SLS

**K VÝZNAMNÉMU ŽIVOTNÉMU JUBILEU Ing. JÁNA BALLU, ZAKLADATEĽA
ODBORNEJ KONFERENCIE LABKVALITA NA SLOVENSKU
ON THE LIFE ANNIVERSARY OF Ing. JÁN BALLA, FOUNDER OF THE
SCIENTIFIC CONFERENCE LABKVALITA IN SLOVAKIA**



Významné životné jubileum, ktoré prednedávnom oslávil, je okrem blahoželaní zároveň aj vhodnou príležitosťou na poobhliadnutie sa späť a zhodnotenie jeho odborného a profesijného života.

Ing. Ján Balla sa narodil 4. augusta 1948 vo Veľkom Šariši, kde absolvoval základnú školskú dochádzku. Stredoškolské vzdelanie získal na Gymnáziu Tarasa Ševčenka (dnes J. A. Raymana) v Prešove. Po maturite ho prijali na Chemicko-technologickú fakultu SVŠT (dnes Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity) v Bratislave, kde promoval v roku 1971.

V rokoch 1973–1975 absolvoval štúdium na Univerzite 17. novembra v Prahe a Právnickej fakulte UK v Bratislave. V rokoch 1975–1977 študoval inštrumentálne biochemické metódy na Masarykovej univerzite v Brne a neskôr v r. 1981–1983 absolvoval štúdium fyzikálnej chémie a klinickej enzymológie na Univerzite Komenského v Bratislave. V r. 1996 bol stážistom vzdelávacieho centra WHO v Birminghame a v r. 1998 v Helsinkách. V r. 2003–2004 absolvoval distančné štúdium štatistických metód v laboratórnej medicíne a v r. 2004 kurz Princípy a aplikácie metrologie v chémii, ktorý organizoval Ústav pre referenčné materiály a merania JRC IRMM Európskej komisie v Geel v Belgicku a pod jeho vedením realizoval v rokoch 1999 a 2003 na Slovensku dva medzinárodné metrologické

programy IMEP 7 a IMEP 17. V rokoch 2004–2005 v spolupráci s Prof. G. Kováčom, Ing. P. Blážíčkom a Ing. M. Farkašom organizoval slovenské externé hodnotenie kvality v klinickej biochémií.

V klinickom laboratóriu NsP v Prešove začal pracovať pod vedením primára MUDr. J. Matiska, jedného zo zakladateľov klinickej biochémií na Slovensku. Neskôr pod vedením primára MUDr. A. Lazoríka a primárky MUDr. H. Pivovarníkovej zotrval 32 rokov v klinických laboratóriách Fakultnej nemocnice J. A. Reimana v Prešove. Potom 10 rokov pôsobil v Analyticko–diagnostickom laboratóriu (ADLA, RNDr. A. Kužmová) v Prešove, kde s oddelením klinickej biochémií, ktoré viedol, dosiahol ako jediným pracoviskom v strednej Európe akreditáciu flexibilného rozsahu. Od r. 2010 sa venuje problematike aj organizácii EHK POCT v Slovenskej a Českej republike.

Ako spomína, žil v dobe, keď klinická biochémiá prešla pol storočia neuveriteľnými zmenami v technike a vede. Dnešným mladým kolegom sa môže zdať neuveriteľné, že meral pomocou Pulfrichovho kolorimetra poskytujúceho jednoduché fotometrické metódy s agresívnymi chemickými činidlami (hydroxid sodný, kyselina sírová atď.), no neskôr sa krok za krokom stretol s výzvou zaviesť moderné sofistikované prístroje a metódy do rutinej laboratórnej praxe. Pohľad späť na zmeny, s ktorými sa stretol v klinic-

kej biochémii za 50 rokov svojej profesionálnej kariéry, sa zdajú neuveriteľné a všetky momenty skvelé.

Nadriadení ho zvyčajne poverili úlohami, ktoré iní nechceli riešiť. Vždy to bral ako príležitosť a novú výzvu, ktorá posúva vpred. Ak máte radi svoju prácu, o motiváciu nie je núdza. Šťastie k vám nepríde náhodou. Šťastie je húževnatosť, čím viac sa potíte, tým ste šťastnejší. Čím tvršie pracujete, tým viac šťastia máte. Upriamuje pozornosť na slávny citát dalajlámu „*Pamätajte, že nikdy nedostat to, čo chcete, je úžasné šťastie*“.

Do klinického laboratória ho neprivedla náhoda. O inštrumentálne analytické metódy sa zaujímal už od mladosti. V čase, keď pôsobil v klinickom laboratóriu, nepoznal osobný počítač, notebook, mobil, dokonca ani automatický analyzátor či POC analyzátor. Všetky testy sa vykonávali manuálne. Časy, keď sa veci začali meniť vďaka IT a poloautomatickým analyzátorom, ho neskutočne vzrušovali. Bolo to obdobie, keď sa kontrola kvality dostala od Tonksovej prípustnej chyby k Westgardovým pravidlám. Mal veľké šťastie, že osobne poznal P. H. Petersena a J. O. Westgarda a mal s nimi možnosť mnohokrát diskutovať. Vďaka im nesmierne za všetko, čo sa od nich naučil a snažil sa to odovzdať ďalej.

Vo svojej profesijnej kariére sa venoval štandardizácii laboratórnych metód, zabezpečeniu a systémom kvality v laboratórnej medicíne, internej kontrole a externému hodnoteniu kvality. V osemdesiatych rokoch minulého storočia bol predsedom slovenskej Štandardizačnej komisie v klinickej biochémii. Dlhodobo sa venoval ekonomike, systematizácii názvoslovia a terminológii v klinickej biochémii s autorským výstupom Anglicko-slovenského terminologického slovníka. Je spoluautorom bodovacieho systému výkonov pre Spoločné vyšetrovacie a laboratórne zložky, na vydanie ktorého intenzívne spolupracoval v r. 1992–1998, a ktorý po nevýznamných zmenách platí dodnes. V nasledujúcich rokoch viedol projekt slovenskej nomenklatúry v laboratórnej medicíne, ktorý ukončil v r. 2000 vydaním „modrej“ knižky pod názvom SNOLA-MED. Až do roku 2010 bol koordinátorom MZ SR pre Katalóg, neskôr Zoznam laboratórnych výkonov v klinickej biochémii, mikrobiológii, hematológii, imunológii, genetike a patológii.

Ján B a l l a pravidelne prednášal, organizoval a viedol doškolovalie kurzy na SZU. V r. 1992 založil a 17 rokov viedol konferenciu s medzinárodnou účasťou LABKVALITA. Niekoľko rokov bol členom Americkej asociácie pre klinickú

chémiu (v júli 2023 premenovanej na *Asociáciu pre diagnostiku a laboratórnu medicínu*) a tiež členom *Českej spoločnosti klinickej biochémie*. 51 rokov je členom SSKB, patrí medzi zakladateľov a aktívnych organizátorov *Sekcie pre klinicko-biochemickú analytiku a techniku*. V rokoch 1984–2014 pôsobil 30 rokov nepretržite ako člen Výboru Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, v ktorom zastával rôzne funkcie, okrem iných aj post viceprezidenta. 5 rokov bol výkonným redaktorom časopisu *Laboratórna diagnostika*. Od r. 2010 doteraz pôsobí v medzinárodných federáciách EFLM a IFCC ako národný reprezentant SSKB a aktívne sa podieľa na činnosti ich niekoľkých pracovných skupín.

Ján B a l l a je autorom samostatných kapitol v troch monografiách, autorom a spoluautorom vyše 40 publikácií v domácich a zahraničných časopisoch, uverejnil vyše 70 príspevkov na web stránke SSKB a prezentoval viac ako 200 prednášok a posterov na Slovensku, Česku, Rakúsku, Chorvátsku, Taliansku, Fínsku, Poľsku, Slovinsku, Švajčiarsku, Veľkej Británii a Austrálii.

Za celoživotný príspevok na poli vzdelávania v oblasti kvality v laboratórnej medicíne mu bola v r. 2009 udelená *Cena prof. Per-Hyltoft Petersena* a v r. 2014 *Ocenenie za podporu kvality a vývoja programov externého hodnotenia kvality*.

SSKB mu v r. 2019 udelila Striebornú medailu SLS Prop-ter merita.

A jeho odkaz pre mladých odborníkov?

Každá doba píše svoje vlastné príbehy a prináša nové problémy, výzvy a príležitosti. Nech ste kdekoľvek a čokoľvek robíte, vždy máte šancu prispieť k rozvoju vašej disciplíny. Nestážujte sa na obmedzenia, na málo príležitostí a veľa problémov. Dovoľte mi parafrázovať slávny výrok JFK „nepýtajte sa, čo vám môže ponúknuť laboratórna medicína – pýtajte sa, čo môžete urobiť pre laboratórnu medicínu“.

V uplynulom roku oslávili s manželkou zlatú svadbu, dôvod sa na chvíľu zastaviť a zrekapitulovať 50-ročnú spoločnú cestu. Ak by mohol ešte raz stráviť svoj život, nič a nikoho, priateľov, či kolegov by nenechal. Prežil svoj život s človekom, ktorý bol silnou osobnosťou a bol mu vždy veľkou oporou. Je svojej manželke za to nesmierne vďačný. Vychovali spolu dvoch skvelých synov a štyri úžasné vnúčatá, ktorým nesmierne verí. Učí ich, že život je krásny, ale nie ľahký, že človek musí prekonať veľa prekážok, aby si splnil svoj sen a že sa nikdy nesmie vzdávať zoči-voči neúspechu, pretože aj ten ho posúva vpred.

A to všetko na základe jeho úžasných vlastností akými sú nesmierna pracovitosť, húževnatosť, vytrvalosť, precíznosť, dôslednosť, ambicióznosť, ochota pomôcť, empatia a priateľskosť, ako aj asertivita, odhodlanie a odolnosť.

Zaujíma sa o históriu. Fascinuje ho, aký pokrok urobila naša disciplína od staroveku až po dnešok. V širšom kontexte sa zaujíma o históriu nášho kontinentu v minulom storočí a snaží sa pochopiť súvislosti, ktoré dominovali Európe dávno pred jej zjednotením. Robí mu veľkú radosť, že môže o týchto veciach diskutovať so svojím vnukom.

Ak má voľný čas a cíti sa fyzicky fit, rád si zájde s manželkou na cyklotúru alebo nordic walking do lesov Vysokých Tatier. Obaja milujú chorvátske more a navštevujú ho každý rok, keď je to možné.

Má rád život.



Ing. Jánovi Ballovi k významnému životnému jubileu v mene celej Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie a priateľov srdečne blahoželáme a do ďalších rokov želáme ešte veľa pracovného elánu, inšpirácií, pevného zdravia a pohody v osobnom živote.

MUDr. Hedviga Pivovarníková

Prezidentka Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie pri SLS



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 18–19

**ZA DOCENTOM Ing. LUKÁČOM HALČÁKOM, CSc.
IN MEMORIAM TO ASSOCIATE PROFESSOR LUKÁČ HALČÁK, MSc., CSc.**



* 5.10.1938 Lipovce pri Prešove
† 14. augusta 2023 Bratislava

Vo veku 84 rokov nás v Bratislave dňa 14. augusta 2023 navždy opustil docent Ing. Lukáč H a l č á k, CSc. – rodák z Lipoviec pri Prešove (nar. 5.10.1938).

Už v mladosti ho upútala chémia, keď sa ako 15-ročný rozhodol študovať na Chemickej priemyselke vo Svite. Po jej skončení pokračoval v štúdiu na Chemickej fakulte Slovenskej vysokej školy technickej v Bratislave. Promócia na *inžiniera chémie* predpokladala, že profesionálne bude pokračovať v chemickom priemyselnom podniku. Viac ho to však ťahalo k vedeckému výskumu, využil preto možnosť nastúpiť ako asistent na vtedajšej Katedre biochémie Lekárskej fakulty UK v Bratislave. Vedúci katedry doc. MUDr. Timotej T u r s k ý, CSc. výskum pracoviska zamerl na novú oblasť – neurochémiu, s aktuálnou problematikou alergickej encefalomyelitídy v experimentálnych i patologických podmienkach, s využívaním progresívnych experimentálnych metód. Intenzívnym pôsobením sa podarilo pracovisku vytvoriť podmienky pre rozvoj neurochémie v Československu. Na katedre vznikla vedecká škola postgraduálneho interného a externého vzdelávania v odbore Biochémia. Aktívnym účastníkom tohto procesu bol aj Ing. L. H a l č á k, ktorý zapôsobil najmä precíznou

experimentálnou prácou. Získal titul CSc. (1975), neskôr v tomto odbore aj habilitoval (1987).

Po spojení katedier - biochémie a lekárskej chémie na LF UK v Bratislave v r. 1981, Ing. H a l č á k bol zapojený do výskumu nukleotidov v mozgu v laboratóriu prof. MUDr. Ivana P e c h á ě ě a, DrSc. a po jeho odchode na terajší Ústav kardiovaskulárnych chorôb sa stal vedúcim vedeckého tímu riešenia viacerých projektov VEGA a UK, zameraných na oxidačný stres (voľné radikály) v mechanizme patobiochemických a patofyziologických zmien organizmu, a na možnosti jeho ovplyvnenia. Je spoluautorom oceňovanej monografie *Voľné radikály a antioxidanty v medicíne II (1999)*. Jeho tím paralelne pokračoval aj v spolupráci s prof. Pecháňom - vo výskume protektívnych režimov pri kardiochirurgických a angiologických operáciách.

Vedľa vedeckej práce bola rozsiahla aj pedagogická činnosť docenta H a l č á k a – ako prednášateľa, examinátora a školiteľa v odbore Biochémia, tiež autora príslušnej študijnej literatúry. K výučbe lekárskej biochémie prispel ako spoluautor učebných textov *Molekulovo-biologické aspekty dedičných procesov* – vybrané kapitoly z funkčnej

biochémie (1991), a celoštátnej vysokoškolskej učebnici Lekárska biochémia (2012). Ani pedagogická činnosť mu nebola záťažou, ale potešením. Špeciálne sa pripravoval na každú prednášku, aby upútal poslucháčov.

Samostatnú kapitolu v živote doc. H a I č á k a tvorili športové aktivity – basketbal, futbal, tenis, lyžovanie atď., kde sa prejavoval aj svojim spoločenským šarmom. Bol

dlhoročným členom FO Slávia Medik na LF UK. Postupné obmedzovanie športovania – v ostatných rokoch až úplné znemožnenie – len veľmi ťažko prežíval.



Čeť jeho pamiatke.

V mene najbližších spolupracovníkov, kolegov a priateľov

Prof. RNDr. Jozef Čársky, CSc., emeritný profesor

Immu F6

Plne automatický POCT Chemiluminiscenčný imunologický Analyzátor

Point-of-care analyzátor spĺňajúci štandardy laboratórnej kvality

- Testovanie priamo z odberovej skúmavky
- 6 testov z jednej vzorky súčasne
- 8 patientských vzoriek súčasne
- 12 rôznych testov okamžite využiteľných v analyzátore
- Laboratórna presnosť a kvalita
- Len 13.5 min do prvého výsledku (prípadne 6 testov v rovnakom čase)
- Možnosť vloženia ďalšej vzorky kedykoľvek v procese merania
- Žiadny zbytočný odpad a expirácia testov (vkladanie aj po jednom teste)
- Jednoduché ovládanie, 3-krokové intuitívne ovládanie
- Okamžitý prenos do informačného systému nemocnice



Test Menu

Kardiálne markery

hs-TnI
CK-MB
NT-proBNP
MYO
H-FABP
sST2
Lp-PLA2
BNP

Markery mozgu

S100*
NSE*

Nádorové markery

PG I *
PG II *
G-17*
CA125
AFP
CA19-9
CA72-4
CA15-3
HER-2
CEA
tPSA*
fPSA*

Zápalové markery

IL-6
CRP+hs-CRP
PCT
SAA
Anti-CCP
HBP*

Funkcia štítnej žľazy

TSH
TT4
FT4
TT3
FT3
TG
Anti-TG
Anti-TPO

Koagulačné markery

D-Dimer
FDP
TAT
TM
PIC
tPAI.C

Metabolizmus

25-OH VD
iPTH
hGH

Plodnosť & Hormóny

β-HCG
PROG
AMH
FSH
LH
E2
TESTO
PRL

Anémia

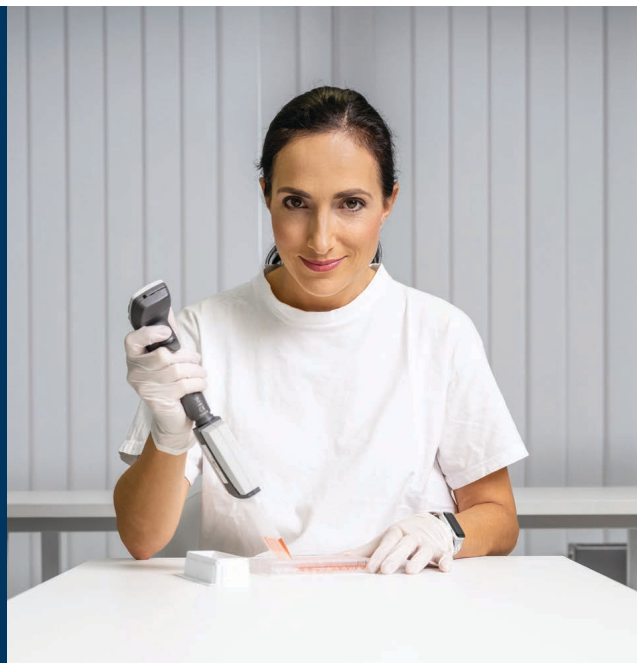
Ferr
Folate
VB12

Distribútor pre SR:

BIOHEM a.s. Zlatovská 2211, 915 05 Trenčín - Slovakia, mobile: +421 911 969 200, e-mail: heger@biohem.sk

Pri IVD, stojíme pri Vás.

Už 30 rokov vyvíjame, vyrábame a distribuujeme špičkové zariadenia pre širokú škálu laboratórnej diagnostiky. Veríme, že inovácie sú cestou k úspešnejšej liečbe pacientov.



Čo je pre nás dôležité

Záujem o človeka

Inovatívne produkty, služby
zákazníkom a firemná kultúra
- všetko, čo robíme,
je v záujme ľudí.

Túžba objavovať

Inovácie a prekonávanie
výziev sú základom nášho
úspechu a dôvodom, prečo
nás naša práca baví.

Hrdosť

Spoločnosť, odvetvie, región -
tri veci, ktoré každý deň
meníme k lepšiemu. Tri veci,
na ktoré sme právom hrdí.

Sme spoločnosť BioVendor LM.
Člen skupiny BioVendor Group.

B|G| BioVendor
R&D[®]

B|G| TestLine[®]

B|G| ViennaLab[®]

B|G| DiaSource[®]

B|G| BioVendor
MDx



www.biovendor.sk



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 20–22

SCREENINGOVÉ PROGRAMY JAKO NÁSTROJ PREVENCE ZÁVAŽNÝCH ONEMOCNĚNÍ SCREENING PROGRAMS AS A TOOL FOR THE PREVENTION OF SERIOUS DISEASES

Springer Drahomíra¹, Koudelková Marcela², Hejčmanová Kateřina³

¹Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP

²Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, Národní screeningové centrum Praha

³Institut biostatistiky a analýz, LF MU, Brno

drahomira.springer@lf1.cuni.cz

SOUHRN

Screeningové programy mají za úkol identifikovat pacienty v časném stádiu onemocnění, kdy ještě není plně rozvinuto a neohrožuje přímo nemocného na kvalitě života, ale je možné již terapeuticky zasáhnout a dosáhnout návratu do plného zdraví s minimálními náklady. Tato skutečnost je významná nejen z hlediska jednotlivců, ale i z pohledu celé společnosti v oblasti ekonomických a sociálních dopadů.

Péče o těhotnou ženu a včasná diagnostika všech závažných onemocnění, která mohou postihnout jak samotnou těhotnou ženu, tak plod, se stává v posledních letech samozřejmostí. Prenatální diagnostika zahrnuje celou řadu vyšetření a je obvykle charakterizována mezioborovou spoluprací.

Vrozené chromozomální vady jsou vyšetřovány již tradičně a jejich kvalita a vyšetřovací postupy se v čase stále vyvíjí a zdokonalují. Nejčastěji prováděný způsob vyšetřování rizika vrozené vývojové vady je kombinovaný test v 1. trimestru. Spočívá ve společném vyhodnocení výsledků biochemického vyšetření (PAPP-A a volné beta podjednotky hCG) a ultrazvukového měření šíjového projasnění u plodu (tzv. nuchální translucence – NT). Tento způsob má senzitivitu asi 85 % při falešné pozitivitě kolem 4-5 %.

Vyšetření volné DNA plodu v krvi matky – neinvazivní prenatální testování (NIPT non-invasive prenatal testing)

je moderní technikou využívající masivní paralelní, nebo cílené sekvenování volné fetální DNA (cffDNA) z krve matky pro detekci chromozomálních vad plodu. Jde o metodu používanou v indikovaných případech hraničního rizika častých aneuploidíí bez ultrazvukového nálezu. NIPT má senzitivitu převyšující 99 %, a falešnou pozitivitu okolo 0,2 %.

Preeklampsie je závažný stav vznikající v těhotenství. Vyskytuje se asi ve 4 – 8 % těhotenství. Je to stav vyznačující se zvýšeným krevním tlakem a bílkovinou v moči (> 0,5 g). Její příčina je v nevyváženosti pro- a protisrážlivých krevních faktorů, tvoří se více faktorů, které navozují zúžení cév. Na rozvoji preeklampsie mají významný podíl angiogenní růstové faktory, PlGF (placental growth factor) a sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1). U žen, které postihne preeklampsie, se hladina sFlt-1 v plazmě se zvýší, zatímco hladina PlGF je oproti normálnímu těhotenství nižší. Na základě kombinovaného poměru sFlt-1/PlGF pak lze rozeznat normální průběh těhotenství od těhotenství provázeného preeklampsií.

Z hlediska prevalence je tyreopatie onemocnění, které významně zatěžuje celou populaci. Prevalence hypotyreózy a/nebo chronické lymfocytární tyreoiditidy je v běžné populaci gravidních žen 10-15 % v zemích s dostatečným jodovým zásobením. V těhotenství se manifestní hypotyreóza, která může mít závažné důsledky pro plod, vysky-

tuje asi u 0,5-1 % žen, subklinická hypotyreóza asi u 2-5 % žen a eufunkční chronická lymfocytární tyreoiditida asi u 10-12 %. Cílovou populací screeningu jsou ženy v časně fázi gravidity, které nejsou dosud léčeny pro tyreoidální dysfunkci. Test se provádí optimálně do 11. týdne těhotenství.

V laboratoři, která má vlastní referenční interval pro TSH v těhotenství, bude proveden „flexní“ tyreoidální test, jehož vyhodnocení zajistí laboratoř. Okamžitým doplněním dalších vyšetření se ušetří jak další odběr krve, tak i čas do zahájení léčby. Laboratoř bude o výsledku testu neprodleně informovat odesílající gynekologické pracoviště a poskytne mu informace o dalším postupu.

Karcinom prostaty patří mezi nejčastější zhoubné nádory u mužů a významné nádorové příčiny úmrtí. Primárním cílem pilotního projektu je využít hodnotu PSA pro rozhodnutí o indikaci k dalšímu došetření, případně biopsii. Cílovou populací pro zařazení do screeningu jsou muži ve věku 50–69 let, bez anamnézy nebo suspekce na karcinom prostaty. Do programu budou zapojováni i pacienti, kteří jsou v dispenzární péči pro jiné onkologické onemocnění ve věku 50-69 let perspektivou dožití nejméně 10 let. Pokud osoba se zařazením do screeningového programu nesouhlasí, bude znovu oslovena každé 2 roky až do dosažení horní věkové hranice pro tento screening. Všeobecný praktický lékař muži vysvětlí důležitost, smysl, význam a možná rizika odběrů na stanovení celkového PSA pro prevenci rakoviny prostaty a informuje jej o dalších krocích, které následují po obdržení výsledků z laboratoře. Pacient je s nimi seznámen a zařazen do příslušné skupiny dle konkrétních hodnot, kde jsou současně stanovena pravidla pro další postup.

Klíčové slova: těhotenství; screening; štítná žláza; preeklampsie; PSA

Podakovanie

Poděkování patří všem gynekologům, genetikům, endokrinologům i dalším odborným lékařům, kteří se v denní praxi zabývají uváděním screeningových programů v život, stejně jako všem laboratorním pracovníkům, bez jejichž práce a výsledků by žádný z těchto programů nebyl možný.

ABSTRACT

Screening programs have the task of identifying patients in the early stages of the disease, when it is not

yet fully developed and does not directly threaten the patient's quality of life, but it is already possible to intervene therapeutically and achieve a return to full health with minimal costs. This fact is significant not only from the point of view of individuals, but also from the point of view of the entire society in terms of economic and social impacts.

Caring for a pregnant woman and early diagnosis of all serious diseases that can affect both the pregnant woman herself and the fetus has become commonplace in recent years. Prenatal diagnosis includes a whole range of examinations and is usually characterized by interdisciplinary cooperation.

Congenital chromosomal defects have been investigated traditionally, and their quality and investigation procedures continue to develop and improve over time. The most frequently performed method of investigating the risk of a congenital developmental defect is a combined test in the 1st trimester. It consists in the joint evaluation of the results of a biochemical examination (PAPP-A and free hCG beta subunits) and an ultrasound measurement of the nuchal translucency (NT). This method has a sensitivity of about 85% with a false positive rate of around 4-5%.

Examination of free fetal DNA in the mother's blood - non-invasive prenatal testing (NIPT) is a modern technique using massive parallel or targeted sequencing to detect fetal chromosomal defects. It is a method used in indicated cases of borderline risk of frequent aneuploidy without an ultrasound finding. NIPT has a sensitivity exceeding 99% and a false positive rate of around 0.2%.

Preeclampsia is a serious condition that occurs during pregnancy. It occurs in about 4-8% of pregnancies. It is a condition characterized by elevated blood pressure and protein in the urine (> 0.5 g). Its cause is an imbalance of pro- and anti-coagulant blood factors, more factors are formed that induce narrowing of blood vessels. Angiogenic growth factors, PIGF (placental growth factor) and sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1) play a significant role in the development of preeclampsia. In women affected by preeclampsia, the plasma level of sFlt-1 is increased, while the level of PIGF is lower compared to normal pregnancy. Based on the combined sFlt-1/PIGF ratio, a normal course of pregnancy can be distinguished from a pregnancy accompanied by preeclampsia.

In terms of prevalence, **thyropathy** is a disease that significantly burdens the entire population. The prevalence

of hypothyroidism and/or chronic lymphocytic thyroiditis in the general population of pregnant women is 10-15% in countries with sufficient iodine supply. In pregnancy, manifest hypothyroidism, which can have serious consequences for the fetus, occurs in about 0.5-1% of women, subclinical hypothyroidism in about 2-5% of women, and eufunctional chronic lymphocytic thyroiditis in about 10-12%. The target population of the screening is women in the early stages of pregnancy who have not yet been treated for thyroid dysfunction. The test is optimally performed until the 11th week of pregnancy. In a laboratory that has its own reference interval for TSH in pregnancy, a "flex" thyroid test will be performed, the evaluation of which will be provided by the laboratory. The laboratory will immediately inform the sending gynecological workplace about the test result and provide it with information on the next procedure.

Prostate cancer is among the most common malignant tumors in men and an important cancer cause of death. The primary goal of the pilot project is to use the PSA value to decide on the indication for further investigation or biopsy. The target population for inclusion in the

screening is men aged 50–69 years, without a history or suspicion of prostate cancer. If the person does not agree to be included in the screening program, they will be approached again every 2 years until reaching the upper age limit for this screening. The general practitioner will explain to the man the importance, meaning, significance and possible risks of total PSA tests for the prevention of prostate cancer and inform him of the next steps that follow after receiving the results from the laboratory. The patient is introduced to them and assigned to the appropriate group according to specific values, where the rules for the next procedure are also determined.

Key words: pregnancy; screening; thyroid; pre-eclampsia; PSA

Acknowledgments

Thanks go to all gynecologists, geneticists, endocrinologists and other specialist doctors who are involved in the implementation of screening programs in daily practice, as well as to all laboratory workers, without whose work and results none of these programs would be possible



Laboratorna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 23–24

NOVÉ PŘÍSTUPY K ŘÍZENÍ DOKUMENTACE A TVORBĚ LABORATORNÍ PŘÍRUČKY NEW APPROACHES TO THE LABORATORY DOCUMENT CONTROL AND LABORATORY HANDBOOK

Jabor Antonín^{1,2}

¹ Pracoviště laboratorních metod, IKEM, Praha

Department of Laboratory Methods, IKEM, Prague

² Ústav imunologie a klinické biochemie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Department of Immunology and Clinical Biochemistry, 3rd Medical Faculty, Charles University, Prague

anja@ikem.cz

ÚVOD

Nová ISO 15189:2022 nevyžaduje ani Příručku kvality, ani Laboratorní příručku. Nicméně požadavky na řízení dokumentace a informování pracovníků laboratoře a uživatelů služeb laboratoře jsou jasně deklarované. V bodě 7.2.2 je v podstatě popsána struktura Laboratorní příručky, v dalších bodech (především 7.2.3, 7.2.4, 7.2.5, 7.2.6) jsou uvedeny další požadavky (požadování, odběry, transport, příjem vzorků). V bodě 7.3.6, bod f) se uvádí „Všechny dokumenty, které mají spojitost s prováděním laboratorních vyšetření, musí podléhat řízení dokumentů“ a konkrétní požadavky na řízení dokumentů jsou dále uvedeny v kapitole 8.3.2, požadavky na řízení záznamů v kapitole 8.4. Aby byly naplněny nejen uvedené požadavky, je nutné využívat systém elektronického řízení dokumentace laboratoře.

METODY

Analytický a kritický rozbor nového počítačového produktu pro řízení dokumentace laboratoře.

CÍLE

Ukázat možnosti řízení dokumentace prostřednictvím nového systému slp.blue v klinické laboratoři a přípravu laboratorní příručky ve webovém rozhraní.

INTRODUCTION

The new ISO 15189:2022 requires neither a Quality Manual nor a Laboratory Manual. However, the requirements for documentation management and information for laboratory personnel and users of laboratory services are clearly stated. Clause 7.2.2 basically describes the structure of the Laboratory Manual, while other clauses (mainly 7.2.3, 7.2.4, 7.2.5, 7.2.6) provide additional requirements (requesting, collection, transport, receipt of samples). Section 7.3.6, part (f) states „All documents associated with the performance of laboratory tests shall be subject to document control“ and specific document control requirements are further outlined in Section 8.3.2 and records management requirements in Section 8.4.

METHODS

Analytical and critical analysis of a new computer product for laboratory documentation management.

OBJECTIVES

To demonstrate the potential of documentation management through the new slp.blue system in the clinical laboratory and the preparation of a laboratory manual in a web-based interface.

VÝSLEDKY

Popisovaný systém slp.blue zajišťuje jednoznačnou identifikaci dokumentů, elektronicky řízený proces jejich tvorby, kontroly, schvalování, revizí, distribuce a případného tisku, ochrany před nežádoucími změnami, zabránění použití zastaralých dokumentů a archivaci. Laboratorní příručka je v systému koncipována jako plně elektronická, webová, s okamžitou aktualizací a zveřejněním všech změn.

ZÁVĚRY

Popisujeme efektivní systém pro správu laboratorní dokumentace včetně elektronického řízení dokumentů a webovou Laboratorní příručku pro informování odborné i laické veřejnosti. Systém provozuje specializované pracoviště IKEM, zahrnující téměř všechny typy laboratorních oborů.

Klíčová slova: dokumentace v laboratoři; laboratorní příručka; ISO 15189

RESULTS

The described slp.blue system ensures unambiguous identification of documents, electronically controlled process of their creation, control, approval, revision, distribution and possible printing, protection against unwanted changes, prevention of use of obsolete documents and archiving. The laboratory manual is designed in the system as a fully electronic, web-based system, with immediate updating and publication of all changes.

CONCLUSIONS

We describe an effective system for laboratory documentation management, including electronic document management and a web-based Laboratory Manual to inform both the professionals and patients. The system was tested and is operated by a specialized department of IKEM, covering almost all types of laboratory disciplines.

Keywords: laboratory documentation; laboratory manual; ISO 15189



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 25–25

INTEGRATIVE DIAGNOSTICS: ROLE OF LABORATORY MEDICINE

Plebani Mario

Honorary Professor of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology, University of Padova, Italy
Adjunct Professor, Department of Pathology, University of Texas, Medical Branch, Galveston - USA

mario.plebani@unipd.it

Recent progress in diagnostic testing has the potential to enable more accurate diagnosis and improved clinical outcomes. However, diagnostic data are fragmented, being produced and delivered within the “silo” of each diagnostic discipline, and the electronic health record does little to synthesize existing data to be translated in actionable information. Therefore, despite great promise, diagnoses may still be incorrect, delayed, or never made. Integrated diagnostics (ID) represents a vision for the future, wherein laboratory, pathology and imaging data, together with clinical information, are aggregated to support through expert systems, algorithms based on machine learning and artificial intelligence the provision to clinicians of a more actionable diagnostic information. Michael L. Wilson and Colleagues have suggested the need for integrating pathology and laboratory medicine services, thus creating the acronym PALM (pathology and laboratory medicine) (Wilson et al., 2019). A further integration which is receiving increasing interest and concern is that between clinical laboratories, pathology and radiology. In 2020, the European Society of Radiology (ESR) and the European Federation of Laboratory Medicine (EFLM) signed a memorandum of understanding confirming international support of integrative diagnostics (ID) between both disciplines (European Society of Radiology, n.d.). Lippi and Plebani, in a recently published paper, have emphasized that “better comprehension of several biological pathways, coupled with emerging technological advances, will

foster a paradigm shift in the way diagnostics has been for long acknowledged, paving the way to a new model of healthcare where integration of many different data will be more rapid, efficient and straightforward. This, in turn, may facilitate the acknowledgment, right interpretation and utilization of diagnostic information for an effective clinical reasoning and patient management” (Lippi and Plebani, 2020). Advanced information technology (IT) is needed for implementing ID and improving diagnostics. Innovative training models, new cultural and professional knowledge and skills are fundamental requisites for future laboratory professionals (Plebani et al., 2019).

REFERENCES

- 1. European Society of Radiology (no date):** ESR reaches out to clinical chemistry and laboratory medicine. Available at: <http://www.myesr.link/Mailings/esr@work-september-2019/>
- 2. Lippi, G., Plebani, M. (2020):** Integrated diagnostics: the future of laboratory medicine? *Biochem Med (Zagreb)* 2020; 30(1). doi: 10.11613/BM.2020.010501.
- 3. Plebani, M., Laposata, M., Lippi, G. (2019):** A manifesto for the future of laboratory medicine professionals. *Clin Chim Acta* 2019; 489:49-52. doi: 10.1016/j.cca.2018.11.021.
- 4. Wilson, M.L. et al. (2019):** The Lancet Commission on diagnostics: advancing equitable access to diagnostics. *Lancet* 2019; 393(10185):2018-2020. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31052-9.



Laboratorna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 26–26

**VZDĚLÁVÁNÍ V KLINICKÉ BIOCHEMII/LABORATORNÍ MEDICÍNĚ
Z PERSPEKTIVY ČR A EFLM: JAKÝ JE ZÁJEM O OBOR, INFORMAČNÍ ZDROJE
A PŘÍLEŽITOSTI K ODBORNÉMU ROZVOJI**
**EDUCATION IN THE FIELD OF CLINICAL BIOCHEMISTRY/LABORATORY MEDI-
CINE IN THE CZECH REPUBLIC AND FROM THE EFLM PERSPECTIVE: INFORMA-
TION RESOURCES AND PROFESSIONAL DEVELOPMENT OPPORTUNITIES**

Rajdl Daniel

Ústav klinické biochemie a hematologie, Lékařská fakulta v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň

rajdl@fnplzen.cz

SOUHRN

Prezentaci uvedeme souhrnem organizace pre- a postgraduálního vzdělávání v ČR a motivací mladých kolegů do oboru nastoupit. Navážeme úlohou Evropské federace klinické chemie a laboratorní medicíny (EFLM), která sdružuje odborné společnosti laboratorní medicíny (LM) z celé Evropy a nabízí celou řadu příležitostí k odbornému růstu expertů LM. V prezentaci představíme informační zdroje (např. Evropský syllabus formou multimediálního kurzu, webináře, el. knihy a odborné časopisy) sdružené pod EFLM Academy a možnosti odborných stáží v zahraničí (EFLM LabX, IFCC PEP). Vyzdvihneme projekty EFLM, do kterých se můžete aktivně zapojit (sekce Young Scientists, odborné pracovní skupiny). Nezapomeneme ani na aktivity zaměřené na propagaci LM odborné i laické veřejnosti (European Laboratory Day a Laboratory Week).

Klíčové slova: EFLM; vzdělávání; specializace; laboratorní medicína

ABSTRACT

We will introduce the presentation with a summary of the organisation of pre- and postgraduate education in the Czech Republic and the motivation of young colleagues to enter the field. We will follow up with the role of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM), which brings together professional societies of laboratory medicine (LM) from across Europe and offers a range of opportunities for professional growth for LM experts. In this presentation, we will introduce the information resources (e.g. European Syllabus in the form of multimedia course, webinars, e-books and professional journals) associated under the EFLM Academy and the opportunities for fellowships abroad (EFLM LabX, IFCC PEP). We will highlight EFLM projects in which you can actively participate (Young Scientists section, expert working groups). We will not forget the activities aimed at promoting LM to the professional and general public (European Lab Day and Laboratory Week).

Key words: EFLM; education; specialization; laboratory medicine



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 27–27

KVALITNÁ LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V SR – MÁME ZÁUJEM? QUALITY IN LABORATORY DIAGNOSTICS IN SLOVAKIA – DO WE CARE?

Sečník Peter

SK-LAB s.r.o. – klinické laboratórium, Lučenec

peter.secnik@sklab.sk

SÚHRN

Podobne ako celé zdravotníctvo na Slovensku prechádza aj oblasť laboratórnej diagnostiky za posledné desaťročia mnohými zmenami. V predkladanej práci prezentujeme pohľad na kvalitu v laboratórnej diagnostike cez oblasti, ktoré ju ovplyvnili a ovplyvňujú podstatným spôsobom:

- legislatíva, financovanie
- organizácia, personálna oblasť
- vzdelávanie, odbornosť
- technológie, automatizácia
- digitalizácia, komunikácia

Negatívne trendy, ktoré zaznamenávame v SR vo vývoji vo viacerých z uvedených oblastí majú svoj dopad aj na kvalitu laboratórnej diagnostiky. Iniciatívy a stanoviská odbornej komunity sú často nahradzované neodbornými a nesystémovými krokmi. Situácia na Slovensku sa tak v tejto oblasti v porovnaní s ostatnými krajinami Európskej únie vyvíja nepriaznivo.

V prezentácii sa zamýšľame nad možnými riešeniami, ktoré by smerovali k zastaveniu negatívneho vývoja a vytvorili podmienky pre kvalitnú a efektívnu laboratórnu diagnostiku v súlade s požiadavkami modernej medicíny.

Kľúčové slová: laboratórna diagnostika; kvalita; financovanie; vzdelávanie

ABSTRACT

Like the entire healthcare sector in Slovakia, the field of laboratory diagnostics has undergone many changes over the past decades. We present a view of quality in laboratory diagnostics through the areas that influence it in a significant way:

- legislation, financing
- organization, human resources
- education, expertise
- technologies, automation
- digitization, communication

The negative trends that we observe in the Slovak Republic in several of the aforementioned areas also have an impact on the quality of laboratory diagnostics. Efforts to maintain and develop quality on the part of the professional community are often replaced by unprofessional and non-systemic solutions. Thus, the situation in Slovakia is developing unfavourably compared to other countries of the European Union.

In our presentation, we discuss the possibilities and methods that would lead to stopping the negative development and create conditions for high-quality and effective laboratory diagnostics in accordance with the requirements of modern medicine.

Key words: Laboratory diagnostics; quality; financing; education



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 28–29

SÚČASNOSŤ A BUDÚCNOSŤ KLINICKEJ BIOCHÉMIE V SR - PERSONÁLNY ROZVOJ, MOTIVÁCIA NOVEJ GENERÁCIE PRESENT AND FUTURE OF THE CLINICAL BIOCHEMISTRY IN SLOVAKIA - PERSONAL PROGRESS AND A NEW GENERATION MOTIVATION

Pivovarníková Hedviga
FNsP J.A.Reimana Prešov

pivovarnikova@fnspresov.sk

SÚHRN

Klinická chémia a laboratórna medicína je srdcom modernej zdravotnej starostlivosti a zohráva dôležitú úlohu pri skríningu chorôb, diagnostike, hodnotení rizika, výbere liečby, monitorovaní liečby, prognóze a ďalších aspektoch klinického rozhodovania. Je preto základom efektívnej starostlivosti o pacienta. Pacienti naprieč Európou majú právo očakávať vysoké štandardy laboratórnej medicíny kdekoľvek sa nachádzajú v systéme zdravotnej starostlivosti.

Nová generácia lekárov v odbore klinická biochémia chýba. Súčasná generácia skúsených odborníkov postráda nástupcov a pokračovateľov. Nastupujúca generácia má vysoké očakávania a iný vkus. Potrebuje nájsť nové prístupy, zmysluplnú prácu a získať spoločenskú prestíž.

Nová generácia študentov medicíny, generácia Z (Gen Z), nazývaná aj „Zoomeri“ 1996 – 2009 (Post-Millennials, iGeneration, Plurals...) nasleduje po generácii Y (Millennials) „Deti milénia“ 1980 – 1995. Generácia Y je predchodcom generácie Alfa (Gen Alfa) 2010 po súčasnosť (screenedžeri generácia skla). Ide o prvú generáciu, ktorá má definovaný štartovací rok narodenia pre 21. storočie. Väčšina členov generácie Alfa sú potomkovia Generácie Y.

Väčšia časť členov generačnej kohorty Z sú potomkovia generácie X, ale môžu byť medzi nimi potomkovia Mileniálov, sa stáva prevládajúcou populáciou na lekárskech

fakultách a o niekoľko rokov sa pripojí k pracovnej sile.

Nie je jasné, aké atraktívne je stále lekárske povolanie pre študentov stredných škôl generácie Z, aká motivácia vedie študentov generácie Z k ich rozhodnutiu študovať humánnu medicínu a ako vidia svoju profesionálnu budúcnosť. Najdôležitejšími kritériami pri výbere študijného odboru je samotný záujem o odbor, príjem a istota zamestnania, pomoc a liečenie ľudí stále zostáva pre študentov hlavnou motiváciou. Aj altruizmus je veľmi dôležitým motivačným faktorom pre mladých ľudí študovať medicínu. Majú vysokú ochotu podávať výkony, pričom zdieľajú mnohé hodnoty s predchádzajúcimi generáciami.

Aby aj v súčasnosti už generácia pracujúca v odbore klinickej biochémie a laboratórnej medicíny bola viac aktívna a viditeľná, predpokladá to aj členstvo a aktivity v odborných organizáciách, akými sú Slovenská lekárska spoločnosť (SLS) a jej odborných spoločnostiach, a to členstvo v Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, ktorá je riadnym členom Európskej federácie klinickej chémie a laboratórnej medicíny (EFLM) a Medzinárodnej federácie klinickej chémie a laboratórnej medicíny, je veľmi dobrá príležitosť naplniť vyššie uvedené očakávania.

Kľúčové slová: edukácia; medicína; motivácia; generácia

ABSTRACT

Clinical Chemistry and Laboratory Medicine are at the heart of modern healthcare and play a vital role in screening for disease, diagnosis, risk assessment, treatment selection, monitoring of therapy, prognosis, and other aspects of clinical decision-making. It is thus central to effective patient care. Patients across Europe have the right to expect high standards of Laboratory medicine wherever they are in the healthcare system.

In the field of clinical biochemistry, a new generation of doctors is missing. The current generation of experienced professionals lacks successors and followers. The upcoming generation of doctors has high expectations and different tastes. They need to find new approaches, meaningful work, and to reach social prestige.

A new generation of medical students, Generation Z (Gen Z), also called „Zoomers“ 1996-2009 (Post-Millennials, iGeneration, Plurals...) follows Generation Y (Millennials) „Children of the Millennium“ 1980-1995. Generation Y is the predecessor of the generation Alfa (Gen Alfa) 2010 to present (screen generation). This is the first generation that has a defined starting year of birth for the 21st century. Most members of Generation Alpha are descendants of Generation Y.

The majority of Generation Z cohort members are descendants of Generation X, but they may include Millennials, becoming the predominant population in the Medical schools and joining the workforce within a few years.

It is unclear how attractive the medical profession is still for Gen Z high school students. What motivation drives Gen Z students to study human medicine, and how do they see their professional futures? The most important criteria when choosing a field of study are the

interest in the field itself, income, and job security. Healing and serving people still remain the main motivation for students. As a very important motivating factor for young people to study medicine altruism stands as well. They have a high willingness to serve high performance, sharing many values with previous generations.

For the generation already working in the field of clinical biochemistry and laboratory medicine to be more active and visible, this requires being an active member of scientific organizations. Slovak Medical Society (SLS), namely the Slovak Society of Clinical Biochemistry (SSCB), which is a full member of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) and International Federation of the Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, is a very good opportunity to fill up above mentioned expectations.

Key words: education; medicine; motivation; generation

REFERENCES

1. Holzer, B. M. et al. (2022) 'Motivation and personality factors of Generation Z high school students aspiring to study human medicine', BMC Medical Education. doi: 10.1186/s12909-021-03099-4.
2. Shanafelt, T. D. et al. (2019) 'Burnout Among Physicians Compared With Individuals With a Professional or Doctoral Degree in a Field Outside of Medicine', Mayo Clinic Proceedings, 94, pp. 549–551. doi: 10.1016/j.mayocp.2018.12.031.
3. Generácia X – Wikipédia (no date). Available at: https://sk.wikipedia.org/wiki/Generácia_X (Accessed: 5 September 2023).



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 30–31

PREEKLAMPSIE A HELLP SYNDROM – ROZBOR KAZUISTIKY PREECLAMPSIA AND HELLP SYNDROME – CASE STUDY ANALYSIS

Racek Jaroslav

Ústav klinické biochemie a hematologie Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Plzni, Česká republika

racek@fnplzen.cz

SOUHRN

Preeklampsie představuje závažnou komplikaci posledního trimestru těhotenství, mající za následek 18 % úmrtí matky ve spojitosti s těhotenstvím a 40 % úmrtí plodu; může vést k růstové retardaci plodu. Včasné rozpoznání a léčba jsou pro úspěšné zvládnutí této komplikace nezbytné; laboratorní vyšetření má přitom zásadní význam.

Naším cílem je na základě kazuistiky ukázat typické známky preeklampsie, způsoby jejich rozpoznání a přínos laboratoře v diagnostice a kontrole léčby.

Byl popsán případ 33leté ženy s typickými klinickými i laboratorními známkami preeklampsie. Po ukončení těhotenství sekcí se rozvinul HELLP syndrom, jehož známky spontánně vymizely. Jsou diskutovány možnosti diagnostiky preeklampsie včetně nově zavedeného poměru koncentrace solubilního receptoru tyrozinkinázového typu 1 a placentárního růstového faktoru (sFLT-1/PIGF) v séru. Diagnostika HELLP syndromu, který se následně rozvinul, je pak založena výlučně na laboratorních výsledcích.

V diagnostice preeklampsie se kromě klasických klinických příznaků a rostoucí proteinurie uplatňuje stanovení poměru sFLT-1/PIGF v séru. Laboratorní vyšetření má nezastupitelnou úlohu i při monitorování hladin magnezia u těchto nemocných a při diagnostice další komplikace vázané na těhotenství, HELLP syndromu.

Klíčová slova: preeklampsie; HELLP syndrom; poměr sFLT-1/PIGF; proteinurie

ABSTRACT

Preeclampsia is a serious complication of the last trimester of pregnancy, resulting in 18 % of maternal deaths related to pregnancy and 40 % of fetal deaths; it can also lead to fetal growth retardation. Early recognition and treatment are essential for successful management of this complication; laboratory examination is of fundamental importance here.

Our aim is on the basis of a case report, to show the typical signs of preeclampsia, ways of recognizing them and the contribution of the laboratory in the diagnosis and control of treatment.

The case of a 33-year-old woman with typical clinical and laboratory signs of preeclampsia was described. After the termination of the pregnancy by section, HELLP syndrome developed, the signs of which disappeared spontaneously. Possibilities for the diagnosis of preeclampsia are discussed, including the newly introduced serum concentration ratio of soluble receptor tyrosine kinase type 1 and placental growth factor (sFLT-1/PIGF). The diagnosis of HELLP syndrome, which subsequently developed, is then based exclusively on laboratory results.

In the diagnosis of preeclampsia, in addition to classic clinical symptoms and increasing proteinuria, determination of the sFLT-1/PIGF ratio in the serum is used. Laboratory examination has an irreplaceable role in monitoring magnesium levels in these patients and in the diagnosis of another pregnancy-related complication, HELLP syndrome.

Key words: preeclampsia; HELLP syndrome; sFLT-1/PIGF ratio; proteinuria

REFERENCES

1. **Zeisler H. et al. (2016):** Predictive value of the sFLT-1:PIGF ratio in women with suspected preeclampsia. *N Engl J Med* 2016;374:13-22; doi: 10.1056/NEJMoa1414838
2. **Schiettecatte J. et al. (2010):** Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PIGF assays in normal pregnancies and preeclampsia. *Clin Biochem* 2010;43(9):768-770, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.02.010.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 1, 2023: 32–35

STEVENS-JOHNSONOV SYNDRÓM – KAZUISTIKA STEVENS-JOHNSON SYNDROME - CASE REPORT

Turčan Anton, Firment Peter, Palenčíková Erika

Oddelenie anestéziológie a intenzívnej medicíny, FNŠP J. A. Reimana Prešov

turcan@fnšppresov.sk

SÚHRN

Stevensov-Johnsonov syndróm (SJS) je zriedkavá, avšak potenciálne fatálna, hypersenzitívna reakcia typu IV (subtyp C), ktorá typicky postihuje kožu a sliznice. Podľa rozsahu postihnutia kože sa rozdeľuje na: SJS: rozsah postihnutej plochy kože <10 % povrchu tela (BSA – z angl. body surface area), prekrývajúci sa SJS/toxická epidermálna nekrolýza (TEN): rozsah postihnutia 10 – 30 % BSA a TEN (Leyllov syndróm, tiež syndróm „obarenej“ kože): koža postihnutá v rozsahu > 30 % BSA. Rozlišujeme 4 etiologické kategórie SJS: liekmi alebo infekciou vyvolaný, súvisiaci s malignitou a idiopatický. Incidencia SJS sa uvádza na úrovni 1.1 – 7.1 prípadov na milión obyvateľov za rok. Uvedený je 39.9 % podiel žien. Typická kožná lézia má vzhľad terčika. Exantém pri SJS iba 2 farebné zóny. Je typické aj postihnutie slizníc vo forme erytému, edému, tvorby búl, ulcerácií a nekrózy. Postihnuté sú tiež očné viečka, spojovka a rohovka (Foster, 2023). Za moderné biomarkery SJS sa považujú galektín 7 a RIP 3 (Chen et al., 2023).

Popisujeme kazuistiku pacienta so SJS, ktorý bol hospitalizovaný vo FNŠP J. A. Reimana. Išlo o polymorbídneho 49-ročného muža trpiaceho artériovou hypertenziou a diabetes mellitus 1. typu na inzulínovej terapii s komplikáciami v predialyzačnej príprave pre chronické renálne zlyhávanie, s abúzum alkoholu a toxometa-

bolickou encefalopatiou, anémiou normocytovou, normochrómna kombinovanej etiológie.

Na základe zaujímavej kazuistiky polymorbídneho pacienta so SJS s nepriaznivým výsledkom sme chceli oboznámiť odbornú verejnosť s danou problematikou, s úskaliami diagnostiky a náročnosti terapie pacientov s ťažkým priebehom TEN. Cieľom bolo taktiež poukázať na absenciu špecifických bežne dostupných laboratórných markerov SJS.

Pacient bol prvotne hospitalizovaný na oddelení dermatovenerológie (deň 0 – 5) pre febrilitu, vracanie, artralgiu a postupný generalizovaný výsev na tele. Z podozrivých liekov užíval alopurinol, kyselinu acetylsalicylovú a azitromycín. Mal tmavočervené makulopapulózne, miestami až splývajúce prejavy bez deskvamácie a pruritu (obr. 2). Na intravenózne kortikoidnej liečbe metylprednizolónom nastal ústup príznakov. Následne bol pacient prepustený do ambulantnej starostlivosti (deň 5–10). V úvode pancytopenia (Le 3.5 Gpt·L⁻¹), hypoalbuminémia (34.7 g·L⁻¹), zvýšené parametre renálneho zlyhávania (urea 33.2 mmol·L⁻¹, kreatinín 451.0 μmol·L⁻¹). Na oddelenie vnútorného lekárstva (deň 10 – 13) bol pacient prijatý pre zvýšenú telenú teplotu a zhoršený difúzny celotelový exantém. Pokračovalo sa v pulznej liečbe kortikoidmi do 5 dní (250 mg metylprednizolónu i.v.). Došlo k vzostupu zápalových parametrov (najvyš-

šie CRP 133.5 mg·L⁻¹), hypokoagulačný stav (PT 35.5%). Pacient bol preložený na OAİM (deň 13-33) pre progresiu respiračnej insuficiencie za účelom UPV s potrebou nastavenia agresívnych parametrov. Prítomná bola extrémna erythrodermia s postihnutím slizníc. Pacient bol multidisciplinárne široko vyšetovaný. Došlo k exfoliácii dlaní (obr. 1), vysoko suspektný SJS, resp. TEN. Boli aplikované imunoglobulíny i.v. (celkovo podané 3 dávky). V laboratórnom náleze sa postupne upravili koagulačné parametre (PT 64.7%) a došlo k poklesu zápalových markerov (na hodnotu CRP 169 mg·L⁻¹). Na JIS oddelenia vnútorného lekárstva (deň 33 – 45) bola cielene rozšírená antibiotická terapia. Stav sa zhoršoval v smere prejavov opätovného multiorgánového zlyhávania s anúriou. V laboratórnom náleze anémia (Hb 89.0 g·L⁻¹), zvýšené CRP (najvyššie 335 mg·L⁻¹), zhoršenie azotémie, metabolická acidóza (pH na úrovni 7.23). Na 45. deň od prvotnej hospitalizácie došlo k asystólíi a bol konštatovaný exitus lethalis.

Aj keď v prípade SJS ide o raritné ochorenie, môže mať veľmi závažné následky, prípadne i smrť (D o l e ž a l o v á a kol., 2017). V diagnostike a terapii je nevyhnutný multidisciplinárny prístup. Správne malo byť diagnostikované ochorenie označené ako Lyellov syndróm, resp. TEN, vzhľadom na rozsah postihnutia povrchu tela. SJS je nozologická jednotka s ojedinelým výskytom, preto bola v priebehu vývoja stavu pacienta vedená široká diferenciálna diagnostika. Priebeh ochorenia, klinický a fyzikálny nález však svedčil pre túto konečnú diagnózu.

Pre závažnosť stavu sú pacienti s týmto ochorením hospitalizovaní na JIS/OAİM alebo v popáleninových centrách (F o s t e r, 2023; D o l e ž a l o v á a kol., 2017). Terapia kortikosteroidmi a intravenóznymi imunoglobulínmi je považovaná za adekvátnu (F o s t e r, 2023; D o l e ž a l o v á a kol., 2017). Kortikoidy sa ukazujú štatisticky významné v smere znižovania mortality, na rozdiel od imunoglobulínov. V laboratórnych parametroch sa odporúča sledovať viaceré zápalové a imunitné markery (CRP, TNF α , IL-6, solubilný receptor IL-2), no patognomickým sa neukazuje byť ani jeden z nich (C h u e n w i p a s a k u l a kol., 2023). V rámci Slovenskej republiky nie sú oficiálne štandardy na liečbu SJS, čo sťažuje primeranú terapiu.

Kľúčové slová: toxická epidermálna nekrolýza; makulopapulózny exantém; sepsa; kortikosteroidy

ABSTRACT

Stevens-Johnson syndrome (SJS) is a rare, but potentially fatal, type IV (subtype C) hypersensitivity reaction that typically affects the skin and mucous membranes. According to the extent of skin involvement, it is divided into: SJS: extent of affected skin area <10% of the body surface area (BSA), overlapping SJS/toxic epidermal necrolysis (TEN): extent of involvement 10-30% of BSA and TEN (Leyll's syndrome, also "scalded" skin syndrome): skin affected to the extent of > 30% BSA. We distinguish 4 etiologic categories of SJS: drug- or infection-induced, malignancy-related, and idiopathic. The incidence of SJS is reported to be 1.1–7.1 cases per million population per year. The share of women is 39.9%. A typical skin lesion has the appearance of a target. Exanthema with SJS has only 2 colour zones. Mucous membrane involvement in the form of erythema, oedema, and formation of bullae, ulcerations and necrosis is also typical. The eyelids, conjunctiva and cornea are also affected (F o s t e r, 2023). Galectin 7 and RIP 3 are considered modern biomarkers of SJS (C h u e n w i p a s a k u l e t al., 2023).

We hereby document a case report of a patient with SJS who was hospitalized at the FNŠP J. A. Reiman. It was a polymorbid 49-year-old man suffering from arterial hypertension and type 1 diabetes mellitus on insulin therapy with complications and pre-dialysis preparation for chronic renal failure, with alcohol abuse and toxometabolic encephalopathy, normocytic anemia, normochromic of combined etiology.

On the basis of an interesting case report of a polymorbid patient with SJS with an unfavorable outcome, we wanted to acquaint the professional public with the issue, with the pitfalls of diagnosis and the difficulty of therapy of patients with a severe course of TEN. The aim was also to point out the absence of specific commonly available laboratory markers of SJS.

The patient was initially hospitalized in the department of dermatovenerology (day 0-5) for febrility, vomiting, arthralgia and gradual generalized rash on the body. He used allopurinol, acetylsalicylic acid and azithromycin from the suspected drugs. He had dark red maculopapular, sometimes confluent manifestations without desquamation and pruritus (fig. 2). Symptoms subsided on intravenous corticoid treatment with methylprednisolone. Subsequently, the patient was discharged to outpatient

care (day 5–10). Initially, pancytopenia (Le $3.5 \text{ Gpt}\cdot\text{L}^{-1}$), hypoalbuminemia ($34.7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), increased parameters of renal failure (urea $33.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, creatinine $451.0 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). The patient was admitted to the department of internal medicine (day 10-13) because of increased body temperature and worsened diffuse whole-body exanthema. Pulse treatment with corticoids was continued for 5 days (250 mg methylprednisolone IV). There was an increase in inflammatory parameters (highest CRP $133.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a hypocoagulable state (PT 35.5%). The patient was transferred to ICU (day 13-33) due to progression of respiratory insufficiency for the purpose of UPV with the need to set aggressive parameters. Extreme erythroderma with mucosal involvement was present. The patient was extensively examined in a multidisciplinary manner. There was exfoliation of the palms (fig. 1), highly suspicious SJS, or TEN. Immunoglobulins were administered i.v. (a total of 3 doses administered). In the laboratory findings, coagulation parameters were gradually adjusted (PT 64.7%) and inflammatory markers decreased (to a CRP value of $169 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). In the HDU of the Department of Internal Medicine (day 33-45), antibiotic therapy was purposefully extended. The condition worsened in the direction of repeated multiorgan failure with anuria. Laboratory findings showed anemia (Hb $89.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), increased CRP (highest $335 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), aggravation of azotemia, metabolic acidosis (pH at the level of 7.23). On the 41st day after the initial hospitalization, asystole occurred and exitus lethalis was established.

Even though SJS is a rare disease, it can have very serious consequences, possibly even death. A multidisciplinary approach is essential in diagnosis and therapy (D o l e ž a l o v á et al., 2017). The disease should have been correctly diagnosed as Lyell's syndrome, or TEN, considering the extent of body surface involvement. SJS is a nosological unit with a rare occurrence, therefore a wide differential diagnosis was conducted during the development of the patient's condition. The course of the disease, clinical and physical findings, however, supported this final diagnosis.

Due to the seriousness of the condition, patients with this disease are hospitalized in HDU/ICU or in burn centers (F o s t e r, 2023; D o l e ž a l o v á et al., 2017). Therapy with corticosteroids and intravenous immunoglobulins is considered adequate (F o s t e r, 2023; D o l e ž a l o v á et al., 2017). Corticosteroids appear statistically significant in the direction of reducing mortality, in contrast to immunoglobulins. In the laboratory parameters, it is recommended to monitor several inflammatory and immune markers (CRP, $\text{TNF}\alpha$, IL-6, soluble receptor IL-2), but not one of them turns out to be pathognomonic (C h u e n w i p a s a k u l et al., 2023). Within the Slovak Republic, there are no official standards for the treatment of SJS, which makes adequate therapy difficult.

Key words: toxic epidermal necrolysis; maculopapular exanthema; sepsis; corticosteroids

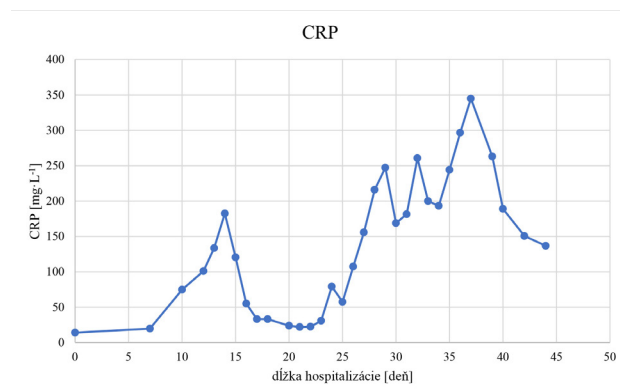
PRÍLOHY



Obrázok 1 Buly na rukách a chodidlách. Podobné odlupujúce sa buly mal pacient aj na trupe (zdroj: fotodokumentácia OAİM Prešov).



Obrázok 2 Makulopapulózny exantém na predkoleniach (zdroj: fotodokumentácia OAİM Prešov)



Graf 1 Vývoj zmien hodnôt CRP v priebehu ochorenia

Literatúra

1. Foster, C. S. (2023) Stevens-Johnson Syndrome: Practice Essentials, Background, Pathophysiology. Dostupné na: <https://emedicine.medscape.com/article/1197450-overview>.
2. Chuenwipasakul, D. et al. (2023) 'Correlations between histopathologic findings, serum biomarker levels, and clinical outcomes in Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis (SJS/TEN)', Scientific Reports. 13(1):13620. doi: 10.1038/s41598-023-40812-3.
3. Doležalová, I., Rektor, I. a Brázdil, M. (2017) 'Stevens-Johnsonův syndrom – komplikace v rámci neurointenzivní péče', Neurologie pro praxi, 18(5):336-340. doi: 10.36290/neu.2019.049.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 36–37

RIZIKO KARDIOTOXICITY U PACIENTKY S HER2 POZITÍVNYM KARCINÓMOM PRSNÍKA RISK OF CARDIOTOXICITY IN A PATIENT WITH HER2-POSITIVE BREAST CANCER

Lešková Jaroslava

Oddelenie klinickej onkológie, FNŠP J. A. Reimana, Prešov

leskova.j@fnšppresov.sk

SÚHRN

V súčasnosti kombinácia klasickej chemoterapie s monoklonálnou protilátkou trastuzumabom predstavuje štandardnú možnosť adjuvantnej liečby HER2 pozitívneho karcinómu prsníka a vedie k zlepšeniu celkového prežívania o 20 % až 34 % u pacientok s včasným a taktiež metastatickým karcinómom prsníka. Táto liečba je dobre tolerovaná avšak je spájaná so vznikom kardiotoxicity, ktorá sa prejavuje ako redukcia LVEF a najmä u pacientok, ktoré dostávajú antracyklíny.

Zámerom príspevku je identifikovať včasné známky kardiotoxicity u pacientky s HER2 pozitívnym karcinómom prsníka liečeným adjuvantnou chemoterapiou v kombinácii s trastuzumabom a rádioterapiou s využitím novšieho ECHOKG vyšetrenia s možnosťou merania LVEF a GLS a odberom vysoko senzitívnych kardiálnych troponínov TnT.

Na konkrétnom príklade pacientky poukážeme súvis vzostupu kardiálnych troponínov so zmenami na ECHOKG. Realizáciou pravidelných odberov vysoko senzitívnych kardiálnych troponínov po každom treťom cykle (vyšetrované na analyzátore cobas imunochemicky metódou "eclia") a pravidelné ECHOKG vyšetrenia (každé tri mesiace počas liečby). Použili sme modernejšie dvojzozmerné ECHOKG s možnosťou merania GLS.

Dospeli sme k záveru, že vysokosenzitivný kardiálny troponín TnT je vhodný biomarker poškodenia myokar-

du následkom liečby antracyklínom a trastuzumabom u pacientok s HER2 pozitívnym karcinómom prsníka. Toto vyšetrenie má vysokú citlivosť, dobrú dostupnosť a nízke náklady v porovnaní so zobrazovacími vyšetreniami.

Podľa ESMO doporučení je indikované vyšetrenie kardiálnych troponínov u vysoko rizikových pacientok a u tých, ktoré sú liečené antracyklínom môžu identifikovať včasnú kardiotoxicitu, avšak ešte chýbajú presne usmerenia, čo sa týka načasovania týchto odberov. ECHOKG s GLS sú schopné zachytiť poruchy kinetiky myokardu v súvislosti s chemoterapeutickou kardiotoxicitou aj niekoľko mesiacov predtým, ako to zistíme pomocou LVEF. To má nesmierny význam pre včasnú medikamentóznú intervenciu zo strany spolupracujúceho kardiológa.

Kľúčové slová: kardiotoxicita; trastuzumab; antracyklíny; echokardiogram; kardiálne troponíny

ABSTRACT

Nowadays the combination of classical chemotherapy with the monoclonal antibody trastuzumab represents a standard option for adjuvant treatment of HER2-positive breast cancer and leads to an improvement in overall survival by 20% to 34% in patients with early and also metastatic breast cancer. This treatment

is well tolerated, but is associated with the development of cardiotoxicity, which manifests itself as a reduction in LVEF, especially in patients receiving anthracyclines.

The purpose of the paper is to identify early signs of cardiotoxicity in a patient with HER2-positive breast cancer treated with adjuvant chemotherapy in combination with trastuzumab and radiotherapy, using the newer ECHOKG examination with the possibility of measuring LVEF and GLS as well as taking high-sensitivity cardiac troponins TnT.

Using the specific example of a patient, we will show the connection between the rise of cardiac troponins and changes on ECHOKG. We will do so by carrying out regular sampling of high-sensitivity cardiac troponins after every third cycle (examined on a cobas analyzer using the immunochemical method "eclia") and regular ECHOKG examinations (every three months during treatment). We used the more modern two-dimensional ECHOKG with the option of GLS measurement.

We conclude that the high-sensitivity cardiac troponin TnT is a suitable biomarker of myocardial damage following anthracycline and trastuzumab treatment in patients with HER2-positive breast cancer. This examination has high sensitivity, good availability and low costs compared to imaging examinations.

According to the ESMO recommendation, the examination of cardiac troponins is indicated in high-risk patients and in those treated with anthracyclines who can identify early cardiotoxicity, but there are still no precise

guidelines regarding the timing of these blood tests. ECHOKG with GLS can detect disturbances in myocardial kinetics related to chemotherapeutic cardiotoxicity even several months before it is detected by LVEF. This is of immense importance for early medical intervention by a collaborating cardiologist.

Key words: cardiotoxicity; trastuzumab; anthracyclines; echocardiogram; cardiac troponins.

REFERENCES

1. Curigliano, G. et al. (2020) Management of cardiac disease in cancer patients throughout oncological treatment: ESMO consensus recommendations. In: *Annals of oncology*. Vol. 31, ISSUE 2, p. 171 – 190.
2. Lynce, F. et al. (2019) Prospective evaluation of the cardiac safety of HER2-targeted therapies in patients with HER2-positive breast cancer and compromised heart function: the SAFE-HEaRt study. In: *PubMed.gov, jun 2019*. [online]. [cit. march 13. 2020]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30852761>.
3. Gripp, E. et al. (2018) Global Longitudinal Strain Accuracy for Cardiotoxicity Prediction in a Cohort of Breast Cancer Patients During Anthracycline and/or Trastuzumab Treatment. In: *Arq Bras Cardiol*. Feb; 110 (2): p. 140 - 150.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 38–39

INTERPRETÁCIA SÉROVÝCH KONCENTRÁCIÍ LIEČIV OČAMI KLINIKA INTERPRETATION OF DRUG CONCENTRATIONS IN SERUM FROM CLINICAL VIEWPOINT

Javorová Rihová Zuzana

Oddelenie klinickej farmakológie, Fakultná nemocnica Trnava, Trnava
Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

zuzana.javorova@fntt.sk

SÚHRN

Personalizovaný prístup pri liečbe pacientov je trendom medicíny založenej na dôkazoch. Jeho dôležitou súčasťou je individualizácia dávkovacích režimov liečiv s využitím terapeutického monitorovania liečiv ako kvalifikovaného multidisciplinárneho servisu, ktorý sa môže realizovať v dvoch formách. Buď s využitím klinických, demografických a farmakogenetických informácií a/alebo meraním koncentrácií liečiv alebo biomarkerov v biologických vzorkách, najčastejšie v sére. Meranie koncentrácií liečiv alebo biomarkerov má tri fázy, predanalytickú, analytickú a postanalytickú, pričom každá z nich je rovnako dôležitá a má svoje špecifiká.

Neoddeliteľnou súčasťou postanalytickej fázy je validácia a klinická interpretácia nameraných koncentrácií. Interpretácia sérových koncentrácií liečiv vyžaduje znalosti farmakokinetiky, informácie o dávkovacom režime a časoch odberu, funkcii eliminačných orgánov, klinickom stave pacienta, liekovej anamnéze, pôvodcovi infekcie a jeho citlivosti s uvedením minimálnej inhibičnej koncentrácie a iné. Interpretáciu môžu uľahčovať a spresňovať modelovacie programy založené na farmakokineticko-farmakodynamickom prístupe s využitím populačných dát. Záver interpretácie sérovej koncentrácie liečiva by mal obsahovať zhodnotenie výsledku, odporúčenie ďalšej dávky lieku, dávkovací interval

a odporúčenie kontrolného odberu. Výsledky bez takejto interpretácie nemajú požadovanú výpovednú hodnotu a nie sú pre klinickú prax dostatočne využiteľné.

V prednáške prezentujeme klinický pohľad na interpretáciu sérových koncentrácií liečiv vo forme kazuistík a príklady faktorov, ktoré môžu interpretáciu ovplyvňovať.

Kľúčové slová: terapeutické monitorovanie liečiv; sérová koncentrácia liečiva; interpretácia výsledkov

ABSTRACT

A personalized approach to treatment of patients is a trend in evidence-based medicine. Individualization of drug dosage regimens using therapeutic drug monitoring as a qualified multidisciplinary service is important part of it and can be implemented in two forms. Either with the use of clinical, demographic and pharmacogenetic information and/or by measuring the concentrations of drugs or biomarkers in biological samples, mostly in serum. The measurement of concentrations of drugs or biomarkers has three phases, pre-analytical, analytical and post-analytical, which are equally important with their own specificities.

An indivisible part of the post-analytical phase is the validation and clinical interpretation of the measured

concentrations. Interpretation of serum concentrations of drugs requires knowledge of pharmacokinetics, information on dosage regimen and collection times, function of elimination organs, patient's clinical condition, drug history, source of infection and its sensitivity with indication of minimum inhibitory concentration, and others. Interpretation can be facilitated and refined by modeling programs based on a pharmacokinetic-pharmacodynamic approach by using population data. The conclusion of the interpretation of the serum concentration of the drug should include an evaluation of the result, a recommendation for the next dose of the drug, a dos-

ing interval and a recommendation for control sampling. Results without such an interpretation do not have the required informative value and are insufficiently usable for clinical practice.

In a presentation, interpretation of serum concentration of drugs in the form of case reports is demonstrated from clinical point of view and examples affecting interpretation, too.

Key words: therapeutic drug monitoring; serum drug concentration; interpretation of results



KAZUISTIKY Z LABORATORNÍ MEDICÍNY CASE REPORTS FROM LABORATORY MEDICINE

Franková Janka^{1,2}

¹ Oddělení klinické biochemie, pracoviště laboratorních metod, IKEM, Praha

² Ústav imunologie a klinické biochemie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

jafa@ikem.cz

ÚVOD

Potransplantační lymfoproliferativní onemocnění (post-transplant lymphoproliferative disorder, PTLD) je poměrně častou komplikací s nejvyšší četností u transplantace srdce (HTx). Popisujeme komplikovanou kazuistiku pacienta po HTx, který v rámci PTLD přešel z polyklonálního zmnožení gamaglobulinů přes MGUS k malignímu myelomu, který po terapii vykazuje známky normalizace v proteinovém spektru.

PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ:

Úvodní vyšetření před HTx bez abnormality v proteinovém spektru (elektroforéza proteinů bez patologie nebo jen mírné polyklonální zmnožení gamaglobulinů). Po HTx (listopad 2017) došlo k vývoji monoklonální gamapatie zpočátku charakteru MGUS typu IgG lambda s kvantitativním vývojem od 2 g.L⁻¹ (+20 měsíců po HTx, červenec 2019), přes 3,9 g.L⁻¹ (+38 měsíců), 6,4 g.L⁻¹ (+44 měsíců), 15 g.L⁻¹ (+54 měsíců), 22,5 g.L⁻¹ (+58 měsíců). Volné lehké řetězce kappa/lambda se pohybovaly od 58,2/31,25 mg.L⁻¹ (+22), přes 37,2/43,6 mg.L⁻¹ (+38), 73,0/105/6 mg.L⁻¹ (+44), 92,6/622,8 mg.L⁻¹ (+54). Po terapii zahájené 62 měsíců po HTx (cyklofosamid, bortezomid, dexamethason ve 4 cyklech) zpočátku (+66 měsíců) přetrvává pozitivita monoklonálního proteinu (40,9 g.L⁻¹ s hodnotami FLC kappa/lambda 59,2/575,3 mg.L⁻¹), ale 68 měsíců po HTx je již v

proteinovém spektru pouze oligoklonalita bez jednoznačného průkazu monoklonálního imunoglobulinu (7/2023).

KOMPLIKUJÍCÍ ONEMOCNĚNÍ

Základní onemocnění pacienta (ICHS s opakovanými dekompenzacemi, diabetes mellitus 2. typu na inzulínu, chronické onemocnění ledvin (CKD) je doprovázeno komplikacemi souvisejícími s hematologickým onemocněním (z kritérií CRAB přítomen zvýšený ionizovaný vápník, CKD3, anemie, osteolytické ložisko v 6. žeburu) a nádorovým onemocněním jiného orgánu (adenokarcinom prostaty). Pacient prodělal COVID-19, opakované pneumonie, cytomegalovirovou infekci, je po nefrostomii a sigmoideostomii. Funkce štěpu po HTx uspokojivá (EFLK 60 %, bez výpotku, uspokojivý nález na koronárních arteriích). Hematologické onemocnění v remisi po 4 cyklech chemoterapie. Hlavním problémem pacienta zůstávají komplikace doprovodných onemocnění (radioterapie pro adenokarcinom prostaty s píštělí mezi močovým měchýřem a střevem, sigmoideostomie, nefrostomie), malnutrice (váha 67 kg), opakované pneumonie s fluidotoraxem.

PLÁN

Další cyklus chemoterapie pro hematologické onemocnění (8/2023), nutriční péče, předdialyzační příprava, trvalá imunosuprese po HTx.

ZÁVĚR

Kazuistika upozorňuje na vývoj hematologické malignity povahy PTLD, u které byla u pacienta po HTx poměrně pozdě zahájena terapie vzhledem k polymorbiditě pacienta. První cykly chemoterapie vedly k remisi, u pacienta je v plánu další chemoterapie, v celkovém stavu pacienta dominuje řada komplikujících faktorů.

Klíčová slova: potransplantační lymfoproliferativní onemocnění, transplantace srdce, MGUS, maligní myelom

INTRODUCTION

Post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) is a relatively common complication with the highest incidence in heart transplantation (HTx). We describe a complicated case report of a post-HTx patient with PTLD who progressed from polyclonal hypergammaglobulinemia via MGUS to malignant myeloma, showing signs of normalization in protein spectrum after therapy.

DISEASE COURSE

Initial examination before HTx was without abnormality in protein spectrum (protein electrophoresis without pathology or only mild polyclonal hypergammaglobulinemia). After HTx (November 2017), monoclonal gammopathy developed initially as MGUS type IgG lambda with quantitative progression from 2 g.L⁻¹ (+20 months after HTx, July 2019), through 3.9 g.L⁻¹ (+38 months), 6.4 g.L⁻¹ (+44 months), 15 g.L⁻¹ (+54 months), 22.5 g.L⁻¹ (+58 months). Free kappa/lambda light chains ranged from 58.2/31.25 mg.L⁻¹ (+22), through 37.2/43.6 mg.L⁻¹ (+38), 73.0/105/6 mg.L⁻¹ (+44), 92.6/622.8 mg.L⁻¹ (+54). After therapy initiated 62 months from HTx (cyclophosphamide, bortezomide, dexamethasone in 4 cycles) initially (+66 months), monoclonal protein positivity persists (40.9 g.L⁻¹ with FLC kappa/lambda values of 59.2/575.3 mg.L⁻¹), but 68 months after HTx, only oligoclonality is present in the protein spectrum without clear evidence of monoclonal immunoglobulin (7/2023).

COMPLICATING DISEASE

The patient's underlying disease (heart failure with recurrent decompensations, type 2 diabetes mellitus on insulin, chronic kidney disease, CKD3) is accompanied by complications related to hematological disease (CRAB criteria: elevated ionized calcium, CKD3, anemia, osteolytic lesion in the 6th rib) and cancer of another organ (prostate adenocarcinoma). The patient has had COVID-19, recurrent pneumonia, cytomegalovirus infection, and is post nephrostomy and sigmoidostomy. Graft function after HTx is satisfactory (EFLK 60%, no effusion, satisfactory coronary artery findings). Hematological disease in remission after 4 cycles of chemotherapy. The main problem of the patient remains complications of concomitant diseases (radiotherapy for prostate adenocarcinoma with fistula between bladder and bowel, sigmoidostomy, nephrostomy), malnutrition (weight 67 kg), recurrent pneumonia with fluidothorax.

PLAN

Next cycle of chemotherapy for hematological disease (8/2023), nutritional care, pre-dialysis preparation, ongoing immunosuppression after HTx.

CONCLUSION

The case report highlights the development of a hematological malignancy of PTLD nature, in which the patient was treated relatively late after HTx due to the patient's polymorbidity. The first cycles of chemotherapy led to remission, the patient is scheduled for further chemotherapy, and a number of complicating factors dominate the patient's overall condition.

Key words: postransplant lymphoproliferative disorder, heart transplantation, MGUS, malignant myeloma



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 42–43

TUMOROM INDUKOVANÁ OSTEOMALÁCIA – KAZUISTIKA TUMOUR-INDUCED OSTEOMALACIA – CASE REPORT

Sečník Peter¹, Halmová Henrieta²

¹ SK-LAB, s.r.o. – klinické laboratórium, Lučenec

² OSTEOMED, s.r.o. – endokrinologická ambulancia, Lučenec

peter.secnikjr@sklab.sk

SÚHRN

Tumorom indukovaná osteomalácia (TIO) je vzácna klinická jednotka s incidenciou 0,13/100 000 osoboro-kov. Ide o paraneoplastický syndróm, ktorého príčinou je najčastejšie nezhubný mezenchymálny nádor, veľmi zriedkavo sa môže vyskytnúť aj pri hemangiopericytó-me, seminóme, osteosarkóme či malobunkovom karci-nóme pľúc.

Medzi iniciálne príznaky patrí chronická únava, sva-lová slabosť a myalgie, v pokročilom štádiu sú typické patologické fraktúry, poruchy mobility až invalidizácia pacienta. Nádor je typicky benígnej povahy s pomalým rastom, bez metastáz alebo lokálnych symptómov. Pre vznik TIO je však kľúčová schopnosť nádorových buniek produkovať fibroblastový rastový faktor 23 (FGF-23), ktorý je jednou zo základných regulačných molekúl kal-cium-fosfátového metabolizmu.

Vzhľadom na nešpecifické počiatkové príznaky je diagnostika tejto klinickej jednotky veľmi náročná. V la-boratórnom náleze dominuje hypofosfatémia, hyperfos-fátúria a elevácia markerov kostného metabolizmu. Na potvrdenie diagnózy sa okrem špeciálnych zobrazovacích metód využíva imunochemické stanovenie koncentrácie FGF-23 v krvnej plazme.

Prezentovaná kazuistika ilustruje pokročilú formu tumorom indukovanej osteomalácie so zameraním na

vzťahy medzi patofyziologickými procesmi, klinickou manifestáciou a dynamikou laboratórneho nálezu.

Kľúčové slová: tumorom indukovaná osteomalácia; FGF-23; hypofosfatémia

ABSTRACT

Tumour-induced osteomalacia (TIO) is a rare clinical entity with an incidence of 0.13/100,000 person-years. It is a paraneoplastic syndrome, the cause of which is most often a benign mesenchymal tumour, very rarely it can also occur with hemangiopericytoma, seminoma, osteo-sarcoma or small cell lung carcinoma.

Among the first symptoms are chronic fatigue, mus-cle weakness and myalgia, in the advanced stage, patho-logical fractures, mobility disorders and even invalida-tion of the patient are typical. The tumour is typically benign in nature with slow growth, without metastases or local symptoms. However, the ability of tumour cells to produce fibroblast growth factor 23 (FGF-23), which is one of the basic regulatory molecules of calcium-phos-phate metabolism, is key to the development of TIO.

Due to the non-specific initial symptoms, the diagno-sis of this clinical unit is very difficult. Laboratory findings are dominated by hypophosphatemia, elevated renal ex-cretion of phosphates and elevation of markers of bone

metabolism. In addition to special imaging methods, immunochemistry measurement of FGF-23 concentration in blood plasma is used to confirm the diagnosis.

The presented case report illustrates an advanced form of tumour-induced osteomalacia with a focus on the relationships between pathophysiological processes,

clinical manifestation and dynamics of laboratory findings.

Key words: tumour-induced osteomalacia; FGF-23; hypophosphatemia



TROPONINY A NATRIURETICKÉ PEPTIDY – JE NĚCO NOVÉHO? TROPONINS AND NATRIURETIC PEPTIDES – WHAT IS NEW?

Jabor Antonín^{1,2}

¹ Pracoviště laboratorních metod, IKEM, Praha

² Ústav imunologie a klinické biochemie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

anja@ikem.cz

ÚVOD

Sdělení se zabývá pouze srdečními troponiny (cTn) a natriuretickými peptidy (NP). Důvodem je největší opora v literatuře, nejvíce doporučení v guidelines, nejvíce prověřená analytická kvalita, největší dostupnost na běžných analytických platformách, nejvíce dat o rozhodovacích limitech a nejtěsnější vztah k outcome pacientů. Přestože v kardiologii ztratilo význam měření CK-MB nebo myoglobinu, laboratoře tato vyšetření v rozporu s doporučeními stále nabízejí.

METODY

Literární rešerše novějších přístupů k využití stanovení srdečních troponinů (cTn) a natriuretických peptidů (NP).

CÍLE

Předložit zajímavější informace o současném stavu použití cTn a NP nejen v oblasti kardiologie

VÝSLEDKY

Troponiny

Analytické souvislosti: Podle materiálů IFCC minimálně 5 výrobců splňuje požadavky na vysoce citlivé (hs-) metody (Abbott, Beckman Coulter, LSI Medience, Roche, Siemens). Preciznost může být diskutabilní ve velmi nízkých koncentracích.

Metody pro blízkou a vzdálenější budoucnost: Některé metody POCT splňují požadavky kladené na hs-metody. Připravují se nové technologie, ve vývoji je například transdermální měření cTn.

Patofyziologie, biologie: Není uzavřena diskuse o původu cTn při myopatiích kosterních svalů. Více dokladů je pro interferenci ovlivňující hs-cTnT.

Referenční limity: Situace je komplikována závislostí koncentrace na pohlaví (ženy nižší), věku (starší vyšší) a renálních funkcích (korekce se běžně neprovádí), hs-cTnT vykazuje vyšší závislost na eGFR, přibližně od 150 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ sérového kreatininu je překročen 99. percentil (14 ng.L^{-1}). Medián hodnot hs-cTnT se s klesající eGFR pohybuje hluboko pod 10 ng.L^{-1} . Muži překračují hodnotu hs-cTnT 14 ng.L^{-1} již kolem 40-50 lety věku, ženy až kolem 65 let věku. Ignorování pohlavních rozdílů a použití jednotného limitu 14 ng.L^{-1} pro hs-cTnT je chybou.

Guidelines: Použití hs-cTn v guidelines (poslední ESC guidelines z roku 2023) akcentují 1- a 2-hodinový algoritmus. Kritickou se proto stává preciznost stanovení v nízkých koncentracích.

Novější indikační oblasti: Pátrání po poškození myokardu by mělo být součástí intenzivní péče, zvýšení hs-cTn při sepsi je indikátorem kardiovaskulárních komplikací u přežívajících pacientů. Zajímavou indikací je chronické onemocnění ledvin (CKD), kdy je asociována porucha pře-

vodního systému se zvýšením cTn (a NP) a může jít o první příznak dosud němého kardiovaskulárního onemocnění v rámci CKD. Nové je rovněž použití cTn jako kardiovaskulárního rizikového faktoru v běžné populaci, problematika není uzavřena z hlediska přípravy pacienta, interpretačních limitů (věk, pohlaví), spolehlivosti metod v oblasti velmi nízkých koncentrací a váhy informace v kontextu ostatních „velkých“ rizikových faktorů

Natriuretické peptidy

Analytické souvislosti: Preciznost stanovení je uspokojivá (pokud nejde o POCT), ale výsledky EHK ukazují problémy se standardizací, chybí společný kalibrátor a referenční materiály.

Metody pro blízkou a vzdálenější budoucnost: Vyvíjejí se metody pro měření NP ve slinách a v jiných materiálech. Pokračuje zdokonalování POCT technologií.

Patofyziologie, biologie: Překvapivá souvislost byla nalezena mezi BNP (případně NT-proBNP) a maligním mezoteliomem – jeho buňky produkují BNP a vysoké hodnoty BNP (NT-proBNP) v pleurální tekutině mohou signalizovat tento původ výpotku.

Referenční limity: Značné rozdíly koncentrací mezi BNP a NT-proBNP vyžadují použití limitů pro danou diagnostickou soupravu. NT-proBNP je více ovlivněn eGFR, věkem a dalšími faktory, ale proti BNP je vhodnější pro monitorování terapie ARNI (angiotensin receptor neprilysin inhibitor). V případě stanovení BNP je limit 100 ng.L⁻¹ používán prakticky všemi výrobci, o racionalitě této hodnoty lze pochybovat.

Guidelines: V letech 2021 a 2022 byly publikovány evropské a americké guidelines pro srdeční selhání se zcela totožným principem použití NP včetně rozhodovacích limitů. Tato velká „transatlantická“ shoda demonstruje význam NP pro pacienty se srdečním selháním.

Novější indikační oblasti: Kromě již zmíněné indikace měření BNP u maligního mezoteliomu stojí za zmínku 2022 ESC guidelines pro kardioonkologii (na řadě míst zmíněny NP i cTn) a intenzivní péče (sepsí indukovaná kardiomyopatie, prognostický význam u septického šoku, indikace dlouhodobých svalových potíží u pacientů, kteří přežili sepsi).

ZÁVĚRY

Stanovení troponinů (nejen) pro identifikaci poškozené myokardu a stanovení natriuretických peptidů (nejen)

pro hodnocení srdce jako pumpy je natolik významné, že by laboratoře měly okamžitě ukončit měření zastaralých analytů (CK-MB, myoglobin) a prostředky přeměrovat k racionální diagnostice pomocí hs-cTn a NP a případně investovat do nově identifikovaných biomarkerů kardiálních onemocnění.

Klíčová slova: srdeční troponiny; natriuretické peptidy; kardiologie; guidelines; intenzivní péče

INTRODUCTION

We describe the update on cardiac troponins (cTn) and natriuretic peptides (NP). These two types biomarkers have sufficient evidence in the literature, they are listed in guidelines, they have verified analytical quality with many available applications on common analytical platforms, they have the best evidence on decision limits and the best relationship to patient outcome. Unfortunately, laboratories still offer the measurement of CK-MB or myoglobin, an old-fashioned test without any reason for their use.

METHODS

Literature search.

AIMS

To offer newer interesting information on the use of cTn and NP not only in cardiology.

RESULTS

Troponins

Analytical considerations: According to the IFCC statement at least 5 producers offer methods for the measurement of cTn concentration with suitable analytical quality (Abbott, Beckman Coulter, LSI Medience, Roche, Siemens), all in the high-sensitivity level (hs-cTn). Some concerns could appear in the region of very low concentrations.

Future methods: Some POCT technologies fulfill criteria of hs-method. Transdermal measurement of cTn is under development.

Pathophysiology: A discussion continues on the interference of troponins in skeletal muscle disorders.

Reference limits: sex, age and eGFR should be taken into consideration. hs-cTnT is more related to the eGFR and upper reference limit (99th percentile, 14 ng.L⁻¹) is ex-

ceeded with creatinine of $150 \mu\text{mol.L}^{-1}$. In men, the limit of hs-cTnT 14 ng.L^{-1} is exceeded at the age of 40-50 years, in women at the age of 65 years.

Guidelines: The use of hs-cTn is strongly recommended in the last ESC guidelines (2023) with 1- or 2-hour algorithm. A critical issue is the precision in the lowest concentrations.

New indications: Intensive care, chronic kidney disease, cardiovascular risk assessment.

Natriuretic peptides

Analytical considerations: Precision of the measurement is satisfactory (not to speak about POCT). However, proficiency testing revealed problems with standardization (missing common reference material and/or calibrator).

Future methods: Analytical technologies for the measurement in saliva or other fluids is under development.

Pathophysiology: A surprising relationship was found between BNP (and/or NT-proBNP) and malignant mesothelioma. The tumor cells of malignant mesothelioma produce BNP, thus higher concentrations of BNP (and/or NT-proBNP) in pleural fluid can inform about the possibility of this type of pleural fluid.

Reference limits: The relationship exists among NT-proBNP, eGFR, age, body fat, and sex. The use of kit-specific decision limits is advisable. NT-proBNP seems to be a better biomarker for monitoring of ARNI treatment.

Guidelines: A big „transatlantic“ conformity appeared in 2021 a 2022 with a harmonized approach to the use of NP in Europe and United States.

New indications: Malignant mesothelioma, cardiology, intensive care (sepsis).

CONCLUSIONS

We present newer data on the use of troponins and natriuretic peptides. The main indication for the use of troponins is myocardial injury, however, other possibilities appear outside cardiology. Similarly, natriuretic peptides can serve as an excellent biomarker of heart function. Laboratories should discontinue the measurement of CK-MB and myoglobin and redirect resources to the measurement of hs-cTn, BNP or NT-proBNP, not only in cardiology.

Key words: cardiac troponins; natriuretic peptides; cardiology; guidelines; intensive care



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 47–48

VYSOKO SENZITÍVNE STANOVENIE KARDIÁLNEHO TROPONÍNU T MIESTAMI OBLAČNO? HIGH-SENSITIVE CARDIAC TROPONIN T PARTLY CLOUDY?

Daňová Katarína

Oddelenie laboratórnej medicíny NÚSCH, a.s., Bratislava

katarina.danova@nusch.sk

SÚHRN

Vyšetrenie kardiálnych troponínov je základom diagnostiky akútneho infarktu myokardu. Neuromuskulárne ochorenia (NMO), ktoré patria medzi zriedkavé ochorenia, predstavujú heterogénnu skupinu chorôb. U niektorých pacientov s NMO bez zjavných kardiálnych abnormalít sa zistili zvýšené koncentrácie kardiálneho troponínu T. Relatívne menej sa pozorovali zvýšené koncentrácie kardiálneho troponínu I. Vzhľadom na vplyv viacerých faktorov (interferencie, kardiálne poškodenie pri niektorých typoch NMO) zostávajú príčiny a klinický význam diskrepancie medzi zvýšeným cTnT a cTnI neobjasnené. Treba poznamenať, že je málo laboratórií, ktoré poskytujú vyšetrenie oboch kardiálnych troponínov na rýchle rozpoznanie nesúladu podľa algoritmu navrhnutého Mairom a kol. (2022) na vysporiadanie sa s neočakávanými výsledkami kardiálneho troponínu. V budúcnosti budú potrebné ďalšie štúdie s väčším počtom pacientov s NMO, výslovne s vysokým zastúpením pacientov s bolesťou na hrudníku. Zatiaľ zostáva vyhovujúcou voľbou bezpečné a efektívne použitie cTnT vzhľadom na možnosť sériového odberu vzoriek, ktorá uľahčí rozlišovať akútne a chronické srdcové poškodenie u pacientov s bolesťou na hrudníku a základnou diagnózou NMO.

Kľúčové slová: cTnT; cTnI; neuromuskulárne ochorenia

ABSTRACT

Troponin testing is a cornerstone in the diagnosis of myocardial infarction. In some patients with rare, heterogeneous disorders collectively known as skeletal muscle disease (SMD) there have been several observations of elevated cTnT but relatively few observations of elevated cardiac troponin I, in the absence of overt cardiac abnormalities. Due to a number of confounding factors, not least known cardiac involvement in some forms of SMD, the underlying causes and clinical significance of this mismatch between cTnT and cTnI elevations remain to be clarified. It should be noted that only a few laboratories have at their disposal both cTnI and cTnT assay to allow them to quickly identify a discordance between the two tests as suggested by Mair et al. (2022) in their algorithm on how to deal with unexpected cardiac troponin results. Future studies including more patients with SMD, specifically including a high representation of those presenting with chest pain, are needed. In the interim, given the option of serial sampling as a mitigation strategy for distinguishing between acute and chronic cardiac injury, the safe and effective use of cTnT in patients with chest pain and underlying SMD remains feasible.

Key words: cTnT; cTnI; skeletal muscle disease

REFERENCES

1. **Deltombe, M., Gruson, D. (2023):** High-sensitive cardiac troponin T: are turbulences coming? Clin Chem Lab Med, 61(1): e11-e12. doi: 10.1515/cclm-2022-0497.

2. **du Fay de Lavallaz et al. (2022):** Skeletal muscle disorders: A noncardiac source of cardiac troponin T, Circulation, 145: 1764-1779. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058489.

3. **Mair, J. et al. (2022):** How to deal with unexpected cardiac troponin results, Eur Heart J Acute Cardiovasc Care 11: e1-e3. doi: 10.1093/ehjacc/zuac023.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 49–50

ÚLOHA LABORATÓRNYCH UKAZOVATEĽOV PRI OCHORENIACH SRDCA THE ROLE OF LABORATORY MARKERS IN HEART DISEASES

Slanina Miroslav

Kardiocentrum, FNŠP J.A.Reimana Prešov

slaninamir@gmail.com

SÚHRN

V našej prednáške sa venujeme problematike laboratórnych ukazovateľov pri základných ochoreniach srdca a obehovej sústavy. Ich úlohu a význam posudzujeme osobitne pri jednotlivých základných kardiologických chorobných entitách. Najväčšiu dôležitosť v tejto oblasti predstavuje ischemická choroba srdca a srdcové zlyhávanie. V tejto súvislosti venujeme osobitný priestor kardiálnym biomarkerom (KBM) pri akútnom koronárnom syndróme (AKS) a srdcovom zlyhávaní. Ako najdôležitejšie laboratórne ukazovatele sa v tejto súvislosti javia kardiálne troponíny a natriuretické peptidy. V úzkej spolupráci s biochemickým laboratóriom predstavujú nielen nástroj exaktnej diagnostiky, ale aj prostriedok menežovania pacientov v akútnych aj chronických podmienkach.

V preventívnej oblasti a v procese ovplyvnenia rizikových faktorov veľkých kardiálnych príhod a úmrtnosti dávame v našej prednáške priestor vyšetreniu hladín lipoproteínov a ich priebežnému sledovaniu v procese primárnej a sekundárnej prevencie. V tejto oblasti nabera stále väčší význam aj vyšetrenie markerov zápalu v artériovej cievnej stene (hsCRP), ktorý okrem lipidov predstavuje významný rizikový faktor v procese progresujúcej aterosklerózy.

V závere venujeme pozornosť aj novozníkajúce-
mu odboru kardioonkológia a významu laboratórnych

ukazovateľov v procese posudzovania poškodenia srdca protinádorovou liečbou. Vo všetkých častiach prednášky upozorňujeme na dôležitosť úzkej korelácie medzi laboratórnymi výsledkami a klinickým obrazom pacienta.

Kľúčové slová: akútny koronárny syndróm; kardiálny troponín; natriuretické peptidy

ABSTRACT

In our paper we are dealing with the role of laboratory markers in essential cardiac and circulatory diseases. Their role and importance is evaluated separately in these essential cardiac diseases. The most important in this aspect is coronary artery disease and heart failure. In connection with this, the special focus is put on cardiac biomarkers in acute coronary syndrome (ACS) and in heart failure (HF). The most important laboratory markers in this settings appear cardiac troponins and natriuretic peptides. With close cooperation with biochemistry laboratory findings, they represent not only diagnostic tool but also indispensable part of the treatment in acute and chronic settings as well.

In prevention area and influencing the major risk factors and major adverse cardiac events (MACE), we discuss the examination of the blood lipids and their observation in the process of primary and secondary

prevention. In this area of interest, there is growing evidence of decisive role of inflammation markers in the arterial wall (hsCRP).

Finally, we are dealing with newly emerging specialization – cardiooncology and the importance of some laboratory markers in cancer therapy related cardiac dysfunction. (CTRCD). Throughout the whole paper we are highlighting the importance of close correlation between the laboratory findings and patient's clinical picture.

Key words: acute coronary syndrome; cardiac troponin; natriuretic peptides

REFERENCES

1. **Eggers K.M., Lindahl B. (2017)** Application of cardiac troponin in cardiovascular diseases other than acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2017; 63:223-235.
2. **Randhawa M.S. et al. (2014)** Diagnostic utility of cardiac biomarkers in discriminating Takotsubo cardiomyopathy from acute myocardial infarction. *J Acrd Fail* 2014;20:377.e25-31.
3. **Volpe M., Battistoni A., Rubattu S. (2019)** Natriuretic peptides in heart failure: current achievements and future perspectives. *Int J Cardiol* 2019;281:186-189.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 51–52

HORIEŤ A NEVYHORIEŤ – SYNDRÓM VYHORENIA TO BURN AND NOT TO BURN OUT – BURNOUT SYNDROME

Čmelíková Kristína

Psychiatrické oddelenie, Fakultná nemocnica s poliklinikou J. A. Reimana, Prešov

cmelikova@fnspresov.sk

SÚHRN

Syndrómu vyhorenia je v odborných kruhoch venovaná pozornosť od osemdesiatych rokov minulého storočia, kedy ho definoval Herbert Freudenberg. Od tej doby je pomerne často skúmaným fenoménom, aj keď v súčasnosti nie je samostatnou diagnostickou jednotkou.

Na tému burn-out sa urobilo veľa výskumov v mnohých oblastiach a napriek odlišným výsledkom a interpretáciám nachádzame spoločnú zhodu v tom, že sa jedná predovšetkým o stav psychickej vyčerpanosti s prejavmi v telesnej, emočnej, duševnej a sociálnej rovine, ktorý vzniká v dôsledku pôsobenia intenzívneho, chronického stresu vychádzajúceho z pracovnej činnosti. Rozvíja sa na základe nerovnováhy medzi profesnými očakávaniami a profesnou realitou, kapacitou jedinca a požadovaným výkonom. Aj keď sa v súčasnej dobe záujem odborníkov centruje aj do iných pracovných oblastí, za špecificky rizikové sú stále považované profesie orientované na pomoc druhým, tzv. pomáhajúce profesie, pre ich vysokú mieru expozície emočnej záťaži, zodpovednosti a nasadeniu. Patria medzi nich lekári, ostatní zdravotnícky zamestnanci, psychológovia, sociálni pracovníci, policajti, atď. V zdravotníckych profesiách sú jednotlivci navyše denne konfrontovaní s utrpením, bolesťou, bezmocnosťou, závažnými komplikáciami a smrťou, čo má negatív-

ny dopad nielen na emočné prežívanie, ale aj ostatné zložky osobnosti.

Pri syndróme vyhorenia je dôležité zamerať pozornosť nielen na príznaky, príčiny vzniku, priebehové fázy, podobnosť s diagnosticky prepracovanými poruchami, ale aj na odhaľovanie a posilňovanie protektívnych faktorov, a to ako v rovine jednotlivca (osobnosti zamestnanca) tak aj v podmienkach pracovného prostredia.

Kľúčové slová: syndróm vyhorenia; pracovné zaťaženie; protektívne faktory

ABSTRACT

Burnout syndrome has been a subject of attention in professional circles since the 1980s when it was defined by Herbert Freudenberg. Since then, it has been a relatively frequently studied phenomenon, although it is not currently recognized as a separate diagnostic entity.

Numerous research studies have been conducted on the topic of burnout in various fields. Despite differing results and interpretations, there is a common agreement that it primarily involves a state of psychological exhaustion with manifestations in physical, emotional, mental, and social dimensions. This state arises due to the impact of intense, chronic stress stemming from work-related activities. It develops based on an imbal-

ance between professional expectations and the reality of the profession, an individual's capacity, and the demanded performance. In the present day, experts are increasingly interested in exploring burnout in various occupational fields. However, professions focused on aiding others, known as helping professions, are still considered specifically high-risk due to their elevated exposure to emotional strain, responsibility, and commitment. Among these professions are doctors, other healthcare workers, psychologists, social workers, police officers, etc. In healthcare professions, individuals additionally confront suffering, pain, powerlessness, severe complications and death on a daily basis, which nega-

tively impacts not only their emotional experiences but also other aspects of their personality.

In the context of burnout syndrome, it is important to focus attention not only on symptoms, causes of origin, stages of development, similarities to diagnostically established disorders, but also on uncovering and reinforcing protective factors. This should be done both at the individual level (the employee's personality) and within the conditions of the work environment.

Key words: burnout syndrome; workload; protective factors



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 53–54

BIOMARKERY V DIAGNOSTIKE SCLEROSIS MULTIPLEX: POROVNANIE OLIGOKLONÁLNEJ SYNTÉZY IGG V LIKVORE A VOĽNÝCH ĽAHKÝCH REŤAZCOV KAPPA V LIKVORE

BIOMARKERS IN MULTIPLE SCLEROSIS: COMPARISON OLIGOCLONAL BANDS IGG IN CEREBROSPINAL FLUID AND KAPPA FREE LIGHT CHAINS IN CEREBROSPINAL FLUID

Palková Andrea

Centrálny laboratórny komplex – Pracovisko Klinickej biochémie FNŠP F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

apalkova@nspbb.sk

SÚHRN

Sclerosis multiplex (SM) je diagnostikovaná podľa revidovaných McDonaldových kritérií.

Základom diagnostických kritérií je objektívny dôkaz diseminácie demyelinizačných lézií v priestore a čase, buď podľa klinických príznakov alebo v kombinácii s nálezom magnetickej rezonancie (Polman a kol., 2011). Jedným z McDonaldových diagnostických kritérií je aj pozitívny likvor, t.j. prítomnosť oligoklonálnej skladby imunoglobulínu G (IgG) v likvore a/alebo zvýšený IgG-index. Senzitivita detekcie oligoklonálnych pásov pomocou izoelektrickej fokusácie (IEF) sa udáva 95 %, špecificita 86 % (Freedman a kol., 2005). V posledných rokoch sa intenzívne študuje úloha stanovenia voľných ľahkých reťazcov v likvore (CSF) v diagnostike SM. Viaceré štúdie dokázali súvislosť medzi zvýšenými voľnými ľahkými reťazcami kappa a SM (Hegen a kol., 2022).

Cieľom práce bolo porovnať laboratórne výsledky stanovenia oligoklonálnych frakcií pomocou izoelektrickej fokusácie (OCB) s kvantitatívnym stanovením kappa free v likvore, resp. indexom kappa free (Index KFLC).

V súbore 310 pacientov so suspektnou SM sme analyzovali párové vzorky CSF/sérum, obdobie august 2019 - júl 2023. Vo všetkých vzorkách sme vyšetrili oligoklonálne frakcie IgG metódou IEF, kappa free v likvore a vypočítali index kappa free. Na stanovenie oligoklonálnych frak-

cií IgG sme použili prístroj Hydrasys 2, súpravu Hydragel 3 CSF Focusing, f. Sebia. Voľné ľahké reťazce kappa sme merali imunoturbidimetricky (prístroj Optilite, súprava Freelite Mx™ Kappa Free Kit, f. Binding Site). Pre výpočet indexu kappa sme použili vzorec: $KFLC \text{ index} = (\text{CSF_kappa} / \text{S_kappa}) / (\text{CSF_albumin} / \text{S_albumin})$.

Ako pozitívny nález pre prítomnosť oligoklonálnych frakcií sme hodnotili vzorky, ktoré mali v likvore viac ako 2 oligoklonálne pásy IgG pri neprítomnosti v sére alebo viac pásov v likvore ako v sére. Ako negatívny nález sme hodnotili neprítomnosť oligoklonálnych pásov v likvore aj v sére, resp. prítomné identické oligoklonálne pásy v likvore aj v sére (vrátane monoklonálnych IgG). Vo vzorkách s pozitívnym nálezom oligoklonálnych frakcií (n=84) malo zvýšený index KFLC ($\geq 5,9$) 81 pacientov, negatívny index KFLC mali 3 pacienti, u ktorých vyšetrenie magnetickej rezonanciou nepotvrdilo demyelinizačné lézie. Vo vzorkách s negatívnym nálezom oligoklonálnych pásov (n=226) malo normálny index KFLC 202 pacientov, u ostatných bol index kappa zvýšený (n=11), resp. iba mierne zvýšený KFLC (n=13, index do 10). U 207 pacientov sme mali k dispozícii vyšetrenie mozgu/miechy magnetickej rezonanciou (MRI) podľa protokolu SM. Pri pozitívnom nález MRI (n=39) bol pozitívny výsledok OCB u 37 pacientov, v prípade indexu kappa u 38 pacientov. Pri negatívnom nález MRI (n=168) bol negatívny výsledok OCB u 152 pacientov, v prípade indexu kappa u 143 pacientov. Pozitívne výsledky

OCB, resp KFLC v prípade negatívneho nálezu na MRI mali pacienti s inými neurologickými ochoreniami ako SM (encefalitída, infekcie CNS, tumor). Senzitivita bola vypočítaná 95 % pre OCB a 97 % pre kappa index, špecificita bola 91 % pre OCB a 85 % pre kappa index.

Z výsledkov porovnania oboch metód vyplýva, že index kappa má oproti vyšetreniu oligoklonálnych frakcií pri diagnostike MS lepšiu senzitivitu, ale nie špecificitu. Kvantitatívne stanovenie kappa free v likvore a výpočet indexu KFLC tak predstavuje automatizovanú a rýchlu alternatívu k vyšetreniu oligoklonálnych frakcií, je možné ho použiť ako efektívny skrining.

Kľúčové slová: sclerosis multiplex; oligoklonálne IgG; kappa free index; mozgovomiechový mok.

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is diagnosed using the revised McDonald Criteria. The diagnosis of MS is based on clinical history and the demonstration of dissemination of local lesion in time and space by magnetic resonance images (Polman et al, 2011). One of McDonald diagnostic criteria for MS is positive cerebrospinal fluid (CSF), i.e. isoelectric focusing evidence of oligoclonal bands (OCB) and/or elevated IgG-index. Sensitivity for detecting oligoclonal band using isoelectric focusing is given in excess of 95 %, specificity 86 % (Freedman et al, 2005). In the last decades immunoglobulin free light chains have been widely studied as promising new marker of intrathecal synthesis in MS. Numerous studies have demonstrated elevated kappa free light chains (KFLC) in CSF of multiple sclerosis patients (Hegen et al, 2022).

We aimed to compare the laboratory results determination of oligoclonal bands by isoelectric focusing with the kappa free light chains quantitation in the CSF.

Serum/CSF paired samples were analysed of 310 patient's samples with suspected MS, between August 2019 - July 2023. In all samples we examined oligoclonal bands by isoelectric focusing, kappa free light in CSF and calculated index kappa. For detection oligoclonal bands IgG we used Hydrasys 2, kit Hydragel 3 CSF Focusing, f.Sebia. The concentration kappa free light chains we measured by immunoturbidimetry (Optilite, Freelite Mx™Kappa Free Kit, f. Binding Site). To calculate the Kappa Index we used the formula: $KFLC\ index = (CSF_kappa / S_kappa) / (CSF_albumin / S_albumin)$.

As a positive finding for the presence of oligoclonal

bands, we evaluated samples that had more than 2 oligoclonal bands of IgG in the CSF in the absence in serum or more bands in CSF than in serum. As a negative finding, we evaluated the absence of oligoclonal bands in both CSF and serum, respectively identical oligoclonal bands in both CSF and serum (including monoclonal IgG). Of the positive OCB group (n=84), 81 patients had elevated KFLC (≥ 5.9), 3 patients whose MRI did not confirm demyelinating lesions had a negative KFLC. Of the negative OCB group (n=226), 202 patients had a normal KFLC index, while the rest had an elevated kappa index (n=11) or only slightly elevated KFLC (n=13, index do 10). For 207 patients we could find results of magnetic resonance images of the brain/spinal cord (MRI). Of the positive MRI group (n=39), 37 patients had positive oligoclonal bands, and 38 patient had positive index KFLC. Of the negative MRI group (n=168), 152 patients had negative OCB oligoclonal bands, and 143 patients had negative index kappa. Patients with neurological diseases other than MS (encephalitis, CNS infections, tumor) had positive results of OCB or KFLC in case of negative findings on MRI. The sensitivity were 95 % for OCB and 97 % for kappa index. The specificity were 91 % for OCB and 85 % for kappa index.

The results of the comparison of both methods show that the kappa index has better sensitivity, but not specificity, in the diagnosis of MS, compared to the examination of oligoclonal fractions. The quantitative determination of kappa free in liquor and the calculation of the KFLC index thus represent an automated and rapid alternative to the examination of oligoclonal bands, it can be used as an effective screening.

Key words: multiplex sclerosis; oligoclonal bands IgG; Kappa Free Index; cerebrospinal fluid

REFERENCES

- 1. Freedman, M.S. et al. (2005):** Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis, *ArchNeurol*, 2005(62):865-870.
- 2. Hegen, H. et al. (2022):** Cerebrospinal Fluid Kappa Free Light Chains for the Diagnosis of Multiple Sclerosis: A systematic review and meta-analysis, *Multiple Sclerosis Journal*, 2023(29):169-181.
- 3. Polman, CH. et al. (2011):** Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2010 Revisions of the McDonald Criteria, *AnnNeurol*, 2011(69):292-302.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 55–57

VYŠETROVANIE SÉROVÝCH NUKLEOKAPSIDOVÝCH ANTI-SARS-COV-2 IgM/IgG PROTILÁTKO - NÁSTROJ NA SLEDOVANIE VÝVOJA PANDÉMIE COVID-19 V OBDOBÍ ROKOV 2020-2023 (ANALÝZA VLASTNÝCH DÁT) DETECTION OF SERUM NUCLEOCAPSID ANTI-SARS-COV-2 IgM/IgG ANTIBODIES - A TOOL FOR MONITORING THE DEVELOPMENT OF THE COVID-19 PANDEMIC OVER THE YEARS 2020-2023 (ANALYSIS OF OWN DATA)

Magula Daniel, Vaverková Gabriela, Vinklerová Silvia

Oddelenie klinickej biochémie, Špecializovaná nemocnica sv. Svorada Zobor, n.o., Nitra

magula@snzobor.sk

SÚHRN

Koronavírus SARS-CoV-2, vyvolávateľ pandémie COVID-19, obsahuje vo svojej štruktúre viaceré proteíny, ktoré po infekcii vyvolávajú imunitnú odpoveď organizmu. Medzi jeho štruktúrne proteíny patria membránový (M), obalový (E), vrcholový (S) a nukleokapsidový (N) proteín. Sérologickú odpoveď organizmu charakteristickú tvorbou špecifických protilátok voči jednotlivým proteínom možno sledovať laboratórnymi metódami a nepriamo tak získať informáciu o tom, či a kedy sa organizmus stretol s príslušným vírusom. Na dôkaz tvorby protilátok IgM/IgG voči nukleokapsidovému (N) proteínu vyvinula spoločnosť Roche špecifický test. Vďaka nemu možno potvrdiť nielen prítomnosť, ale aj dynamiku post-infekčnej imunitnej odpovede voči vírusu SARS-CoV-2 aj v prípadoch, kedy sa priamymi metódami (napr. PCR diagnostika) nepodarilo v čase odberu zachytiť prítomnosť vírusu.

V priebehu pandémie COVID-19 bola na Oddelení klinickej biochémie špecializovanej nemocnice počas 38 mesiacov v období máj 2020 – jún 2023 v sérach prijatých hospitalizovaných a vyšetovaných ambulantných pacientov vyšetovaná aj prítomnosť reaktívnych protilátok IgM/IgG špecifických voči N proteínu vírusu SARS-CoV-2. Vyšetrenia sa vykonávali na automatickom imunoanalýzátore COBAS e411 za využitia diagnostickej súpravy Elecsys®

Anti-SARS-CoV-2 (obe Roche Diagnostics), určenej na kvalitatívnu in vitro detekciu protilátok IgM/IgG voči vírusu SARS-CoV-2 v ľudskom sére a plazme.

Retrospektívne sme podľa jednotlivých mesiacov sledovaného pandemického obdobia analyzovali podiely sér s pozitívnym nálezom IgM/IgG protilátok a usporiadali ich do longitudinálneho radu dát. Pozitívne nálezy poukazovali na pacientov, ktorí boli infikovaní koronavírusom SARS-CoV-2; po dvoch týždňoch od infekcie bolo možné ako skorý marker imunizácie zachytiť protilátky typu IgM, o niečo neskôr aj protilátky typu IgG. Postupom času titer týchto protilátok v sérach klesá, pričom v sére dlhšie pretrvávajú protilátky typu IgG.

V období máj 2020 – jún 2023 bola prítomnosť protilátok IgM/IgG vyšetrená celkovo v 24 175 sérach pacientov (v priemere 636 sér mesačne). Negatívne nálezy (cut-off-index - COI menší ako 1.00) poukazovali na stav negatívnej protilátkovej odpovede, kedy sa pacient s vírusom SARS-CoV-2 nestretol, resp. nebol ním infikovaný. V prvom mesiaci sledovania - v máji 2020 bolo zachytených 0.8% sér s pozitívnym nálezom špecifických protilátok IgM/IgG. Ďalšie mesiace vykazovali nasledovné podiely pozitívnych nálezov: október 2020 – 1.6%, január 2021 – 49.3%, máj 2021 – 30.9%, október 2021 – 27.1%, január 2022 – 39.3%, máj 2022 – 65.2%, október 2022 – 66.2%, január 2023 – 76.7%. V poslednom sledovanom mesiaci

jún 2023 dosiahol podiel pozitivity 79.9%. Mesiacom zlomu v longitudinálnom sledovaní bol marec 2022, kedy podiel pozitívnych sér dosiahol 51.5%; odvtedy až do konca sledovaného obdobia bol v každom mesiaci tento podiel vyšší ako 50%.

Detekcia pozitivity protilátok IgM/IgG dávala počas pandémie COVID-19 významnú epidemiologickú informáciu o stave infikovanej SARS-CoV-2. Veľmi prínosnou sa detekcia protilátok ukázala aj z medicínskeho hľadiska, najmä u onkologických pacientov, ktorí v pravidelných trojtýždňových intervaloch podstupovali chemoterapiu. Sérokonverzia protilátok IgM/IgG v posledných 3 týždňoch poukazovala na akútny priebeh infekcie, ktorý by mohol byť kontraindikáciou pre podanie agresívnej chemoterapie.

Vyšetrovanie nukleokapsidových (N) protilátok dáva informáciu o infekcii koronavírusom SARS-CoV-2 aj v prípadoch, kedy u pacienta nebola zachytená infekcia v danom čase priamou metódou detekcie. Zachytia sa aj jedinci, ktorí prekonali klinicky nemú, resp. asymptomatickú infekciu. Postupný vzostup podielu pozitívnych náleзов preukázaný v našej štúdii môže zároveň poukazovať i na stav premorenosti populácie voči SARS-CoV-2 v jednotlivých mesiacoch pandémie. V individuálnych prípadoch, napr. u onkologických pacientov, môže čerstvá sérokonverzia indikovať práve prebiehajúcu infekciu a tak pomôcť v manažmente podávania onkologickej terapie. Opätovný vzostup titra protilátok môže signalizovať reinfekciu SARS-CoV-2 a naopak, pokles titra špecifických protilátok môže naznačovať priaznivý priebeh rekonvalescencie.

Kľúčové slová: pandémia COVID-19; sérové nukleokapsidové anti-SARS-CoV-2 protilátky; postinfekčná imunita COVID-19

ABSTRACT

The SARS-CoV-2 coronavirus, the causative agent of the COVID-19 pandemic, contains several proteins in its structure which trigger the body's immune response after infection. Its structural proteins include the membrane (M), envelope (E), spike (S) and nucleocapsid (N) proteins. The serological response of the organism, characterised by the production of specific antibodies to the individual proteins, can be monitored by laboratory methods and thus indirectly provide information on whether and when the organism has encountered the

virus in question. Roche has developed a specific test to demonstrate the production of IgM/IgG antibodies to the nucleocapsid (N) protein. It can confirm not only the presence but also the dynamics of the post-infectious immune response to SARS-CoV-2, even in cases where direct methods (e.g. PCR diagnostics) failed to detect the presence of the virus at the time of sampling.

During the COVID-19 pandemic, the presence of reactive IgM/IgG antibodies specific to the N protein of SARS-CoV-2 virus was investigated in sera of admitted inpatients and examined outpatients at the Department of Clinical Biochemistry of a specialized hospital during 38 months between May 2020 and June 2023. The examinations were performed on a COBAS e411 automated immunoassay analyzer using the Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 diagnostic kit (both Roche Diagnostics), designed for qualitative in vitro detection of IgM/IgG antibodies to SARS-CoV-2 virus in human serum and plasma.

We retrospectively analyzed the proportions of IgM/IgG antibody-positive sera by month of the pandemic period and organized them into a longitudinal data series. Positive findings were indicative of patients who were infected with SARS-CoV-2 coronavirus; two weeks after infection, IgM-type antibodies could be detected as an early marker of immunization, and IgG-type antibodies a little later. The titre of these antibodies in sera declines over time, with IgG antibodies persisting longer in serum.

Between May 2020 and June 2023, a total of 24,175 patient sera were tested for the presence of IgM/IgG antibodies (an average of 636 sera per month). Negative findings (cut-off-index - COI less than 1.00) indicated a negative antibody response status, where the patient had not encountered or was not infected with SARS-CoV-2 virus. In the first month of follow-up - in May 2020, 0.8% of sera with a positive finding of specific IgM/IgG antibodies were captured. Other months showed the following proportions of positive findings: Oct 2020 - 1.6%, Jan 2021 - 49.3%, May 2021 - 30.9%, Oct 2021 - 27.1%, Jan 2022 - 39.3%, May 2022 - 65.2%, Oct 2022 - 66.2%, Jan 2023 - 76.7%. In the last month under review, June 2023, the positivity rate reached 79.9%. The breakthrough month in the longitudinal follow-up was March 2022, when the proportion of positive sera reached 51.5%; from then until the end of the follow-up period, the proportion was above 50% in every month.

The detection of IgM/IgG antibody positivity gave

significant epidemiological information on the status of SARS-CoV-2 infection during the COVID-19 pandemic. The detection of antibodies also proved to be very beneficial from a medical point of view, especially in cancer patients undergoing chemotherapy at regular three-week intervals. Seroconversion of IgM/IgG antibodies in the last 3 weeks indicated an acute course of infection, which could be a contraindication for the administration of aggressive chemotherapy.

Nucleocapsid (N) antibody testing provides information about SARS-CoV-2 coronavirus infection even in cases where the patient was not infected at the time by a direct detection method. Individuals who have had a clinically silent or asymptomatic infection will also be detected. The gradual increase in the proportion of positive detections demonstrated in our study may also indicate the proportion of overcoming SARS-CoV-2 infection in population in each month of the pandemic. In individual cases, e.g. in cancer patients, recent seroconversion may indicate ongoing infection and thus help in the management of cancer therapy administration. A resurgence of antibody

titres may indicate reinfection with SARS-CoV-2 and, conversely, a decline in specific antibody titres may indicate a favourable course of recovery.

Key words: COVID-19 pandemic; serum nucleocapsid anti-SARS-CoV-2 antibodies; COVID-19 post-infectious immunity

REFERENCES

- 1. Magula, D., Vaverková, G., Vinklerová, S. (2021):** Vývoj prevalencie reaktívnych protilátok typu IgM/IgG voči nukleokapsidovému antigénu vírusu SARS-CoV-1 v sérach pacientov Špecializovanej nemocnice sv. Svorada Zobor s vybranými skupinami diagnóz v období máj 2020 – február 2021. *Laboratórna diagnostika*. XXVI., 1, 2021: pp 35-42. doi: 10.5281/zenodo.4778048
- 2. Li et al. (2023):** Long-term evaluation of the seroprevalence of SARS-CoV-2 IgG and IgM antibodies in recovered patients: a meta-analysis. *BMC Infectious Diseases* (2023) 23:444. doi.org/10.1186/s12879-023-08425-3



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 58–58

ODHALENÍ TOXICITY 5-FLUOROURACILU POMOCÍ AUTOMATIZOVANÉHO LCMS DETECTION OF 5-FLUOROURACIL TOXICITY USING AUTOMATED LCMS

Hillmich Ondřej

SHIMADZU Handels GmbH – organizační složka, Praha

ondrej.hillmich@shimadzu.eu.com

SÚHRN

Přednáška se zabývá významem testování na nedostatek enzymu dihydropyrimidin dehydrogenázy (DPD) u pacientů, kteří jsou léčeni fluoropyrimidiny, jako je 5-fluorouracil a jeho prekurzory kapecitabin a tegfur, pro různé formy rakoviny.

Fluoropyrimidiny jsou účinnými antikancerogenními léčivy, ale nedostatek DPD může vést k závažným vedlejším účinkům a dokonce smrtelné toxicitě.

Existuje několik technik analýzy hladiny DPD v krvi. Do popředí se v poslední době dostává analýza pomocí LCMS, která přináší několik výhod. Kvůli komplikované ruční přípravě vzorku před analýzou na LCMS systému byla ale využívána spíše genotypová analýza.

SHIMADZU ovšem přišlo s revolučním řešením přípravy vzorku pomocí svého preanalytického systému CLAM-2040, který je online připojen k LCMS trojitému kvadrupólu LCMS-8060. Příprava a analýza tak proběhne zcela automaticky, což sebou přináší velké ušetření času. Analýza pomocí hmotnostní spektrometrie je navíc specifická, vysokocitlivostní a díky preanalytickému modulu dochází k eliminaci chybovosti lidského faktoru při manuální přípravě vzorku.

Klíčové slová: 5-fluorouracil; dihydropyrimidin dehydrogenáza; kapalinová chromatografie; hmotnostní spektrometrie

ABSTRACT

The lecture addresses the significance of testing for deficiency of the enzyme dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) in patients undergoing treatment with fluoropyrimidines, such as 5-fluorouracil, and its precursors capecitabine and tegafur, for various forms of cancer. Fluoropyrimidines are potent anticancer drugs, but DPD deficiency can lead to severe side effects and even fatal toxicity.

There are several techniques for analyzing DPD levels in the blood. Recently, the forefront has seen the rise of analysis using LC-MS, which brings several advantages. However, due to the complex manual sample preparation prior to LC-MS analysis, genotypic analysis has been preferred.

SHIMADZU, however, has introduced a revolutionary solution for sample preparation using their preanalytical system CLAM-2040, which is connected online to the LC-MS triple quadrupole LCMS-8060. Sample preparation and analysis thus proceed entirely automatically, resulting in significant time savings. Mass spectrometry-based analysis is additionally specific and highly sensitive, and thanks to the preanalytical module, it eliminates the human factor error in manual sample preparation.

Key words: 5-fluorouracil; dihydropyrimidine dehydrogenase; liquid chromatography; mass spectrometry

....pre komplexne dokonalé laboratórium sú dôležité detaily

- *automatické ELISA analyzátory* • *automatizovaná močová analýza* • *osmometria*
- *glukózové analyzátory* • *analyzátor HbA1c* • *diagnostika gastrointestinálnych ochorení*



FUS 3000

nový model osvedčených hybridných močových analyzátorov

- integrovaná fyzikálna, chemická analýza a analýza sedimentu
- vysokorýchlostná technológia fotografie vzoriek (2000 obrázkov z jednej vzorky)



ThunderBolt

dvojplatničkový ELISA automat, otvorená inovatívna platforma

- flexibilný software umožňujúci naprogramovať širokú škálu protokolov
- vhodný pre ELISA aj chemiluminiscenčné (CLIA) aplikácie



ADAMS A1c, HA-8190

automatický analyzátor glykovaného hemoglobínu

- princíp merania HPLC
- meranie z primárnych skúmaviek alebo kapiekov
- merané parametre:
 - Fast mode - HbA1C, HbF
 - Variant mode - separácia HbS a HbC a detekcia HbE a HbD
- výborná presnosť – CV menej ako 1,00 %



Super GL2

*najpoužívanejší
glukózový analyzátor*

Osmomat 3000

osmometer

- rokmi preverená kvalita
- ekonomická prevádzka



NOVINKA



EU-Fast reader

- rýchle a presné kvantitatívne stanovenie
 - kalprotektínu s najširším rozsahom merania na trhu (0-2100 µg/g),
 - pankreatickej elastázy
 - liečiv Infliximab+Adalimumab (posúdenie efektívnosti biologickej liečby IBD)
- dotyková obrazovka, Wifi konektivita, zabudovaná čítačka čiarových kódov



ThermoFisher
S C I E N T I F I C

We are a supplier of ND family:

NanoDrop products from Thermo Scientific

Instruments for rapid analysis of DNA,
RNA and protein samples in microvolumes.

We are the only company
in the Czech Republic providing authorized
service for these instruments.



M.G.P. spol. s r.o.
Kvítková 1575, Zlín 760 01, Czech Republic

tel.: +420 577 212 140
e-mail: mgp@mgp.cz
www.mgp.cz

MGP, spol. s r.o.
Šustekova 2, Bratislava, 851 04, Slovak Republic

tel.: +421 254 654 841
e-mail: mgp@mgpslov.sk
www.mgp.eu



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 59–63

PARALELY VZNIKU SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI PRE LABORATÓRNU MEDICÍNU A AMERICKEJ ASOCIÁCIE PRE DIAGNOSTIKU A LABORATÓRNU MEDICÍNU PARALLELS BETWEEN THE FORMATION OF THE SLOVAK SOCIETY FOR LABORATORY MEDICINE AND THE AMERICAN ASSOCIATION FOR DIAGNOSTICS AND LABORATORY MEDICINE

Kováč Gustáv, Porubenová Anna, Farkaš Michal, Blažíček Pavel, Kečkéš Štefan, Hudecová Lucia,
Zenková Eva, Malík Ivan

Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta,
Slovenská zdravotnícka univerzita Bratislava

gustav.kovac@gmail.com

SÚHRN

V príspevku popisujeme transformáciu laboratórnej diagnostiky ako aj vývoj procesu v USA a SR. Začíname vývojom Slovenskej spoločnosti pre laboratórnu medicínu v období 1989 – 2023, nadväzujeme popisom zmeny Americkej asociácie pre klinickú chémiu na Asociáciu pre diagnostiku a laboratórnu medicínu v roku 2023, nakon sa pokúšame popísať vývoj Americkej asociácie pre klinickú chémiu počas obdobia 1948 – 2022.

Kľúčové slová: transformácia laboratórnej diagnostiky; Slovenská spoločnosť pre laboratórnu medicínu; Americká asociácia pre klinickú chémiu; Asociáciu pre diagnostiku a laboratórnu medicínu

ABSTRACT

In this paper we describe the transformation of laboratory diagnostics as well as the evolution of the process in the USA and Slovakia. We begin with the evolution of the Slovak Society for Laboratory Medicine during the period 1989-2023, follow with a description of the change of the American Association for Clinical Chemistry to the Association for Diagnostic and Laboratory Medicine in 2023, and finally attempt to describe the evolution of the American Association of Clinical Chemistry during the period 1948-2022.

Key words: transformation of laboratory diagnostics; Slovak Society for Laboratory Medicine; American Association for Clinical Chemistry; Association for Diagnostic and Laboratory Medicine

ÚVOD

Cieľom príspevku je charakterizovať transformáciu laboratórnej diagnostiky a popísať paralely jej vývoja v USA a SR. Pod paralelami rozumieme popis zhôd a odlišností.

Slovenská paralela: Vývoj Slovenskej spoločnosti pre laboratórnu medicínu 1989 – 2023

Slovensko je krajina so silnou monovalentnou históriou odborov ako klinická biochémia, hematológia a transfuziológia, imunológia, klinická mikrobiológia a lekárska genetika. Zavedenie polyvalentného odboru laboratórna medicína na Slovensku napriek dlhodobej tradícii polyvalencie v rámci vyspelých krajín západnej Európy (Nemecko, Rakúsko, Švajčiarsko, Belgicko, Francúzsko, Portugalsko, Španielsko) a USA (Clinical Pathology) a existencii Európskeho syllabu laboratórnej medicíny nebolo ľahké ani jednoduché. Možno ho rozdeliť do niekoľkých etáp.

V roku 1994 – 1997 sa na Slovenskej zdravotníckej univerzite (SZU) realizovala štúdia stavu financovania laboratórnej diagnostiky vo vyspelých krajinách západnej Európy a USA a nadväzujúce pilotné štúdie zisťovania nákladov na

vytvorenie odboru laboratórna diagnostika na Slovensku, v troch iteratívnych cykloch.

Rok 1998 možno považovať za začiatok organizovania výročných konferencií LABMED s medzinárodnou účasťou zameraných na inováciu laboratórnej diagnostiky a odstraňovanie medzier medzi SR a vyspelými krajinami EU - dodnes ich bolo zorganizovaných 25.

V roku 1999 sa realizovala prvá akreditácia klinického laboratória na Slovensku – Klinika biochémie NsP akademika L. Dérebra Bratislava podľa ISO 17 025.

V rokoch 2000-2002 prišlo ku založeniu Slovenskej spoločnosti pre laboratórnu medicínu ako aj nového študijného špecializačného odboru s polyvalentným charakterom: laboratórna medicína na báze odporúčaní a publikácií *Clinical Laboratory Medicine* od McClatcheyho (2002), *The Blue book* Európskej únie lekárskeho špecialistov (najnovšia verzia 2023), a syllabu Konferencie klinickej chémie Európskeho spoločenstva (European Community Confederation of Clinical Chemistry – EC4, 1999).

V roku 2004 vznikol na LF SZU Ústav pre chémiu, klinickú biochémiu a laboratórnu medicínu (ako pokračovanie predchádzajúcej Katedry klinickej biochémie) - pracoviska s celonárodnou pôsobnosťou a zodpovednosťou pre postgraduálnu výučbu v laboratórnej medicíne a klinickej biochémii pre všetky kategórie zdravotníckych pracovníkov.

V roku 2005 Slovenská zdravotnícka univerzita a Slovenská spoločnosť pre laboratórnu medicínu v spolupráci s Univerzitnou nemocnicou akademika L. Dérebra v Bratislave zakladajú prvé integrované a konsolidované pracovisko laboratórnej diagnostiky na území bývalého ČSFR „Kliniku laboratórnej medicíny“.

V rokoch 2008 – 2014 Slovenská spoločnosť pre laboratórnu medicínu v spolupráci so SZU, Všeobecnou zdravotnou poisťovňou (VŠZP) a Alpha medical Ltd. (v súčasnosti Unilabs Slovensko s.r.o.) realizovali sériu pilotných štúdií zameraných na indikátory kvality, personálne benchmarky, systémy kvality a monitoring kvality.

Postgraduálne špecializačné štúdium laboratórnej medicíny v SR je uvádzané Európskou federáciou laboratórnej medicíny (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EFLM) ako vzor; SR ako jedna z dvoch krajín Európskej únie (EU) spĺňa podmienky definované direktívou Európskej komisie. Štúdium je určené pre lekárov, chemikov a biológov, nadväzuje na pregraduálne štúdium všeobecného lekárstva v trvaní 6 rokov chémie

alebo biológie v trvaní 5 rokov. Absolventi štúdia používajú profesionálny titul „lekár – špecialista v laboratórnej medicíne“ a „laboratórny diagnostik – špecialista v laboratórnej medicíne“ v súlade s Vyhláškou MZ SR 513/2011 o používaní titulov a skratiek spojených s oprávnenosťou vykonávať zdravotnícke povolanie. Všetky vyššie uvedené aktivity boli prezentované na domácich a zahraničných vedeckých konferenciách a publikované v domácich a zahraničných časopisoch.

Slovenská spoločnosť pre laboratórnu medicínu v spolupráci s:

SZU (prof. MUDr. Ján Štencl CSc., Dr. h. c. prof. PhD. Dana Farkašová, CSc.),

Európskou úniou medicínskych špecialistov (Dr. Med. Habil. Utz Merten, Dr. Augusto Machado),

EFLM (Dr. Gilbert Wieringa, Dr. Huib Storm),

VŠZP (MUDr. Beáta Havelková),

Synlab GmbH (Alexander Hoffmann),

Alpha medical Ltd. / Unilabs Slovensko s.r.o. (Ing. Peter Lednický, Ing. Katarína Rumanová),

Ministerstvom zdravotníctva Slovenskej republiky - MZ SR (prof. MUDr. Tibor Šagát CSc., prof. MUDr. Roman Kováč CSc. mim. profesor, MUDr. Ján Gajdoš a MUDr. Eva Vivodová), použitím a zavedením nástrojov, ako nákladový systém financovania laboratórnej diagnostiky, integrácia a konsolidácia monovalentných laboratórií, akreditačný štandard ISO 15 189 a študijný špecializačný odbor laboratórna medicína (akreditovaný odbor v súlade s EU direktívou), zmenila charakter laboratórnej diagnostiky na Slovensku a prispela k dosiahnutiu konkrétnych výsledkov. V súčasnosti reprezentuje laboratórnu diagnostiku viac ako 30 akreditovaných klinických laboratórií, viac ako 10 polyvalentných oddelení laboratórnej medicíny a viac ako 50 polyvalentných špecialistov v akreditovanom študijnom špecializačnom odbore laboratórna medicína.

Americká paralela: Zmena Americkej asociácie pre klinickú chémiu na Asociáciu pre diagnostiku a laboratórnu medicínu 2023

21. 3. 2023 správna rada Americkej asociácie pre klinickú chémiu (American Association for Clinical Chemistry – AACC) jednomyseľne odhlasovala zmenu názvu asociácie na Asociáciu pre diagnostiku a laboratórnu medicínu (Association for Diagnostics & Laboratory Medicine – ADLM) zmenou stanov. Hlasovanie členov o tranzícii AACC na ADLM bolo schválené 21. apríla 2023 aj prostredníctvom

on-line hlasovania, v ktorom sa viac ako dvojtretinová väčšina vyslovila za zmenu názvu. Plán zmeniť názov na ADLM bol výsledkom dlhoročných úvah a prieskumov AACC, ktoré sa začalo v roku 2019, v ktorých sa strategicky premýšľalo o tom, ako najlepšie pripraviť organizáciu na budúcnosť, pričom sa do úvahy brali aj podnety zainteresovaných strán. V priebehu rokov sa asociácia stala inkluzívnejšou pre všetkých, ktorí pracujú v klinickom laboratóriu alebo s ním spolupracujú. Uznáva to, čo sa v rámci pilierov nášho strategického plánu robí a zabezpečuje, aby širší svet pochopil, že máme cenný obsah a odborné znalosti, ktoré sú pre svet relevantné, avšak zároveň odstraňuje prekážky spolupráce vyplývajúce z pôvodného názvu. Oznam o zmene názvu bol zverejnený 25.4.2023, s plánom oficiálne zverejniť zmenu názvu až v júli 2023 na Výročnom vedeckom stretnutí AACC 2023 a výstave Clinical Lab Expo. Transformácia bude podľa plánov trvať niekoľko rokov, kým plne neprenikne do všetkých programov, podujatí a služieb. Organizácia má v pláne naďalej informovať členov o procese transformácie. Aby sa zabezpečil ďalší rast a prosperita asociácie, je potrebné na dennej báze komunikovať víziu: kto sme, za čím si stojíme a prečo je naša práca dôležitá. Tento nový názov nám ponúka iný spôsob, ako o sebe hovoriť, pričom vízia organizácie zostáva rovnaká: lepšie zdravie prostredníctvom laboratórnej medicíny.

Podľa slov Dr. Shannon Haymond PhD., DABCC, FAACC, vtedajšej prezidentky AACC, ADLM zostane profesionálnym domovom spájajúcich sa laboratórnych odborníkov s cieľom napredovať, a cieľom nového názvu je rozšíriť pozvánku na spoluprácu, nie ju zúžiť (Malone a Polen, 2023).

V nadväznosti bola zverejnená ďalšia výzva: správna rada pozvala všetkých profesionálnych, prechodných a emeritných členov, aby sa pripojili na jedno z dvoch virtuálnych stretnutí «Opýtajte sa na čokoľvek» o výskume a úvahách, ktoré viedli k rozhodnutiu o zmene názvu.

27. 6. 2023 boli zverejnené výsledky volieb do 14-člennej správnej rady ADLM:

prezident: Octavia M. Peck Palmer, PhD, FAACC

zvolený prezident (President-Elect): Anthony Killen, MD, BCh, PhD, DABCC, FAACC;

odstupujúci prezident (Past President): Shannon Haymond, PhD, DABCC, FAACC;

tajomník: Christopher McCudden, PhD, DABCC, FACB, FCACB;

pokladník: Y. Victoria Zhang, MBA, PhD, DABCC, FAACC;

6 riaditeľov: Joe M. El-Khoury, PhD, DABCC, FAACC; Daniel T. Holmes, MD, FRCPC; Stanley F. Lo, PhD, DABCC, FAACC; Christina Lockwood, PhD, DABCC, DABMGG, FAACC; M. Laura Parnas, PhD, DABCC, FAACC; Bonny Lewis Van PhD, FAACC, HCLD(ABB);

3 členovia ex-officio: Allison Chambliss, PhD, DABCC, FAACC; Kacy Peterson, MBA, MLS (ASCP)^{CM}, DLM (ASCP); Mark J. Golden, FASAE, CAE.

Za prezidenta Akadémie AACC bol zvolený Mgr. Qing H. Meng, MD, PhD, DABCC, FAACC a za predsedníčku Vedcov klinických laboratórií AACC bola zvolená Mgr. Reid Rosehill, MS, MLS (ASCP)^{CM}.

Vývoj Americkej asociácie pre klinickú chémiu, AACC, 1948 – 2022

AACC bola založená pred 75 rokmi v roku 1948. Od dôb svojho založenia až po súčasnosť sa vyznačovala polyvalentným prístupom k laboratórnemu riešeniu medicínskej problematiky. Môžeme to demonštrovať na témach pertraktovaných v časopise Clinical Chemistry dnes a pred 20 rokmi, ako aj pri porovnávaní obsahu / tém v jednotlivých monografiách.

Napríklad vo februárovom čísle Clinical Chemistry z roku 2004 boli témy uverejnené v nasledujúcich rubrikách:

Prehľadové práce (o stratégii vývoja biomarkerov srdcového zlyhania)

Názor odborníka (o výzve diagnostiky neonatálnej sepsy)

Vedecké publikácie, zaradené do sekcií:

Molekulárna diagnostika a genetika

Medicína založená na dôkazoch a využitie testov

Proteomika a proteínové markery

Diagnostika rakoviny

Lipidy, lipoproteíny a kardiovaskulárne rizikové fak-

tory

Monitorovanie drog a toxikológia

Endokrinológia a metabolizmu

Automatizácia a analytické techniky

Klinická imunológia

Výživa

Stručné aktuálne informácie

Listy redakcii

Recenzia kníh, softvérov a webových stránok

Korekcie

„Klinický chemik“ (Clinical Chemistry, 2004)

O takmer 20 rokov neskôr, v júnovom čísle *Clinical Chemistry* z roku 2023 boli pertraktované tieto témy:

Editorial (o maximalizácii detekcie variácie počtu kópií (CNV) u pacientov so syndrómom hluchoty a neplodnosti počas štandardného testovania)

Perspektívy (o využití stanovenia srdcového troponínu u pacientov s traumatickým poranením mozgu)

Kvalita a automatizácia (o polygénomnom rizikovom skóre)

Kazuistiky

Prehľadové práce

Vedecké publikácie, zaradené do sekcií:

Molekulárna diagnostika a genetika

Informatika a štatistika

Diagnostika rakoviny

Proteomika a proteínové markery

Infekčné ochorenia

Lipidy, lipoproteíny a kardiovaskulárne rizikové faktory

„Klinický chemik“

Korekcie (*Clinical Chemistry*, 2023).

Prevažná väčšina monografií z obdobia 2002-2013, z ktorých sme čerpali informácie pri vytváraní učebníc laboratórnej medicíny, bola vydaná práve vydavateľstvom AACC (AACC Press). Patria sem publikácie o DNA (Holland a Farkas, 2008), o hematologických vyšetreniach (Reddy a kol., 2007; Marques a Fritsma, 2009), o klinickej chémii (Chiasera a kol., 2008; Clarke, 2011), o klinickej laboratórnej medicíne (Turgeon, 2012; McClatchey, 2002), o molekulárnej diagnostike (Best a kol., 2013), o pochopení laboratórných testov (Maunder, 2011) a o transfúznom lekárstve (Marques a Fritsma, 2007).

ZÁVER

Americká a slovenská paralela majú veľa spoločného, ale aj veľa odlišného: spoločný je výsledok – produkt vývoja – laboratórna medicína, odlišný je proces, priebeh a vývoj: americká paralela má 75 rokov, trvanie slovenskej je minimálne o 10 rokov kratšie.

Americká asociácia pre klinickú chémiu / Asociácia pre diagnostiku a laboratórnú medicínu mala už od vzniku viac-menej polyvalentný charakter, nerobila u svojich členov rozdiely medzi lekármi a nelekármi, zmena názvu z klinickej chémie na laboratórnú medicínu prebehla za menej ako rok rýchlo a hladko, reflektovala dlhoročný vývoj, prístup a filozofiu – kultivovanú výmenu názorov a demokratické voľby.

Slovenská spoločnosť pre laboratórnú medicínu vznikla na základoch československej (neskôr slovenskej) spoločnosti pre klinickú biochémiu. Jej samostatný vývoj začal v roku 1989. Metódou práce bola adaptácia amerických vzorov do slovenského prostredia – dôkazom sú syllaby, minimálne štandardy, učebnice, monografie. Vývoj prebiehal v prostredí konfliktu záujmov a absencie spolupráce: príslušníci monovalentných odborov spočiatku popierali existenciu polyvalentného odboru, a keď už nedokázali popierať existenciu príkladov v iných krajinách, tvrdili, že pre nás je to nevhodné. Známe sú konflikty medzi lekármi a nelekármi a snaha o diskrimináciu nelekárov lekármi pri obsadzovaní primariátov. Najnovšie sa spor preniesol na inú úroveň – nelekári (prírodovedci a inžinieri) sa snažia diskriminovať laborantov s vysokoškolským vzdelaním. Pritom záujem o prácu v odboroch laboratórnej diagnostiky je malý a existujú veľké problémy v jej financovaní.

Slovenská spoločnosť pre laboratórnú medicínu v súčasnosti registruje viac ako 10 polyvalentných pracovísk, viac ako 80 polyvalentných špecialistov a nerobí pri obsadzovaní primariátov rozdiely medzi lekármi, nelekármi a laborantami.

Doporučenia

Odporúčame realizáciu týchto krátko, stredne a dlhodobých opatrení:

Medzi okamžité patrí nominácia krajských odborníkov pre laboratórnú medicínu, doriešenie problémov v doškoľovacej báze spôsobené privatizáciou, publikovanie anglickej verzie slovenských postgraduálnych učebných textov pre laboratórnú medicínu, zorganizovanie spoločnej konferencie Slovenskej spoločnosti pre laboratórnú medicínu (SSLM) a Združenia všeobecných lekárov Slovenska (ZVLS) 15-16 novembra 2023 v Bratislave.

Medzi strednodobé patria obnovenie vydávania časopisu "Diagnóza", fixácia členstva SSLM v svetovej asociácii spoločností pre laboratórnú medicínu, prehĺbenie spolupráce s Európskou úniou lekárskejších špecialistov (Union Européenne Des Médecines Spécialistes, UEMS) a EFLM.

Medzi dlhodobé patrí podrobná analýza dokumentácie rozvoja AACC/ADLM, štúdium podmienok v krajinách s polyvalentným prístupom k laboratórnej diagnostike, identifikácia záujemcov o spoluprácu na spoločných projektoch v rámci SR a ČR.

LITERATÚRA

1. 'Clinical Chemistry | Volume 50 Issue 2' (2004) *Clinical Chemistry*, 69(6), pp. 545–670. EISSN: 1530-8561.
2. 'Clinical Chemistry | Volume 69 Issue 6' (2023) *Clinical Chemistry*, 69(6), pp. 545–670. EISSN: 1530-8561.
3. Bousquet, B. *et al.* (1999) 'EC4 European Syllabus for Post-Graduate Training in Clinical Chemistry. Version 2 — 1999', *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 37(11–12), pp. 1119–1127. doi: 10.1515/CCLM.1999.163.
4. Clarke, W. (2011) *Contemporary practice in clinical chemistry*. 2nd edn. AACC Press.
5. Ellul, P. *et al.* (2023) *The Blue Book, Specialty Training Programme and Curriculum for Gastroenterology and Hepatology*. Edited by P. Ellul. ESBGH - The European Section And Board Of Gastroenterology And Hepatology, UEMS - Union Européenne Des Médecins Spécialistes. Available at: https://www.uems.eu/__data/assets/pdf_file/0009/165078/UEMS-2023.11-European-Training-Requirements-in-Gastroenterology-and-Hepatology-The-Blue-Book-.pdf (Accessed: 12 September 2023).
6. Holland, C. A. and Farkas, D. H. (2008) *DNA from A to Z & Back Again: A Primer on Genomics & Molecular Medicine For...Everyone*. 1st edn. AACC Press.
7. Chiasera, J. M., Hardy, R. W. and Smith, J. A. (2008) *Quick Guide to Clinical Chemistry*. 1st edn. AACC Press.
8. Malone, B. and Polen, M. (2023) *AACC Rebrands to the Association for Diagnostics & Laboratory Medicine, ADLM*. Available at: <https://www.aacc.org/media/press-release-archive/2023/07-july/aacc-rebrands-to-the-association-for-diagnostics-laboratory-medicine#> (Accessed: 12 September 2023).
9. Marques, M. B. and Fritsma, G. A. (2009) *Quick Guide to Coagulation Testing*. 2nd edn. AACC Press.
10. Marques, M. B. and Fritsma, M. G. (2007) *Quick guide to transfusion medicine*. 1st edn. AACC Press.
11. Maunder, R. (2011) *Understanding Laboratory Tests: A Quick Reference*. 1st edn. Elsevier Saunders.
12. McClatchey, K. D. (2002) *Clinical Laboratory Medicine*. 2nd edn. Edited by K. D. McClatchey. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
13. Reddy, V., Marques, M. B. and Fritsma, G. A. (2007) *Quick Guide to Hematology Testing*. 1st edn. AACC Press.
14. Turgeon, M. L. (2012) *Linne & Ringsrud's clinical laboratory science : the basics and routine techniques*. 6th edn. Mosby Elsevier.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 64–67

POSTGRADUÁLNE VZDELÁVANIE V KLINICKEJ BIOCHÉMII NA SLOVENSKU POSTGRADUATE EDUCATION IN CLINICAL BIOCHEMISTRY IN SLOVAKIA

Dobrota Dušan, Cibulka Michal, Čierny Daniel

Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin

dusan.dobrota@uniba.sk

SÚHRN

Práca podáva komplexný prehľad o možnostiach postgraduálneho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov v klinickej biochémii od histórie až po súčasnosť. Zdravotnícke povolania, odborné spôsobilosti, spôsoby vzdelávania a ďalšie náležitosti presne definuje Zákon NR SR č. 578/2004 Z.z. a Nariadenie Vlády SR č. 296/2010. Špecializačné štúdium pre lekára v odbore *klinická biochémia* je dostupné na dvoch zo štyroch lekárskech fakúlt na Slovensku, a to na SZU v Bratislave a JLF UK v Martine. SZU má akreditované aj špecializačné štúdium pre zdravotnícke povolanie laboratórny diagnostik (odbor *laboratórna diagnostika v klinickej biochémii*), a pre povolanie zdravotnícky laborant (odbor *laboratórne vyšetrovacie metódy v klinickej biochémii*). Doktorandské štúdium je dostupné na UPJŠ v Košiciach (program *klinická biochémia*), a na JLF UK (program *lekárska, klinická a farmaceutická biochémia*).

Kľúčové slová: postgraduálne vzdelávanie; klinická biochémia; vzdelávacie inštitúcie

ABSTRACT

This article provides a comprehensive overview of postgraduate training programmes for health professionals in clinical biochemistry from history to present.

Healthcare occupations, professional qualifications, methods of education and other requirements are precisely defined in the Act of the National Council of the Slovak Republic No. 578/2004 and Government Regulation No. 296/2010. Specialisation studies for Doctors of Medicine in *clinical biochemistry* are available at two of the four medical faculties in Slovakia, namely SMU in Bratislava and JFMED CU in Martin. SMU offers accredited specialisation studies for the laboratory diagnostician (*laboratory diagnostics in clinical biochemistry*) and for the medical laboratory technician (*laboratory investigation methods in clinical biochemistry*). Doctoral studies are available at UPJŠ in Košice (*clinical biochemistry*), and at JFMED CU (*medical, clinical and pharmaceutical biochemistry*).

Keywords: postgraduate education; clinical biochemistry; educational institutions

ÚVOD

Výchova a vzdelávanie mladej generácie je základným predpokladom udržania a rozvíjania každého odboru vrátane klinickej biochémie. Po roku 1989 došlo postupne k výrazným zmenám v pregraduálnej, ako aj postgraduálnej výchove novej generácie v rôznych odboroch klinickej a laboratórnej medicíny. Tieto zmeny sa týkali nielen

formálnej stránky, ale aj obsahovej náplne výchovného procesu. Boli svedkami vzniku nových univerzít a fakúlt, na ktorých sa začala vyučovať medicína, stomatológia a nelekárske študijné odbory. Na základe postupného približovania sa k Európskej únii v oblasti výchovy a vzdelávania dostali univerzity a vysoké školy, ktoré mali medicínsky zamerané fakulty možnosť po príslušnej akreditácii zabezpečovať nielen pregraduálnu výučbu, ale aj špecializačné štúdium lekárov a iných zdravotníckych pracovníkov.

Vývoj špecializačného štúdia na Slovensku

Z historického pohľadu sa začiatok špecializačného štúdia na Slovensku datuje od 1. mája 1953, kedy bolo zriadené Školské stredisko Povereníctva zdravotníctva pre doškoľovanie lekárov v Trenčíne. Bola to prvá inštitúcia na Slovensku i v Československu, ktorá sa venovala postgraduálnej výchove lekárov, neskôr farmaceutov i iných zdravotníckych pracovníkov. Dňa 30. novembra 1956 bol zriadený Slovenský ústav pre doškoľovanie lekárov v Trenčíne a 1. januára 1957 Slovenský ústav pre doškoľovanie lekárov v Bratislave s riaditeľstvom v Trenčíne. V roku 1966 Zákon 20/1966 uzákonil špecializačnú prípravu a ďalšie vzdelávanie v zdravotníctve, ktorá viedla i k zmene názvu na Inštitút pre ďalšie vzdelávanie lekárov a farmaceutov (IĎVLF), neskôr ILF so sídlom v Bratislave. Toto bola jediná inštitúcia, ktorá sa zo zákona zaoberala postgraduálnou výchovou zdravotníckych pracovníkov a farmaceutov. V roku 1991 došlo k zlúčeniu ILF a Inštitútu pre ďalšie vzdelávanie stredných zdravotníckych pracovníkov a zmene názvu na Inštitút pre ďalšie vzdelávanie pracovníkov v zdravotníctve – IVZ. V októbri 1998 Minister zdravotníctva upravil názov inštitúcie na Slovenskú postgraduálnu akadémiu medicíny (SPAM). V roku 2002 bolo potrebné prispôsobiť ďalšie vzdelávanie pre podmienky EÚ, preto bola na základe zákona NR SR č. 401/2002 Z.z. z 25. júla 2002 vytvorená 1. septembra 2002 Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave (SZU), ktorá sa tak stala štátnou vysokou školou univerzitného typu s pôsobnosťou v rezorte Ministerstva zdravotníctva SR. SZU mala tri fakulty a jednou z nich bola Fakulta zdravotníckych špecializačných štúdií (FZŠŠ) – v súčasnosti Lekárska fakulta Slovenskej zdravotníckej univerzity (LF SZU). Takto vznikla štvrtá a najmladšia lekárska fakulta na Slovensku (web SZU). V ďalšom vývoji aj ostatné tri lekárske fakulty postupne akreditovali špecializačné štúdiá pre jednotlivé lekárske a nelekárske odbory.

Odborná spôsobilosť zdravotníckych pracovníkov v laboratóriu

Právny rámec pre špecializačné štúdium zdravotníckych a iných zdravotníckych pracovníkov dáva Zákon NR SR č. 578/2004, Z.z., Nariadenie Vlády SR č. 296/2010 o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností. Z tohto zákona a vyhlášky vyplýva, že zdravotnícky pracovník je fyzická osoba vykonávajúca zdravotnícke povolanie lekár, zubný lekár, farmaceut, sestra, pôrodná asistentka a ďalších sedemnášť presne špecifikovaných zdravotníckych povolanií. Ďalej sa tu uvádza, že zdravotnícky pracovník je aj fyzická osoba, ktorá vykonáva povolanie logopéd, psychológ, liečebný pedagóg, fyzik alebo laboratórny diagnostik v zdravotníckom zariadení, pracovník na Úrade verejného zdravotníctva Slovenskej republiky alebo na Regionálnom úrade verejného zdravotníctva a je kategorizovaný ako iný zdravotnícky pracovník.

V prílohe č. 3 k nariadeniu vlády č. 296/2010 Z. z. v časti a) je uvedená sústava špecializačných odborov a certifikovaných pracovných činností pre lekárov (A01 – kód zdravotníckeho povolania, pre ktoré je určený akreditovaný program) s minimálnou dĺžkou trvania špecializačného štúdia päť rokov. Celkovo je tam uvedených 19 odborov. V časti b) sú uvedené špecializačné odbory s minimálnou dĺžkou trvania špecializačného štúdia štyri roky, medzi ktorými je aj *klinická biochémia* pre zdravotnícke povolanie lekár.

V paragrafe 4, Nariadenie vlády SR 296/2010 sa tiež uvádza, že riadenie a organizáciu laboratória vykonáva lekár, ktorý získal buď po: a) odbornú spôsobilosť na výkon odborných pracovných činností podľa § 3 ods. 1, b) odbornú spôsobilosť na výkon špecializovaných pracovných činností v špecializačnom odbore: *klinická biochémia, klinická mikrobiológia, laboratórna medicína alebo lekárska genetika* a po c) odbornú spôsobilosť na riadenie a organizáciu zdravotníctva v niektorom zo špecializačných odborov uvedených v prílohe č. 4 časti A alebo najmenej pätnásťročnú odbornú prax.

Veľmi dôležitou pracovnou pozíciou v laboratóriu je laboratórny diagnostik (I03 – kód zdravotníckeho povolania, pre ktoré je určený akreditovaný program). Toto zdravotnícke povolanie môže vykonávať absolvent špecializačného odboru *laboratórna diagnostika v klinickej biochémii*,

na ktoré sa môže prihlásiť ten, kto získal vysokoškolské vzdelanie druhého stupňa v študijnom odbore *biológia*, v študijnom odbore *biotechnológia*, v študijnom odbore *chemické inžinierstvo a technológia*, v študijnom odbore *chémia*, v študijnom odbore *potravinárstvo* alebo v kombinácii dvoch z týchto študijných odborov, alebo v študijnom odbore *veterinárske lekárstvo* (Príloha č. 1. k nariadeniu vlády č. 296/2010 Z.z.).

Ďalším veľmi dôležitým pracovným miestom v klinicko-biochemickom laboratóriu je zdravotnícky laborant. Minimálna dĺžka trvania špecializačného štúdia je tri roky po získaní vysokoškolského vzdelania druhého stupňa v magisterskom študijnom programe *laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve* v študijnom odbore *zdravotníckej vedy* (Príloha č. 1. k nariadeniu vlády č. 296/2010 Z.z.).

Vzdelávacie inštitúcie a postgraduálne štúdium v súčasnosti:

V Slovenskej republike v súčasnosti sú 4 lekárske fakulty, z toho tri verejné vysoké školy a to: Lekárska fakulta UK v Bratislave, Lekárska fakulta UPJŠ v Košiciach, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine a štátna vysoká škola univerzitného typu s pôsobnosťou v rezorte Ministerstva zdravotníctva SR Slovenská zdravotnícka univerzita poskytujúce spojené štúdium 1. a 2. stupňa vysokoškolského štúdia v študijnom odbore *všeobecné lekárstvo*. Z týchto fakúlt len Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine a Slovenská zdravotnícka univerzita poskytujú možnosť postgraduálneho vzdelávania v špecializačnom odbore *klinická biochémia* pre zdravotnícke povolanie lekár. Slovenská zdravotnícka univerzita okrem toho má akreditované aj špecializačné štúdium v špecializačnom odbore *laboratórna diagnostika v klinickej biochémii* pre zdravotnícke povolanie laboratórny diagnostik a tiež špecializačné štúdium v špecializačnom odbore *laboratórne vyšetrovacie metódy v klinickej biochémii* pre zdravotnícke povolanie zdravotnícky laborant (web JLF UK, web SZU).

Nelekársky študijný odbor *Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve* pre pregraduálnu výchovu zdravotníckych laborantov v rámci Slovenskej republiky poskytujú: a) Katolícka univerzita v Ružomberku, b) Prešovská Univerzita v Prešove, c) Slovenská zdravotnícka univerzita, Fakulta zdravotníctva v Banskej Bystrici, d) Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne (Fakulta zdravotníctva), Trnavská univerzita v Trnave (Fakulta

zdravotníctva a sociálnej práce) a e) Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety. Vyššie uvedené vysoké školy však nemajú akreditované špecializačné štúdium pre klinicko-biochemické pracoviská.

Ďalšou možnosťou postgraduálneho vzdelávania je doktorandské štúdium v dennej a externej forme. Na lekárskej fakulte UPJŠ v Košiciach je akreditovaný v študijnom odbore všeobecné lekárstvo študijný program *klinická biochémia*. Miestom realizácie tohto štúdia je Ústav lekárskej biochémie. Denná forma štúdia trvá 4 roky a externá 5 rokov. Na Jesseniovej lekárskej fakulte UK v Martine v študijnom odbore Všeobecné lekárstvo je akreditovaný študijný program *lekárska, klinická a farmaceutická biochémia*, ktorý je realizovaný na Ústave lekárskej biochémie. Denná forma štúdia trvá 4 roky a externá 5 rokov.

ZÁVER

Naším cieľom by malo byť hľadanie vhodných spôsobov na motiváciu mladých ľudí pre prácu v tak zaujímavom a pre klinickú prax mimoriadne potrebnom odbore akým je klinická biochémia. S touto prácou je potrebné začať už počas štúdia na vysokej škole, a to predovšetkým zapájaním do študentskej vedeckej odbornej činnosti. Ďalšou možnosťou je najmä na lekárske fakultách organizovanie atraktívnej a prakticky orientovanej výučby predmetu *klinická biochémia* vo vyšších ročníkoch štúdia. To je asi jediná cesta ako sa bude odbor klinická biochémia dynamicky rozvíjať aj v budúcnosti.

LITERATÚRA

1. **Klinická biochémia (no date)**. Available at: <https://www.jfmed.uniba.sk/studium/dalsie-vzdelavanie-zdravotnickych-pracovnikov/akreditovane-studijne-programy/zdravotnicke-povolanie-lekar/specializacne-studijne-programy/klinicka-biochemia/> (Accessed: 18 September 2023).
2. **O univerzite (no date)**. Available at: <http://eng.szu.sk/index.php?id=70> (Accessed: 18 September 2023).
3. **Štúdium - Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave (no date)**. Available at: <https://eszu.sk/studium/#1625038662852-8cd11153-eb8e> (Accessed: 18 September 2023).
4. **Rektorát, História Slovenskej zdravotníckej univerzity (no date)**. Available at: <http://eng.szu.sk/index.php?&menu=94&oid=#menutop> (Accessed: 18 September 2023).

5. **578/2004 Z. z.** *Zákon o poskytovateľoch zdravotnej starostlivosti a zdravotníckych pracovníkoch, stavovských organizáciách v zdravotníctve a o zmene a doplnení niektorých zákonov* / *Aktuálne znenie* (no date). Available at: <https://www.zakonypreludi.sk/zz/2004-578> (Accessed: 18 September 2023).
6. **296/2010 Z. z.** *Nariadenie Vlády Slovenskej Republiky č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností* / *Aktuálne znenie* (no date). Available at: <https://www.zakonypreludi.sk/zz/2010-296> (Accessed: 18 September 2023).



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 68–72

**OD KATEDRY KLINICKEJ BIOCHÉMIE ÚSTAVU PRE ĎALŠIE VZDELÁVANIE
LEKÁROV A FARMACEUTOV PO ÚSTAV CHÉMIE, KLINICKEJ BIOCHÉMIE
A LABORATÓRNEJ MEDICÍNY LEKÁRSKEJ FAKULTY
SLOVENSKEJ ZDRAVOTNÍCKEJ UNIVERZITY**

**FROM THE DEPARTMENT OF CLINICAL BIOCHEMISTRY OF THE INSTITUTE
FOR FURTHER EDUCATION OF PHYSICIANS AND PHARMACISTS TO THE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, CLINICAL BIOCHEMISTRY AND LABORATORY
MEDICINE OF THE MEDICAL FACULTY OF THE SLOVAK UNIVERSITY
OF HEALTH SCIENCES**

**Kováč Gustáv¹, Porubenová Anna¹, Farkaš Michal¹, Blažíček Pavel¹, Kečkés Štefan¹,
Hudecová Lucia¹, Zenková Eva¹, Malík Ivan¹, Hubková Beáta²**

¹Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita Bratislava

²Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF, Košice

gustav.kovac@gmail.com

SÚHRN

Práca popisuje prerod Katedry klinickej biochémie Ústavu pre ďalšie vzdelávanie lekárov a farmaceutov (UDVLF) na Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny lekárskej fakulty Slovenskej zdravotníckej univerzity od začiatku až po súčasnosť. Sústredili sme sa na osobnosti, ktoré vývoj ovplyvňovali, na inštitúcie, v ktorých proces prebiehal, ako aj na dosiahnuté výsledky. Pokúšame sa tiež o charakteristiku kľúčových osobností, ako aj o popis zmien štruktúry inštitúcií, v ktorých prebiehal vývoj laboratórnej diagnostiky.

Kľúčové slová: Katedra klinickej biochémie; Ústav pre ďalšie vzdelávanie lekárov a farmaceutov; Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny; Lekárska fakulta; Slovenská zdravotnícka univerzita

ABSTRACT

The work describes the transformation of the Department of Clinical Biochemistry of the Institute for Further Education of Physicians and Pharmacists into the Department of Chemistry, Clinical Biochemistry and

Laboratory Medicine of the Medical Faculty of the Slovak University of Health Sciences from the beginning to the present. We focused on the personalities who influenced the development, on the institutions in which the process took place, as well as on the results achieved. We also attempt to characterize the key personalities, as well as to describe the changes in the structure of the institutions in which the development of laboratory diagnostics took place.

Key words: Department of Clinical Biochemistry; Institute for Further Education of Physicians and Pharmacists; Department of Chemistry, Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine; Faculty of Medicine; Slovak University of Health Sciences

ÚVOD

V časti „Výsledky“ sa sústredíme na osobnosti, ktoré ovplyvňovali vývoj Ústavu chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny lekárskej fakulty Slovenskej zdravotníckej univerzity (SZU), inštitúcie, v ktorých proces prebiehal, funkcie, ktoré osoby a inštitúcie plnili a výsledky, ktoré osoby a inštitúcie dosiahli.

V časti „Diskusia“ sa pokúsime o charakteristiku vybraných osobností, ktoré ovplyvňovali vývoj a zmeny štruktúry inštitúcií, pedagogickej činnosti a spolupráce pri rozvoji laboratórnej medicíny a klinickej biochémie.

VÝSLEDKY

Osobnosti

Akademik **prof. MUDr. Teofil Rudolf Niederland DrSc.** symbolizuje prepojenie internej medicíny a biochémie, kliniky a laboratória. Ako prednosta internej kliniky denne realizoval vizity, ako vedúci biochemického laboratória zabezpečoval realizáciu biochemických vyšetrení v nadväznosti na vedeckú činnosť a biochemickú diagnostiku, ako vedúci oboch pracovísk zabezpečoval pedagogický proces na Univerzite Komenského (UK) (v pregraduáli) ako aj počas ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov (postgraduáli).

Prof. MUDr. Rastislav Dzúrik DrSc. ako žiak akademika Niederlanda symbolizuje prepojenie kliniky a laboratória, denne realizoval vizity, zabezpečoval realizáciu biochemických vyšetrení v nadväznosti na vedeckú činnosť a biochemickú diagnostiku ako aj pedagogický proces v pre- a postgraduáli.

Doc. MUDr. Eva Slugeňová CSc. zabezpečovala pedagogickú činnosť na Katedre klinickej biochémie, ako aj na Odelení klinickej biochémie (OKB) so študentami v postgraduálnom štúdiu – zabezpečovala prednášky a semináre z klinickej biochémie, ako aj špeciálnu klinicko-biochemickú diagnostiku na OKB.

MUDr. Mária Schwanzerová - Maťašovská CSc., podobne ako doc. Slugeňová, zabezpečovala každodennú pedagogickú činnosť na Katedre klinickej biochémie ako aj na OKB.

Primár **MUDr. Jozef Gergel** zabezpečoval liečebno-preventívnu činnosť a súčasne vytváral podmienky pre klinicko-biochemickú diagnostiku a pedagogickú činnosť za pomoci vedúcich úsekov rutinej diagnostiky Ing. Evy Hlavatej, špeciálnej diagnostiky RNDr. Zlatice Tvarožkovej, ako aj hlavnej laborantky Edity Tahotnej.

Inštitúcie

Nemocnica s poliklinikou akademika Ladislava Déredera III. typu zabezpečovala celé spektrum liečebno-preventívnej činnosti. Nachádzali sa tam oddelenia klinickej biochémie, hematológie a transfuziológie, klinickej imu-

nológie a alergiológie, klinickej mikrobiológie a klinickej genetiky.

K nemocnici patrili aj vysunuté pracoviská na „**Krásnej Hôrke**“ ako klinika pracovného lekárstva, oddelenie psychiatrie ako aj toxikológia a rádioimunoanalýza (posledné dve patrili k OKB), „**Ústav medicínskej biokybernetiky**“, ktorý sa po roku 1989 postupne pretransformoval na pracoviská, ktoré zabezpečovali a dodnes zabezpečujú aj geriatrickú starostlivosť a röntgenologickú diagnostiku.

Po roku 1989 jednotlivé oddelenia laboratórnej diagnostiky boli postupne privatizované spoločnosťami Alpha medical, Medirex a Synlab. Proces privatizácie priniesol rozporuplné výsledky v oblasti liečebno-preventívnej starostlivosti a skomplikoval proces aj pre postgraduálne vzdelávanie. Príčinou bolo zlyhanie manažmentu v štátnom aj súkromnom sektore pri zabezpečovaní kvality laboratórnej diagnostiky a jej financovaní.

Ústav pre doškoľovanie lekárov a farmaceutov zabezpečoval postgraduálne vzdelávanie na tzv. „Veľkom doškoľovákú“ pod vedením riaditeľa prof. MUDr. Dionýza Diešku DrSc. pre lekárov, farmaceutov a vysokoškolákov, a na tzv. „Malom doškoľovákú“ pod vedením riaditeľa MUDr. Jána Mariányiho, ktorý zabezpečoval postgraduálne vzdelávanie pre stredný zdravotnícky personál, pre zdravotné sestry a laborantov.

Ústav klinickej a preventívnej medicíny predstavoval vedeckú bázu na riešenie vedeckých projektov klinického alebo laboratórneho charakteru.

Slovenská zdravotnícka univerzita vznikla po roku 1989 postupne procesom zlúčenia Ústavu pre doškoľovanie lekárov a farmaceutov, Ústavu klinickej a preventívnej medicíny. SZU sa v súčasnosti skladá z Lekárskej fakulty a Fakulty ošetrovateľstva a sociálnej práce.

Funkcie

Liečebno-preventívnu činnosť zabezpečovali na jednotlivých oddeleniach nemocníc pod vedením primárov, vrchných sestier a laborantiek jednotliví lekári (neatestovaní, s I. atestáciou, II. atestáciou) aj nelekári (bez špecializácie, so špecializáciou), zdravotné sestry (bez špecializácie, so špecializáciou) a laboranti (bez špecializácie, so špecializáciou), ako aj ošetrovatelia, sanitári a asistenti.

Pedagogickú činnosť v rámci pregraduálneho a postgraduálneho vzdelávania zabezpečovali na UDVLF (neskôr SZU) a bývalej Detskej fakultnej nemocnici s poliklinikou Bratislava (dnešný Národný ústav detských chorôb) pod

vedením prednostov kliník a ústavov profesori, docenti a odborní asistenti.

VÝSTUPY

Liečebno-preventívna činnosť sa vyjadrovala a hodnotila podľa počtu pacientov, typov diagnóz, počtu vyšetrení, typov vyšetrení - rutinných / špeciálnych. Špecifikum predstavovala racionálna indikácia a prítomnosť ambulancie OKB.

Pedagogická činnosť sa vyjadrovala a hodnotila podľa počtu a druhu prednášok, seminárov, praktík/cvičení, absolvovaných zápočtov a skúšok.

DISKUSIA

Ku charakteristike kľúčových osobností

MUDr. Koloman Prónay, primár interného oddelenia NsP Trnava sa zúčastňoval na atestáciách UDVLF ako člen komisie, uprednostňoval komplexný prístup pred špecializáciou. Jeho krédo - „*špecialista je ten, ktorý nič iné nevie*“.

MUDr. Radko Menkyna, riaditeľ Univerzitnej nemocnice Bratislava, primár I. Internej kliniky bol vynikajúci internista s vrodenými riadiacimi schopnosťami, ktorý už v roku 1980 presadzoval a implementoval racionálnu indikáciu laboratórných vyšetrení. Svojím podriadeným vstúpil: „*najskôr sa opýtam pacienta čo mu je (to sa volá anamnéza), potom ho vyšetím pomocou vlastných rúk a zmyslov (to sa volá fyzikálne vyšetrenie), potom vstanem a hlboko sa zamyslím, sadnem si čo najďalej od pera, a žiadanky, aby som neupadol do pukušenia zaškrtáť ju od hlavy po pätu*“.

Prof. MUDr. Rastislav Dzúrik DrSc. pôsobil ako lekár na II. Internej klinike, ako riaditeľ Ústavu medicínskej biokybernetiky, riaditeľ Ústavu klinickej a preventívnej medicíny, ako aj vedúci Katedry klinickej biochémie. Vysoko nad priemer vynikala jeho publikačná činnosť a sledovanie zahraničnej odbornej literatúry. V 80-tych rokoch publikoval v angličtine monografiu o chronickej obličkovej nedostatočnosti, vysoko hodnotenú vo vyspelých krajinách západnej Európy a USA, čo bol na naše pomery ojedinelý prípad.

Prof. PaedDr. Dana Farkašová CSc. začínala ako zdravotná sestra. Po rokoch praxe, postupne pôsobila vo vedúcich funkciách na Ministerstve zdravotníctva SR, absolvovala štúdium na Karlovej univerzite v Prahe na III. Internej klinike u prednostu prof. MUDr. Jana Pacovského

DrSc., pôsobila ako riaditeľka „Malého doškoloľováku“, neskôr ako prorektorka a rektorka SZU. Významne podporila vznik a rozvoj laboratórnej medicíny.

Prof. MUDr. Ján Štencel CSc., dlhoročný prednosta Kliniky gynekológie a pôrodnictva Univerzitnej nemocnice s poliklinikou akademika Ladislava Déreera v Bratislave na Kramároch, zakladateľ a prvý rektor Slovenskej zdravotníckej univerzity bol rodený manažér: jeho rozhodnutím vznikol na SZU Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny.

Prof. MUDr. Tibor Šagát CSc., prednosta Detskej kliniky, riaditeľ Detskej fakultnej nemocnice, riaditeľ Nemocnice akademika Ladislava Déreera, námestník primátora pre zdravotníctvo a sociálne veci hlavného mesta Slovenska Bratislava, minister zdravotníctva - vynikajúci kliník a krízový manažér sa podieľal na vzniku Kliniky biochémie a Kliniky laboratórnej medicíny. Charakterizuje ho schopnosť riešiť náhle vzniknuté krízové situácie a problémy.

Ku kľúčovým osobnostiam, ktoré prispeli k rozvoju klinickej biochémie a laboratórnej medicíny patria tiež:

Prof. MUDr. Daniel Bartko DrSc. - prednosta Neurologickej kliniky Univerzitnej nemocnice Miczkiewiczova v Bratislave, neskôr pedagóg a prodekan Katolíckej univerzity v Ružomberku.

Prof. MUDr. RNDr. Rudolf Pullmann CSc. - prednosta OKB Univerzitnej nemocnice v Martine. V 90-tych rokoch publikoval v angličtine monografiu o laboratórnej diagnostike - prvú svojho druhu na Slovensku aj v bývalom Československu.

Ku zmene štruktúry inštitúcií po roku 1989

Slovenská zdravotnícka univerzita (SZU) vznikala po roku 1989 postupným procesom zlučovania Ústavu pre doškoloľovanie lekárov a farmaceutov a Ústavu klinickej a preventívnej medicíny. SZU sa v súčasnosti skladá z Lekárskej fakulty a Fakulty ošetrovateľstva a sociálnej práce. Súčasťou SZU je aj Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny, ktorý zabezpečuje integrovanú pregraduálnu aj postgraduálnu výučbu na oboch fakultách.

Univerzitnú nemocnicu Bratislava dnes tvoria Nemocnica Ružinov, Nemocnica akademika Ladislava Déreera, Nemocnica svätého Cyrila a Metoda, Nemocnica Staré Mesto, Špecializovaná geriatrická nemocnica Podunajské Biskupice.

Národný onkologický ústav vznikol z bývalého Štátneho sanatória. Doc. MUDr. Eva Valovičová CSc. bola dlho-

ročnou primárkou OKB ako aj predsedníčkou Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie (SSKB). Dnes OKB vedie primárka MUDr. Alena Svobodová.

Národný ústav srdcových chorôb rozvinul činnosť naplno po roku 1989. MUDr. Katarína Daňová je primárka OKB ako aj bývalá predsedníčka SSKB.

K integrovanému pedagogickému procesu na Ústave chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny LF SZU

Pod integrovaným pedagogickým procesom rozumieme výučbu chémie, biochémie a laboratórnej medicíny v siedmich odboroch pregraduálu (všeobecné lekárstvo, stomatológia, ošetrovateľstvo, pôrodná asistancia, urgentná zdravotná starostlivosť, klinická výživa, dentálna hygiena), v piatich špecializáciách postgraduálu (klinická biochémia, laboratórne a diagnostické metódy v klinickej biochémii, laboratórne metódy v klinickej biochémii, laboratórna medicína - lekár, laboratórna medicína - laboratórny diagnostik).

Aktuálne absoluuje na *Ústave chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny LF SZU* výučbu 200 študentov denného štúdia v nasledujúcich piatich odboroch: všeobecné lekárstvo (študenti 2. ročníka), zubné lekárstvo (študenti 2. ročníka), general medicine (cudzojazyční študenti 2. ročníka), všeobecné lekárstvo (študenti 4. ročníka, biochémia v rámci klinickej biochémie a laboratórnej medicíny), general medicine (cudzojazyční študenti 4. ročníka, clinical chemistry in laboratory medicine).

Na *Fakulte ošetrovateľstva a zdravotníckych odborných štúdií* vyučujeme 125 študentov v piatich odboroch: fyziológia klinickej výživy (externé štúdium), ošetrovateľstvo (denné a externé štúdium), pôrodná asistancia (denné štúdium), urgentná zdravotná starostlivosť (denné a externé štúdium), dentálna hygiena (externé štúdium).

Výučbu absoluuje aj 100 študentov v 5 odboroch špecializačného štúdia: klinická biochémia (pre lekárov), laboratórne a diagnostické metódy v klinickej biochémii (pre laboratórnych diagnostikov a laborantov s vysokoškolským vzdelaním), laboratórne metódy v klinickej biochémii (pre laborantov s bakalárskym vzdelaním), laboratórna medicína (pre lekárov), laboratórna medicína (pre laboratórnych diagnostikov a laborantov s vysokoškolským vzdelaním II. stupňa).

Študenti špecializačného štúdia navštevujú počas 5 rokov školiace miesta, absoluuju predmetové skúšky a klinickú a laboratórnu prax v 11 oblastiach: klinické laboratórium, mo-

lekulárna patológia, klinická chémia, diagnostika moču a telesných tekutín, cytogenetika, HLA, hematológia, koagulácia, klinická mikrobiológia, imunopatológia, transfuziológia.

K spolupráci s kľúčovými inštitúciami, ktorá prispeli k rozvoju laboratórnej medicíny a klinickej biochémie

V slovenskom kontexte sme spolupracovali s Lekárskou fakultou Univerzity Komenského v Bratislave, konkrétne s Ústavom lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UN Bratislava – s doc. RNDr. Ľubomírom Danišovičom PhD., Ústavom lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie – s prof. MUDr. Ladislavom Tureckým CSc., Jesseniovou lekárskou fakultou v Martine: s Ústavom lekárskej biochémie – s prof. MUDr. Dušanom Dobrotom CSc., s Lekárskou fakultou Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach – s primárkou Ambulancie hematológie a transfuziológie MUDr. Miriam Mitníkovou, s prednostkou Ústavu lekárskej a klinickej biochémie – prof. Ing. Máriou Marekovou CSc., MUDr. Rudolfom Zbončákom, riaditeľom odboru MZ SR, s MUDr. Jánom Gajdošom bývalým riaditeľom sekcie zdravotnej starostlivosti, prof. MUDr. Tiborom Šagátom CSc. – bývalým ministrom zdravotníctva, doc. MUDr. Andreou Kalavskou PhD. – bývalou ministerkou zdravotníctva, s magistrátom hlavného mesta SR Bratislava – Odborom zdravotnej starostlivosti a sociálnej práce.

V medzinárodnom kontexte sme spolupracovali s magistrátom mesta Viedeň, Rakúsko – v oblasti laboratórna medicína a jej financovania, s Ústavom pre laboratórnu medicínu Univerzitnej nemocnice Zürich, Švajčiarsko – s prof. Dr. Dieterom Johannesom Vonderschmittom, Ústavom pre klinickú biochémiu Kráľovskej univerzitnej nemocnice v Štokholme, Švédsko – s prof. Dr. Andersom Kalnérom, Ústavom klinickej biochémie, Karlstadt, Švédsko – s prof. Dr. Ake Holmgardom, Dr. Lenou Norlundovou, Ústavom pre laboratórnu medicínu, Univerzitnou nemocnicou Odense, Dánsko – prof. Dr. Perom Hylltoftom Petersenom, prof. Ivanom Branslundom, Oddelením klinickej biochémie a hematológie, Amsterdam, Holandsko – Dr. Henkom Goldschmidtom, Dr. Wytzeom Oosterhuisom, Dr. Rubenom Baumgartenom, The Open University Business School, Milton Keans, UK - prof. Brianom Lundom, Oddelením klinickej chémie, Glasgow UK – s prof. Dr. Marekom Dominiczakom. Spolupráce sa týkali problematiky financovania, integrácie, konsolidácie a akreditácie laboratórnej diagnostiky.

ZÁVER

Mali sme veľké šťastie na našich učiteľov (primár Prónay, riaditeľ Menkyna, prof. Dzúrik, prof. Lund, prof. Vonderschmidt, prof. Holmgard, prof. Petersen), nadriadených (prof. Šagát, riaditeľ Hladík, dekanica doc. Holečková, rektori prof. Farkašová a prof. Šimko) a kolegov – či už domácich alebo zahraničných.

Existujú žiaľ aj limity – hlavne čas (nedostatok podmienený stanovenými termínmi), zdroje (nedostatok podmienený krátkosťou času) a pamäť (zhoršuje sa vekom).

DOPORUČENIA

Príspevok predstavuje počiatočnú skicu, ktorú plánujeme postupne doplniť o ďalšie dokumenty, procesy a zdroje poskytujúce nové informácie a odhaľujúce skryté súvislosti.

LITERATÚRA

1. **Slovenská zdravotnícka univerzita (2003)** 50 rokov inštitucionálneho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov na Slovensku. Bratislava: SZU, p.111-113. ISBN: 80-968951-6-8.
2. **Šašíka, M., Bielik, I. (2008)** Medicína - celoživotné štúdium. Bratislava: SZU, p.216-217. ISBN 978-80-89352-02-9.
3. **Dluholucký, S. et al. (2013)** 60 rokov inštitucionálneho ďalšieho vzdelávania v zdravotníctve: História, súčasnosť, budúcnosť. 1 vyd. Bratislava: SZU, p.31, 65. ISBN 978-80-89352-96-8.

Poznámka:

Autori publikácie ďakujú Ing. Beáte Hubkovej, PhD. za pripomienky a úpravy, ktorými zásadne prispela k finálnej verzii publikácie. Považujeme ju za spoluautorku, a preto sme jej meno uviedli do zoznamu autorov.



slp.blue

Moderná správa laboratórnej dokumentácie, číselníkov a agiend

slp.blue je úplne nový nástroj vytvorený v spolupráci s poprednými laboratóriami a certifikačnými autoritami v Českej republike

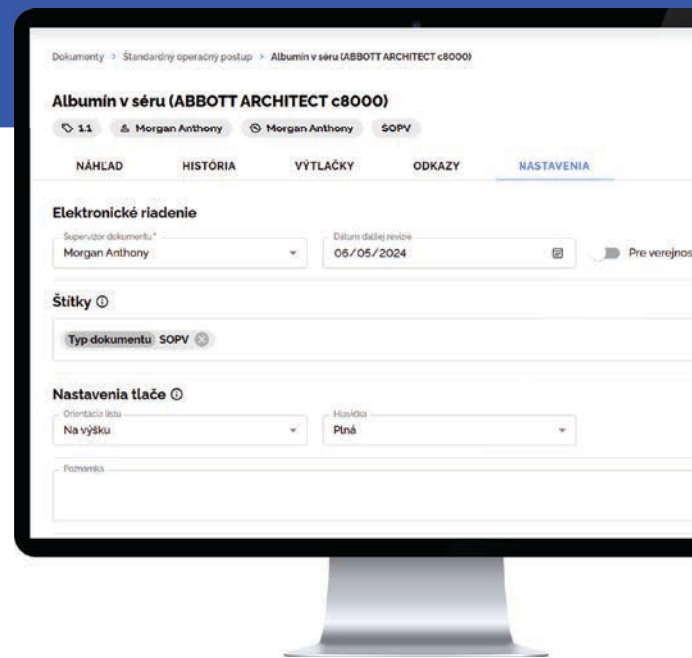
| Základné funkcie

Elektronické riadenie dokumentácie

Správa číselníkov

Tvorba laboratórnych príručiek

Správa výťažkov



| Niečo navyše

1 Automatická aktualizácia laboratórnych príručiek

Laboratórne príručky sa aktualizujú automaticky z platných dokumentov do prispôsobiteľnej šablóny. Výhodou je okamžitá aktualizácia, rýchla dostupnosť a jednoducho prehľadateľný zoznam laboratórnych vyšetrení pre užívateľov laboratórnych služieb.

2 Vstavaný editor dokumentov

Dokumenty je možné upravovať priamo v aplikácii a je možné medzi nimi rýchlo prechádzať pomocou odkazov. Bez potreby Wordu, prípadne iných nástrojov tretích strán.

3 Prístupný z webového prehliadača

Všetky funkcionality sú dostupné odkiaľkoľvek z akéhokoľvek zariadenia s webovým prehliadačom bez nutnosti inštalácie ďalšieho softvéru.

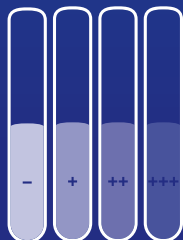
... a mnoho ďalšieho



viac informácií na
www.slp.blue
alebo na
info@slp.blue

Ing. Tomáš Kouřim
CEO Mild Blue, koordinátor slp.blue

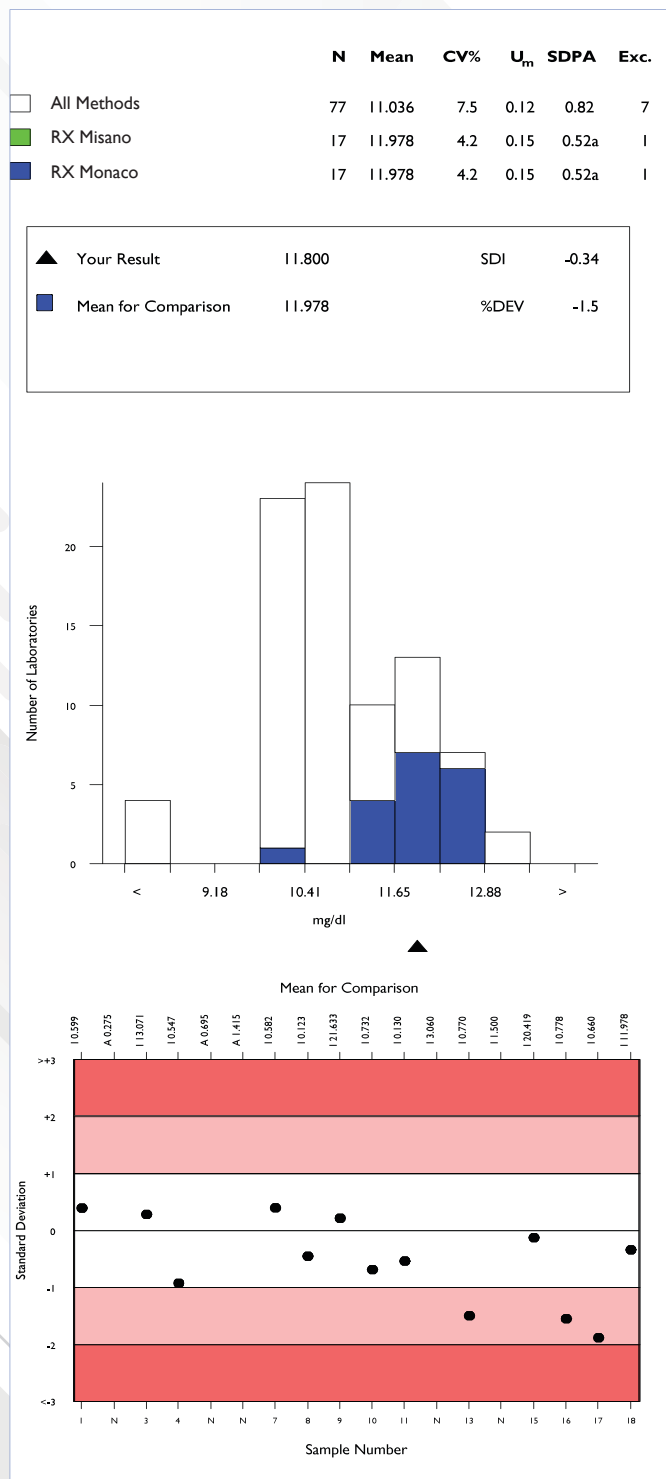
+420 723 927 536
 tomas.kourim@mild.blue



MONITROVANIE PREDANALYTICKEJ FÁZY V EQA - NOVÝ PROGRAM RIQAS PRE SÉROVÉ INDEXY

HEMOLÝZA I IKTERICITA I LIPÉMIA

RIQAS



ĽUDSKÉ SÉRUM
ZAISŤUJÚCE
KOMUTABILNÚ
MATRICU VZORKY



REPORTOVANIE RAZ
ZA 2 MESIACE



INTERPRETÁCIA
OVPLYVNENIA
VÝSLEDKOV AŽ 25
BIOCHEMICKÝCH
PARAMETROV



RÝCHLE SPRACOVANIE
HODNOTENIA ZAISŤUJE
RÝCHLE PRIJATIE
NÁPRAVNÝCH OPATRENÍ



SKENUJTE A ZISTITE VIAC



METÓDY STANOVENIA LDL-CHOLESTEROLU – DÁ SA VÝSLEDKOM DÔVEROVAŤ? LDL-CHOLESTEROL DETERMINATION METHODS - CAN THE RESULTS BE TRUSTED?

Gaško Rudolf^{1,2}

¹Klinická epidemiológia a bioštatistika, Košice

²Oddelenie klinickej biochémie a hematológie, Psychiatrická Nemocnica Michalovce, n.o., Michalovce

biostatistikakosice@gmail.com

SÚHRN

Aký je vzťah metód priamo meraného LDL-cholesterolu (LDL-C) a vypočítaného podľa Friedewaldovej rovnice? Aké metódy stanovenia LDL-C sa používajú v reálnom svete slovenských oddelení laboratórnej medicíny a aké je porovnanie s Európskym zahraničím? Aké je porovnanie presnosti priamych metód a vypočítaných metód stanovenia LDL-C? Aké sú konzekvencie?

Kľúčové slová: LDL-cholesterol; priame meranie; Friedewaldova rovnica; presnosť merania; externé hodnotenie kvality

ABSTRACT

What is the relationship between the methods of directly measured LDL-cholesterol (LDL-C) and calculated according to the Friedewald equation? What methods of determining LDL-C are used in the real world of Slovak departments of laboratory medicine and how does it compare with European foreign countries? How do the accuracy of direct methods and calculated methods of LDL-C determination compare? What are the consequences?

Key words: LDL-cholesterol; direct measurement; Friedewald equation; measurement accuracy; external quality assessment

Názov tejto práce som si požičal z článku (Leiviskä et al, 2023) z fínskeho časopisu Kliinlab (Klinické laboratórium). Mienim v nej odpovedať, kompiláciou čerstvých literárnych údajov a verejne dostupných alebo vyžiadaných údajov zo zdravotných poisťovní, od poskytovateľov Externého hodnotenia kvality a poskytovateľov zdravotnej starostlivosti, na nasledovné otázky:

I. Aký je vzťah metód priamo meraného LDL-cholesterolu (LDL-C) a vypočítaného podľa Friedewaldovej rovnice?

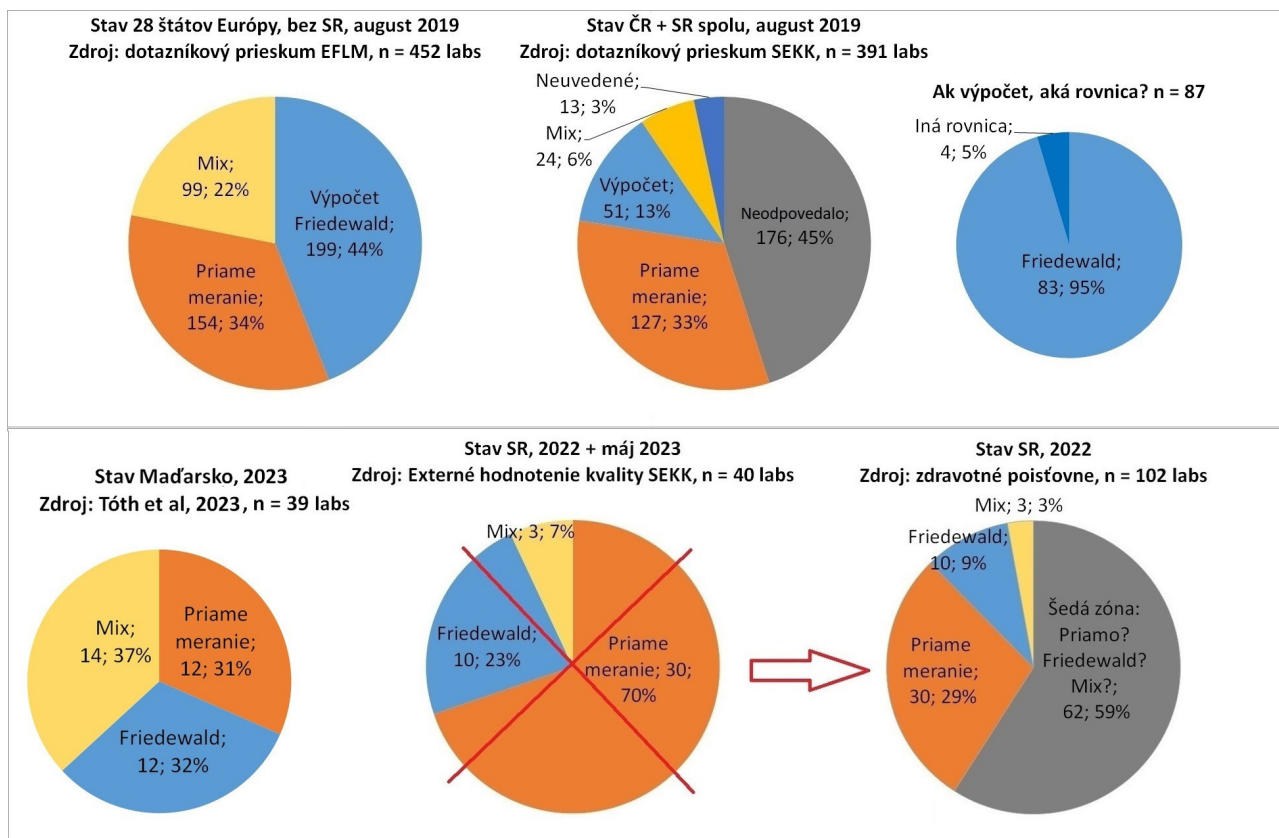
II. Aké metódy stanovenia LDL-C sa používajú v reálnom svete slovenských (a českých) oddelení laboratórnej medicíny a aké je porovnanie s (predovšetkým, ale nie iba) Európskym zahraničím?

III. Aké je porovnanie presnosti priamych metód a vypočítaných metód stanovenia LDL-C?

IV. Aké sú konzekvencie?

I.

Priame meranie a výpočet sú považované za rovnocenné metódy (N o r d e s t g a a r d et al, 2016; Soška et al, 2017; Soška, 2022). Dôrazne však upozorňujem, že platí, že klinický význam nemá ani porovnávanie výpočtu s „priamym“ meraním, ani vzájomné porovnávanie výsledkov merania rôznymi diagnostickými súpravami, ani vzájomné porovnávanie výpočtov (G a š k o et al, 2023).



Obrázok 1
Prehľad metód stanovenia LDL-cholesterolu v Európe a na Slovensku

Výsledky sa vždy budú viac či menej líšiť a z takýchto vzájomných porovnaní nemožno usudzovať, ktorý postup má väčší alebo menší bias – hodnotu odhadu systematickej chyby merania - voči referenčnej metóde. Zmysluplné je preto iba priame porovnanie výpočtu alebo priameho merania s referenčnou metódou (S o š k a, 2023).

II.

Akými metódami sa aktuálne (pretože metódy sa v čase menia) stanovuje LDL-C v laboratóriách na Slovensku ukazuje obrázok 1.

Zároveň zaraďujeme tento stav do medzinárodných súvislostí: Európskou federáciou laboratórnej medicíny bol v roku 2019 vykonávaný dotazníkový prieskum, zameraný na manažment dyslipidémií, ktorého sa zúčastnilo 452 laboratórií z 28 štátov Európy (z nich 2 laboratóriá z ČR a 0 zo SR). Zo zverejnených anonymizovaných výsledkov (De Wolf et al, 2020) okrem iného vyplýva: 44 % laboratórií používa Friedewaldov výpočet, 0 % výpočet inou rovnicou, 34 % rutinne u všetkých patientskych vzoriek meranie niektorou priamou metódou, 22 % aj výpočet aj meranie, podľa rôznych kritérií. Paralelne bol vykonaný v auguste 2019 obdobne koncipovaný dotazníkový prieskum ktorého

sa z 391 oslovených zúčastnilo 215 českých a slovenských laboratórií (Friedecký et al, 2019). Podľa jeho výsledkov, nerozdelených podľa štátu, 24 % laboratórií používalo iba Friedewaldov výpočet, 59 % iba priame meranie, 11 % výpočet aj meranie. Pravidelne vykonávaného externého hodnotenia kvality (EQA) vyšetrenia LDL-C sa v českej organizácii SEKK v apríli 2023 zúčastnilo 321 účastníkov, z toho 40 zo Slovenska. Z nich 33 stanovovalo LDL-C priamo a 10 výpočtom. Ďalšie laboratóriá môžu vykonávať externé hodnotenie kvality v iných zahraničných hodnotiacich organizáciách; European Organisation for External Quality Assurance Providers in Laboratory Medicine (EQALM) združuje 28 organizácií, z ktorých časť operuje na medzinárodnej úrovni. Na Slovensku vlastný EQA hodnotiaci systém nemáme. V roku 2022 vykazovalo zdravotným poisťovniam vyšetrenie cholesterolu meraním 102 laboratórií (Zdroj: VŠZP), u 62 metodika nie je z dostupných zdrojov známa (informačná šedá zóna). Pre porovnanie je uvedený aj aktuálny stav v Maďarsku, zistený na prierezovej vzorke (T ó t h et al, 2023).

Pozoruhodné sú aj nasledovné citácie. „LDL-C, ústredný bod odporúčaní týkajúcich sa liečby na zníženie lipidov, sa len zriedka meria priamo a namiesto toho sa získava odhadom pomocou Friedewaldovej rovnice alebo presnejšej

Martin-Hopkinsovej rovnice.“ (Ferraro et al, 2022) „Pokiaľ ide o preplatenie, je dôležité spomenúť, že priame LDL-C nemusí byť preplatené ako priama objednávka. V Spojených štátoch musí lipidový panel podľa centier Medicaid a Medicare Services používať vypočítaný LDL-C a priamy LDL-C nemožno nahradiť podľa potreby, ale vyžaduje si schválený reflexný test, ktorý nemusí byť preplácaný poisťovacími spoločnosťami.“ (Islam et al, 2023; reflexný test = doplnenie prídavného testu v laboratóriu na základe zdôvodnenia).

Kvôli objektívite uvádzam aj údaje z nemeckej EQA organizácie Referenzinstitut für Bioanalytik (<https://www.rfb.bio/cgi/surveys>). V cykle Lipoproteines 3/2019, uskutočnenom v júli 2019, stanovovalo 576 účastníkov LDL-C homogénnymi enzymatickými testami a 122 účastníkov Friedewaldovou rovnicou (82,5% vs 17,5%). V cykle Lipoproteines 1/2023 bol počet účastníkov 597 a 111 (84,3% vs 15,7%). Organizácia vydáva výsledky okrem nemčiny aj v angličtine a francúzštine, pracuje teda na medzinárodnej úrovni, z údajov nie je jasné, ktorých ďalších štátov sa môžu týkať.

Určitý prierez používaných metód dáva práca Martin et al, 2023 (so slovenskou účasťou!). Z laboratórnych sietí zo 17 zúčastnených krajín z 5 kontinentov stanovovalo LDL-C priamou metódou 9 (včítane Synlab Slovensko), výpočtom Friedewald 7 (včítane Rakúska, Španielska a Veľkej Británie), výpočtom Martin-Hopkins 2 (USA a Brazília; účastník z USA používal 2 metódy).

III.

Organizácie EQA v praxi pre lipidové parametre používajú nekomutabilné kontrolné materiály. Niektoré pre hodnotenie používajú porovnanie s hodnotami nameranými gold standard metódou a stanovenie bias (napr. Kórea; Kim et al, 2019). Iné pre hodnotenie používajú vzťažné hodnoty, odvodzované na báze stredných hodnôt metodických skupín, peer-groups (L e i v i s k ä et al, 2023; SEKK, 2023). Týmto spôsobom je systematická chyba každej výsledkovej skupiny, vyjadrená ako percento v jej vlastnej skupine, primeraná, ale úroveň výsledkov medzi rôznymi skupinami môže byť veľmi odlišná. Definície skupín (per group values) sú často úplne vágne a bežne dochádza k ich ustanovovaniu takmer „Ad libitum“, obvykle v záujme výrobcov a nadmernej blahosklonnosti k účastníkom (Friedecký et al, 2022). Niektoré organizácie EQA hodnotenie LDL-C vôbec nevykonávajú, napr. v Poľsku (P r z y b y ł - H a c a n d C i e c h o w i c z, 2022). Z pohľadu v tomto odstavci doteraz uvedených skutočností je výnimočná čerstvá publikácia

založená na dátach EQA zo Singapúru (T a n et al, 2023), v ktorej sa hodnotila presnosť vypočítanej LDL-C odvodenej pomocou Friedewaldovej, Martin/Hopkins a Sampson-NIH rovníc oproti metrologicky návazným referenčným hodnotám LDL-C meraným postupom beta-quantifikácie IDMS s použitím komutabilných vzoriek ľudského séra, a to v časovom rade 5 rokov.

Výsledky stanovenia LDL-C priamym meraním, SEKK, cyklus RFA 1/2023. Z 251 zúčastnených laboratórií bolo 33 zo Slovenska (13,2%), ostatné z ČR. V Tabuľke 1 je uvedený výrez z výsledkov stanovenia LDL-C. Červenou elipsou sú označené robustné priemery hodnôt vzoriek A a B. Červenými šípkami sú v prvom stĺpci označené najnižšie a najvyššie stredné hodnoty (opäť robustné priemery) namerané v jednotlivých skupinách podľa výrobcov. V druhom stĺpci sú hodnoty smerodajnej odchýlky SD, v treťom stĺpci hodnoty variačného koeficientu CV (%). Vo štvrtom stĺpci sú uvedené počty členov príslušnej skupiny. Ak pokladáme hodnotu 1,63 vzorky A za 100%, potom hodnota 1,90 je 116,6%. Rozdiel medzi robustnými priemermi týchto skupín je 16,6%. Obdobne pre vzorku B, ak pokladáme hodnotu 3,80 za 100%, potom hodnota 4,53 je 119,2% a rozdiel medzi robustnými priemermi týchto skupín je 19,2%.

V Tabuľke 2 sú uvedené najnižšie a najvyššie stredné hodnoty skupín výrobcov, doplnené o stredné hodnoty pre skupinu Friedewaldov výpočet, v časovej rade 5,5 roka od roku 2018. Údaje externého hodnotenia kvality SEKK, cykly RFA (SEKK, Pardubice, Česká republika) boli získané z voľne dostupných webových zdrojov (www.sekk.cz). Každý rok boli vykonávané 2 cykly, v každom cykle 2 vzorky, to znamená dovedna 22 vzoriek. Vidíme, že skupiny vý-

(118) Cholesterol LDL (priemé stanovení)	[mmol/L]	n = 251		
Vzorek A	1,78	0,13	7,3	251
(1) Abbott	⇒ 1,9	0,067	3,5	73
(46) Erba Lachema	1,84	0,092	5	10
(58) Beckman Coulter (AU)	1,83	0,062	3,4	29
(60) Roche	1,67	0,051	3,1	90
(162) Siemens (Atellica)	1,79	0,051	2,9	16
(177) Mindray	1,78	0,096	5,4	6
(178) DiaSys	⇒ 1,63	0,19	12	7
(179) Siemens	1,86	0,067	3,6	9
Ostatní				11
Vzorek B	4,16	0,39	9,3	251
(1) Abbott	⇒ 4,53	0,14	3,2	73
(46) Erba Lachema	4,38	0,2	4,6	10
(58) Beckman Coulter (AU)	4,27	0,11	2,6	29
(60) Roche	⇒ 3,8	0,094	2,5	90
(162) Siemens (Atellica)	4,14	0,12	3	16
(177) Mindray	4,18	0,33	8	6
(178) DiaSys	3,9	0,15	3,8	7
(179) Siemens	⇒ 4,53	0,14	3,1	9
Ostatní				11

Tabuľka 1
Výsledky stanovenia LDL-cholesterolu, SEKK, Cyklus RFA 1/2023, doplnené. Zdroj: web SEKK

Cyklus EHK RFA	Min	Skupina výrobcov	Max	Skupina výrobcov	Výpočet
1/2018 A	4,26	ROCHE	4,64	Abbott; Olympus	4,40
1/2018 B	1,93	ROCHE	2,10	Olympus	1,97
2/2018 A	1,95	ROCHE	2,10	Olympus	1,97
2/2018 B	2,87	ROCHE	3,10	Olympus	2,90
1/2019 A	2,73	BioVendor	3,05	Olympus	2,81
1/2019 B	1,90	BioVendor	2,07	Olympus	1,91
2/2019 A	1,90	BioVendor; ROCHE	2,06	Abbott; Beckman Coulter	1,91
2/2019 B	4,21	ROCHE	4,82	Siemens	4,40
1/2020 A	2,08	ROCHE	2,36	Beckman Coulter	2,16
1/2020 B	2,93	ROCHE	3,32	Beckman Coulter	3,05
2/2020 A	4,32	ROCHE	5,10	Siemens	4,60
2/2020 B	2,08	BioVendor	2,38	Beckman Coulter	2,16
1/2021 A	2,03	BioVendor	2,46	Beckman Coulter; Siemens	2,23
1/2021 B	4,33	BioVendor	5,33	Siemens	4,71
2/2021 A	4,40	ROCHE	5,50	Siemens	4,69
2/2021 B	2,98	BioVendor	3,66	Siemens	3,18
1/2022 A	2,70	ROCHE	3,27	Siemens	2,86
1/2022 B	3,63	ROCHE	4,60	Siemens	3,94
2/2022 A	3,83	ROCHE	4,82	Siemens	4,15
2/2022 B	1,80	BioVendor	2,23	Siemens	1,97
1/2023 A	1,63	DiaSys	1,90	Abbott	1,66
1/2023 B	3,80	ROCHE	4,53	Abbott; Siemens	3,98

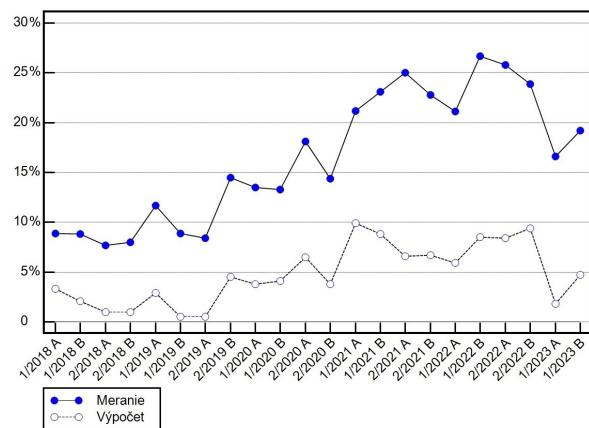
Tabuľka 2

Výsledky stanovenia LDL-cholesterolu, SEKK, Cykly RFA 2018 – 2023. Min, Max, Výpočet predstavujú hodnoty LDL-C ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Zdroj: web SEKK

robcov s najnižšími aj najvyššími strednými hodnotami sa v čase obmieňajú, nie sú absolútne nemenné.

Hodnoty z Tabuľky 2 sme prepočítali spôsobom, ako je uvedený ku Tabuľke 1. Na Obrázku 2 je vykreslený rozdiel medzi najnižšími hodnotami – uvedenými ako hodnota 0 – a najvyššími hodnotami, v percentách. Medzi týmito dvoma hodnotami sa nachádzajú robustné priemery všetkých ostatných skupín výrobcov. Je pozoruhodné, že v sledovanom časovom úseku sa rozdiely medzi minimom a maximom kontinuálne výrazne zvyšovali... Nachádzajú sa medzi nimi aj všetky robustné priemery Friedewaldom vypočítaných hodnôt. To znamená, že v žiadnom cykle, bez výnimky, neboli hodnoty Friedewaldom stanoveného LDL-C nižšie alebo naopak vyššie než najnižšie alebo najvyššie namerané hodnoty. (Toto konštatovanie je založené na robustných priemeroch, ktoré sa počítajú podľa ISO 13528 (annex C, algoritmus A). Neberie do úvahy hodnoty SD, resp. CV(%). Pripúšťam, že tým môže dochádzať ku skresleniu interpretácie. Avšak rovnako na priemeroch

boli založené aj porovnávania dát z EQA medzi priamym LDL-C a ultracentrifugáciou (Kim et al, 2019; Mida et al, 2012), medzi počítanými LDL-C a ultracentrifugáciou (Tan et al, 2023))



Obrázok 2

Časový rad 2018 – 2023. Číselné hodnoty z Tabuľky 2, popis je v texte

Aké sú príčiny rozdielov v priamych metódach rôznych výrobcov?

LDL-C je množstvo cholesterolu v časticiach LDL. Súvisí s definíciou LDL, ktorá je založená na separácii lipoproteínov na základe fyzikálnej hustoty pomocou ultracentrifugácie: lipoproteíny v rozsahu hustoty $1,019 - 1,063 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ sú historicky definované ako LDL, zatiaľ čo lipoproteín (a) (Lp(a)) je definovaný ako rozsah hustoty $1,045 - 1,080 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, čo sa čiastočne prekrýva s rozsahom hustoty LDL. K zmäteniu LDL dochádza aj v prípade súčasnej prítomnosti lipoproteínov so strednou hustotou (IDL; $d = 1,006 - 1,019 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) a dysbetalipoproteinémie so zvýšením zvyškových (remnant) lipoproteínov (Cobbaert, 2023).

IV.

Fyziologické, klinické a ostatné preanalytické faktory ktoré vplývajú na variabilitu lipidov a lipoproteínov boli opakovane podrobne popísané (Bachorik a Ross, 1995). Všetky tieto informácie sú dlhodobé známe, je preto oprávnená otázka (ktorú položili napr. Cobos a Valdivia, 2023): Ak je testovanie non-HDL-C lacné, užitočné na hodnotenie rizika (keďže zahŕňa cholesterol prenášaný všetkými aterogénnymi časticami) a je terapeutickým cieľom, prečo sa LDL-C neodstráni z centra pozornosti kardiovaskulárnej prevencie a nenahradí sa non-HDL-C? Pri apolipoproteíne B, ktorý je tiež – sekundárnym – terapeutickým cieľom, a jeho analytika je v podstate bezproblémová, už zohráva úlohu jeho cena, keďže jeho výpočet (Gasko et al, 2017) sa ukazuje byť slepou cestou. Z po-

hľadu fyziológie (G l a v i n o v i c et al, 2022) a personalizovanej medicíny (C o l e et al, 2023) je však jeho nástup za primárny terapeutický cieľ očakávaný a žiadúci. Lipoproteín (a) je ďalším novým adeptom pre manažment kardiovaskulárneho rizika založený na biomarkeroch v európskom konsenze EAS v roku 2022 (K r o n e n b e r g et al, 2022). Európsky dotazníkový prieskum ktorý zisťoval jeho reálne využívanie (C a t a p a n o et al, 2023) bol bez slovenskej účasti.

Počty LDL-C, Lp(a), ApoB vykázané poskytovateľmi poisťovní VŠZP, ktorej poisťný kmeň tvorí 55,2% poistencov SR, za celý rok 2022 sú uvedené v tabuľke 3.

Vyšetrenie	Kód	Počet
LDL-cholesterol dir	3676	19 185
LDL-cholesterol dir	3676a	1 159 801
Lipoproteín (a)	3733	0
Lipoproteín (a)	4316	0
Lipoproteín (a)	4569	9 942
Apolipoproteín B	4551	2 629

Tabuľka 3
Počty vyšetrení vykázaných VŠZP za rok 2022. Zdroj: VŠZP

Na nedostatočnú spoľahlivosť (reliability) niektorých priamych metód stanovenia LDL-C a dôsledky z nej plynúce poukazujú niektoré práce (Cemin et al, 2023). Do EQA postupov možno začleniť metódy zdravotnej ekonomiky prostredníctvom odhadu nákladov a dôsledkov bias pri testovaní LDL-C. Pilotný projekt zo Švédska bol nedávno prezentovaný (K e e l et al, 2022) a je avizované jeho pokračovanie. Na Slovensku máme 3 špecializované kardiovaskulárne ústavy. V NÚSCH v Bratislave sa LDL-C meria reagentami ROCHE, vo VÚSCH v Košiciach reagentami Siemens na prístroji ADVIA, v SÚSCH v Banskej Bystrici reagentami Beckman na analyzátoroch Olympus. Sú ich výsledky porovnateľné?

Vyššie uvedené fakty spejú k záveru, že hodnoty LDL-C získané v slovenských laboratóriách Friedewaldovým výpočtom nie sú menej presné ako hodnoty LDL-C získané priamym meraním súpravami rôznych výrobcov. Zároveň poukazujem na to, že výpočet Friedewaldovou rovnicou je považovaný za podstatne menej presný než výpočet novými rovnicami Martin-Hopkins, resp. extended Martin-Hopkins a Sampson/NIH. Z množstva publikácií ku tomu možno uviesť porovnania ultracentrifugácie a týchto 3 rovníc (G i n s b e r g et al, 2022; T a n et al, 2023) alebo porovnanie 23 doteraz navrhnutých rovníc v porovnaní s ultracentrifugáciou na súbore vyše 5 miliónov vzoriek dospelých a detských pacientov (S a m u e l et al, 2023).

Odpoveď na otázku položenú v názve, ponechávam otvorenú, rovnako ako jej pôvodcovia fínski autori.

POĎAKOVANIE

Za užitočné pripomienky pri príprave tejto práce ďakujem Ing Jánovi Ballovi st.

LITERATÚRA

- Bachorik, P.S. and Ross, J.W. (1995)** National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. The National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. Clin Chem. 1995;41(10):1414-1420.
- Catapano, A.L. et al. (2023)** Evaluation of lipoprotein(a) in the prevention and management of atherosclerotic cardiovascular disease: A survey among the Lipid Clinics Network. Atherosclerosis. 2023;370:5-11. doi 10.1016/j.atherosclerosis.2023.02.007.
- Cemin, R. et al. (2023)** The Importance of Being Aware of Intrinsic Methods' Limitation in Low-Density Lipoprotein Cholesterol Determination to Correctly Identify Cardiovascular Risk: Is Direct Determination Obtained with the Roche System Systematically Overestimating LDL in Very High-Risk Patients with Triglycerides Concentration of Less than 2.25 mmol/L? J. Clin Med. 2023, 12, 4422. <https://doi.org/10.3390/jcm12134422>.
- Cobbaert, C.M. (2023)** Implementing cardiovascular precision diagnostics: laboratory specialists as catalysts? Ann Clin Biochem. 2023;60(3):151-154. doi 10.1177/00045632231166855.
- Cobos, A. and Valdivielso, P. (2023)** Quo vadis, LDL cholesterol? Adv Lab Med 2023;4(2):133-134. aop. <https://doi.org/10.1515/almed-2023-0051>.
- Cole, J. et al. (2023)** Use of Apolipoprotein B in the Era of Precision Medicine: Time for a paradigm change? J. Clin Med. 2023, 12, 5737. doi 10.20944/preprints202308.0277.v1.
- De Wolf, H.A. et al. (2020)** How well do laboratories adhere to recommended guidelines for dyslipidaemia management in Europe? The CARdiac MARker Guideline Uptake in Europe (CAMARGUE) Study. Clin Chim Acta 2020; 508: 267–272. doi 10.1016/j.cca.2020.05.038.
- Ferraro, R.A. et al. (2022)** Contemporary Management of Dyslipidemia. Drugs. 2022;82(5):559-576. doi 10.1007/s40265-022-01691-6.
- Friedecký, B. et al. Stanovení lipidů. (2019)** Dotazník dle kontrolního programu RFA SEKK 2019, FONS bulletin 2019; 29 (4): 14–20.

10. **Friedecký, B., Kratochvíla, J. and Jabor, A. (2022)** Harmonizace v klinické laboratoři a charakter externího hodnocení kvality v blízké budoucnosti. *Klin Biochem Metab.*, 30 (51), 2022, No. 2, p. 32–36. https://www.cskb.cz/wp-content/uploads/2022/06/KBM-2-2022_Friedecky-32.pdf.
11. **Gaško, R. et al. (2017)** Je vypočítaná hodnota apolipoproteínu B spolehlivou náhradou jeho skutečné sérovej hodnoty? Porovnanie štyroch rovníc. *Lek Obzor*, 2017;66(3): 91–99.
12. **Gaško, R., Lacko, J. and Hefler, M. (2023)** Sú štúdie porovnávajúce iba matematické vzorce na stanovenie LDL-cholesterolu nadbytočné? *Klin. Biochem. Metab.*, 31 (52), 2023, No. 2, p. 48-61. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.8103924>.
13. **Ginsberg, H.N. et al. (2022)** LDL-C calculated by Friedewald, Martin-Hopkins, or NIH equation 2 versus beta-quantification: pooled alirocumab trials. *J Lipid Res.* 2022;63(1):100148. doi 10.1016/j.jlr.2021.100148.
14. **Glavinovic T. et al. (2022)** Physiological Bases for the Superiority of Apolipoprotein B Over Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol as a Marker of Cardiovascular Risk. *J Am Heart Assoc.* 2022;11(20):e025858. doi 10.1161/JAHA.122.025858.
15. **Islam, S.M.T. et al. (2023)** Comparison of Sampson and extended Martin/Hopkins methods of low-density lipoprotein cholesterol calculations with direct measurement in pediatric patients with hypertriglyceridemia. *Lab Med.* 2023;lmd047. doi 10.1093/labmed/lmd047.
16. **Keel, G. et al. (2022)** Integrating Health Economic Analysis into External Quality Assessment of Laboratory Tests: Evaluating Costs and Consequences of Bias in Lipid Tests in the Prevention of Cardiovascular Disease in Swedish Diabetes Patients. *Value in Health*, 2022, Vol. 25, Iss. 12, Supplement, S91-S92. doi.org/10.1016/j.jval.2022.09.448
17. **Kim, J-H. et al. (2019)** Report of Korean Association of External Quality Assessment Service on the Accuracy-Based Lipid Proficiency Testing (2016–2018). *J Lab Med Qual Assur* 2019;41:121-129. doi 10.15263/jlmqa.2019.41.3.121.
18. **Kronenberg, F. et al. (2022)** Lipoprotein(a) in atherosclerotic cardiovascular disease and aortic stenosis: a European Atherosclerosis Society consensus statement. *Eur Heart J* 2022; 43: 3925–3946. doi 10.1093/eurheartj/ehac361.
19. **Leiviskä, J., Eklund, S. and Pulkki, K. (2023)** LDL-kolesterolin määrittäminen – voiko tuloksiin luottaa? *Klinlab*, 2023, 40(1): 8-10.
20. **Martin, S. et al. (2023)** Lipid distributions in the Global Diagnostics Network across five continents. *Eur Heart J* 2023; 44, 2305–2318. doi 10.1093/eurheartj/ehad371.
21. **Miida, T. et al. (2012)** A multicenter study on the precision and accuracy of homogeneous assays for LDL-cholesterol: comparison with a beta-quantification method using fresh serum obtained from non-diseased and diseased subjects. *Atherosclerosis.* 2012;225(1):208-215. doi 10.1016/j.atherosclerosis.2012.08.022.
22. **Nordestgaard, B.G. et al. (2016)** Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *European Heart Journal*, 2016, 37(25):1944–1958. doi 10.1093/eurheartj/ehw152.
23. **Przybył-Hac, B. and Ciechowicz, J. (2021)** Programy zewnętrznej oceny jakości wyników badań laboratoryjnych prowadzone przez Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Laboratoryjnej w 2021 r. *Diagn Lab.* 2022; 58(3): 1-28. doi 10.5604/01.3001.0016.2827.
24. **Samuel C, et al. (2023)** Accuracy of 23 Equations for Estimating LDL Cholesterol in a Clinical Laboratory database of 5,051,467 Patients. *Global Heart*, 2023; 18(1): 36. doi 10.5334/gh.1214.
25. **SEKK (2023)** Závěrečná zpráva k vyhodnocení cyklu EHK, RFA1/23: Rizikové faktory aterosklerózy. Dostupné na www.sekk.cz, [Cit. 21.6.2023.]
26. **Soška, V. et al. (2017)** Společné stanovisko českých odborných společností ke konsensu European Atherosclerosis Society a European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine k vyšetřování krevních lipidů a k interpretaci jejich hodnot. *Klin Biochem Metab*, 25 (46), 2017, No. 1, p. 36–42.
27. **Soška, V. (2022)** Měření cholesterolu a současná doporučení. *Vnitr Lek.* 2022;68(1):54-57. doi 10.36290/vnl.2022.007.
28. **Soška, V. (2023)** Je něco nového ve výpočtu koncentrace LDL-cholesterolu? *Klin Biochem Metab*, 31 (52), 2023, No. 2, p. 31.
29. **Tan, H.T. et al. (2023)** Evaluation of low-density lipoprotein cholesterol equations by cross-platform assessment of accuracy-based EQA data against SI-traceable reference value. *Clin Chem Lab Med.* 2023;10.1515/cclm-2022-1301. doi 10.1515/cclm-2022-1301.
30. **Tóth, J. et al.** Practice of lipid result reporting in Hungary and introduction of a new report format at the University of Debrecen. “61st National Congress of the Hungarian Society of Laboratory Medicine: Semmelweis University, 8–10 June 2023, Budapest, Hungary” *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2023. doi 10.1515/cclm-2023-0485.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 79–85

DYSLIPIDÉMIA U PACIENTOV S PRIMÁRNOU BILIÁRNOU CHOLANGOITÍDOU DYSGLIPIDAEMIA IN PATIENTS WITH PRIMARY BILIARY CHOLANGITIS

Hostačná Lenka^{1,2}, Ďurovcová Eva¹

¹Ústav lekárskej a klinickej biochémie, UPJŠ LF, Košice

²Oddelenie klinickej biochémie, Medirex, a.s., Košice

loravcov@gmail.com

SÚHRN

Poškodenie pečene z rôznych príčin sa môže prejavovať aj formou sekundárnych dyslipidémii. U pacientov s primárnou biliárnou cholangitídou (PBC) sa stretávame s významnou hypercholesterolémiou, ktorá je podmienená prítomnosťou abnormálnej lipoproteínovej častice – lipoproteínu X. Na rozdiel od LDL častíc neobsahuje vo svojej molekule apoB, a preto nepodlieha hepatálnemu klírensu prostredníctvom LDL receptorov a neinhibuje kľúčový enzým syntézy cholesterolu – *3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzým A reductázu*. Lipoproteín X má pravdepodobne antiaterogénne vlastnosti, výskyt kardiovaskulárnych príhod u pacientov s PBC nie je podľa väčšiny štúdií zvýšený. Na progresiu ochorenia PBC má pravdepodobne vplyv súčasný výskyt metabolického syndrómu.

Kľúčové slová: primárna biliárna cholangitída; cholestáza; lipoproteín X; hypercholesterolémia; kardiovaskulárne riziko

ABSTRACT

Different forms of hepatopathies can cause secondary dyslipidaemias. Significant hypercholesterolaemia can be seen in patients with cholestatic liver diseases, such as primary biliary cholangitis (PBC), and is attributed to the presence of abnormal lipoprotein particle – li-

poprotein X. Lipoprotein X does not contain apoprotein B, which is typical for LDL particles. Due to the absence of apoprotein B, it is not taken up by hepatocytes by LDL receptors, and it does not inhibit the function of the rate-limiting enzyme of synthesis of cholesterol, hydroxymethylglutaryl-CoA-reductase. It has been described that lipoprotein X may have an antiatherogenic effect, the vast majority of the studies have not shown an increased cardiovascular risk in patients with PBC. Metabolic syndrome can also have an impact on the progression of PBC.

Keywords: primary biliary cholangitis; cholestasis; lipoprotein X; hypercholesterolaemia; cardiovascular risk.

ÚVOD

Primárna biliárna cholangitída (PBC) predstavuje chronické autoimunitné ochorenie pečene, ktoré sa vyznačuje cholestázou trvajúcou dlhšie ako 6 mesiacov. V patogenéze PBC sa uplatňujú environmentálne faktory spolu s imunogenetickými a epigenetickými rizikovými faktormi, ktoré vedú k chronickému imunitou sprostredkovanému postihnutiu žlčových ciest s následnou cholestázou, duktopéniou a progresívnou biliárnou fibrózou.

Typickým znakom cholestatických ochorení pečene je hypercholesterolémia, s ktorou sa stretávame aj u pa-

cientov s PBC. Štúdie zaoberajúce sa prípadným zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom u pacientov s PBC prinášajú doposiaľ protichodné výsledky.

Primárna biliárna cholangitída – charakteristika ochorenia

Primárna biliárna cholangitída predstavuje chronické a progresívne cholestatické autoimunitné ochorenie (M e l e a kol., 2022). K rozvoju PBC, podobne ako aj u iných autoimunitných ochorení, dochádza u geneticky predisponovaného jedinca vplyvom faktorov vonkajšieho prostredia. Z environmentálnych faktorov boli popísané fajčenie, abúzus drog, mikrobióm, ako aj chemické xenobiotiká. Medzi ďalšie rizikové faktory patria súčasný výskyt iných autoimunitných ochorení, opakované urogenitálne infekcie, toxická a chemická expozícia napr. voči lakom na nechty a farbám na vlasy (H u a n g, 2016). Genetická podstata ochorenia zatiaľ nebola jednoznačne identifikovaná, ale podporuje ju zvýšený výskyt ochorenia popísaný v niektorých rodinách s postihnutím matky a dcéry, ako aj prítomnosť antigénov HLA-B8, HLA-DR3, HLA-DR4, výskyt ktorých je typický aj pre iné autoimunitné ochorenia. Podstatnú úlohu v patogenéze ochorenia zohráva patologická odpoveď cytotoxických T-lymfocytov, ktorá vedie k poškodeniu vnútropečeňových, prevažne interlobulárnych a septálnych žlčovýchodov (F e j f a r a kol., 2018).

Incidencia a prevalencia ochorenia majú stúpajúci charakter, najvyššie sú v Severnej Amerike. Odhadovaná incidencia PBC je 0,23–5,31/100 000 za rok, prevalencia 1,91–40,2/100 000 (Y o u a kol., 2021). Údaje o incidencii a prevalencii ochorenia v Slovenskej republike nie sú k dispozícii. Celosvetovo toto ochorenie postihuje 1 z 1000 žien vo veku nad 40 rokov (European Association for the Study of the Liver, 2017). Epidemiologické štúdie taktiež poukázali na zvyšujúci sa vek v čase stanovenia diagnózy, ako aj na nárast počtu asymptomatických pacientov v čase stanovenia diagnózy (F l o r e a n i a kol., 2017).

Diagnóza PBC by mala byť zvažovaná u všetkých pacientov s pretrvávajúcimi cholestatickými markermi pri vyšetrení pečeňových testov alebo so symptómami, akými sú pruritus a únava (European Association for the Study of the Liver, 2017). Približne 50 % pacientov je v čase stanovenia diagnózy asymptomatických. Medzi ďalšie typické klinické príznaky PBC patrí aj celková slabosť, denná spavosť, strata hmotnosti, sicca syndróm, xantelazmy a xantómy, ikterus, kožné hyperpigmentácie, abdominálny dyskom-

fort, hepatosplenomegália, cholelitiáza, malabsorpčný syndróm a extrahepatálne manifestácie autoimunitných ochorení. V pokročilých štádiách môžu byť prítomné deficity v tuku rozpustných vitamínov. Vážnu komplikáciu predstavuje aj metabolická kostná choroba prejavujúca sa ako osteoporóza, zriedkavejšie ako osteomalácia, či vznik hepatocelulárneho karcinómu (H u a n g, 2016).

Laboratórne známky primárnej biliárnej cholangitídy

Pri základnom laboratórnom vyšetrení dominuje rôzny stupeň cholestázy; hlavným znakom je zvýšenie aktivity alkalickéj fosfatázy (ALP) v sére, väčšinou spolu so zvýšením aktivity gamaglutamyltransferázy (GGT) (Fejfar a kol., 2018). Stupeň hepatocelulárneho poškodenia až nekrózy, najmä pri súčasnom zvýšení imunoglobulínu G v dôsledku parenchýmového zápalu, odráža zvýšená aktivita aspartátaminotransferázy (AST) a alanínaminotransferázy (ALT). Pomer AST/ALT > 1 môže byť známkou pečenej fibrózy (European Association for the Study of the Liver, 2017). Pomerne častým, aj keď nešpecifickým nálezom, je polyklonové zvýšenie imunoglobulínu M (Fejfar a kol., 2018). V prípade zvýšenej aktivity aminotransferáz je potrebné vylúčiť prekryvný syndróm s autoimunitnou hepatitídou.

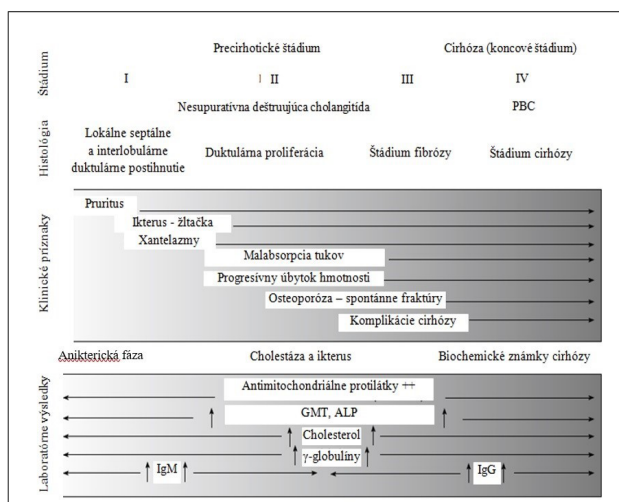
V pokročilejších štádiách ochorenia býva zvýšený bilirubín v sére, pokles albumínu a trombocytov a predĺženie PT. Hyperbilirubinémia je dôsledkom intrahepatálnej cholestázy, preto je prevažná časť celkového bilirubínu tvorená jeho konjugovanou frakciou. V pokročilejších štádiách ochorenia môže byť hyperbilirubinémia dôsledkom nielen žlčového refluxu, ale aj zvýšenej hemolýzy, ktorú podporuje nadbytok žlčových kyselín v sére. Žlčové kyseliny sú schopné rozpúšťať lipidové zložky cytoplazmatických membrán nielen erytrocytov, ale aj ostatných krvných buniek. V tomto prípade sa na hyperbilirubinémii podieľajú obe frakcie bilirubínu. Konjugovaný bilirubín možno dokázať aj v moči pacientov s PBC.

Sérové koncentrácie žlčových kyselín sú zvýšené už v asymptomatickom štádiu PBC pred nástupom pruritu. U pacientov s PBC sú v sére prítomné v značnom množstve všetky frakcie konjugovaných žlčových kyselín, nekonjugované žlčové kyseliny sa vyskytujú zriedkavo (R e s h e t n y a k, 2015).

Vyšetrenie	Nález	Podozrenie	Diagnóza	Prognóza	Poznámka
ALP	↑	•	•	•	hodnoty sa zvyšujú s progresiou ochorenia
AST / ALT	↑	•		•	možný prekryvný syndróm a ALH
GMT	↑	•			odzrkadľuje cholestázu
IgM	↑	•			zvýšené hodnoty asociované s ochorením
AMA (>1/40)	+		•		diagnostické kritérium prítomné u > 90 % pacientov
špecifické ANA	+		•		pozitivita u 30 % pacientov
anti-gp210	+		•	•	
anti-sp100	+		•		
anti-centromérové	+			•	asociované s fenotypom portálnej hypertenzie
bilirubín	↑			•	zvýšenie v pokročilejších štádiách, často v štádiu cirhózy
trombocyty	↓			•	svedčí pre cirhózu pečene
INR	↑			•	svedčí pre cirhózu pečene
albumín	↓			•	svedčí pre cirhózu pečene

Tab. 1: Využitie laboratórných vyšetrení u primárnej biliárnej cholangitídy (upravené podľa European Association for the Study of the Liver, 2017)

Vyšetrenie autoprotílátok proti pečevému tkanivu je nevyhnutnou súčasťou diferenciálnej diagnostiky chronických ochorení pečene. Pri podozrení na PBC je základným a vysoko senzitivným a špecifickým vyšetrením (senzitivita $\geq 90\%$, špecifita $\geq 95\%$) stanovenie antimitochondriálnych protílátok (AMA) namierených proti E2 podjednotke pyruvátdehydrogenázového komplexu (PDC-E2). U zhruba 30 % pacientov s PBC je možné dokázať aj pozitívitu anti-nukleárných protílátok (ANA) s nízkou senzitivitou, avšak špecifita u podtypov anti-sp100 a anti-gp210 je vysoká ($> 95\%$). Stanovenie týchto protílátok má významnú úlohu v diagnostike ochorenia u pacientov s negatívnymi AMA (F e j f a r a kol., 2018). Výskyt klinických a laboratórných známk v jednotlivých štádiách PBC ilustruje obrázok 1.



Obr. 1: Schematické znázornenie klinických, biochemických, imunologických a histologických známk primárnej biliárnej cholangitídy (prevzaté a upravené podľa Reshetnyak, 2015)

Diagnostické kritériá primárnej biliárnej cholangitídy

Na stanovenie diagnózy ochorenia PBC postačuje kombinácia kritérií 1 a 2 alebo 1 a 3:

- viac ako 6 mesiacov trvajúce zvýšenie aktivity ALP v sére pečevého pôvodu pri normálnom náleze na biliárnom strome detegovanom pomocou USG, EUS alebo MRCP;
- pozitivita AMA (titer $> 1:40$) alebo pozitivita anti-sp100 a anti-gp210 subtypov ANA;
- histologický nález postihnutia interlobulárných žlčovodov nehnisavou obštruktívnou cholangitídou.

Vzhľadom na vysokú špecifitu AMA protílátok pre diagnózu PBC nie je v súčasnosti potrebná biopsia pečene u všetkých pacientov (F e j f a r a kol., 2018).

Poruchy metabolizmu cholesterolu u pacientov s primárnou biliárnou cholangitídou

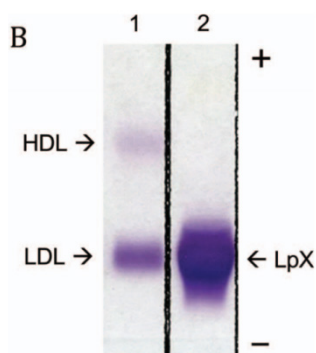
Vzhľadom na to, že pečeň plní hlavnú úlohu v syntéze aj eliminácii cholesterolu, rôzne zmeny v metabolizme cholesterolu môžu byť indikátorom hepatálnej alebo biliárnej dysfunkcie (N e m e s a kol., 2016). Progresívna intrahepatálna cholestáza vedie k zmenám v metabolizme žlčových kyselín, k nedostatočnému uvoľňovaniu žlčových kyselín do duodena. Dôsledkom je pokles hydrolýzy tukov, znížené vstrebávanie tukov a v tukoch rozpustných vitamínov s následnou steatoreou, energetickým, minerálnym a vitamínovým deficitom a akumuláciou tukov v hepatocytoch a v plazme. V pečeni sa zvyšuje syntéza

cholesterolu a znižuje sa vychytávanie LDL častíc prostredníctvom LDL receptorov. Práve tieto zmeny majú za následok hyperlipidémiu u pacientov s PBC (R e s h e t n y a k a M a e v, 2022). Hyperlipidémia sa vyskytuje u 75 – 95 % pacientov s PBC (L o a e z a d e l C a s t i l l o a kol., 2019).

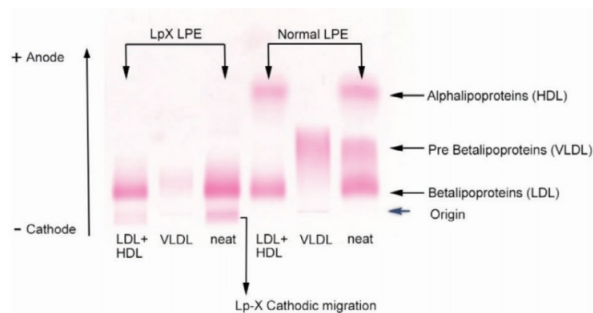
V skorých štádiách ochorenia je u pacientov s PBC zvýšený celkový cholesterol, fosfolipidy, LDL cholesterol, masťné kyseliny a je prítomný lipoproteín X (LpX) (R e s h e t n y a k a M a e v, 2022). Koncentrácie HDL u pacientov s PBC sú variabilné a závisia od štádia ochorenia. HDL je zvýšený u pacientov v počiatočných štádiách, znížené koncentrácie v koncových. Skorý vzostup HDL je pravdepodobne dôsledkom inhibície hepatálnej lipázy a porušenej produkcie tohto enzýmu hepatocytmi. Hepatálna lipáza uľahčuje katabolizmus HDL. Pokles HDL v pokročilých štádiách PBC napriek zníženej aktivite hepatálnej lipázy je spojený so súčasným deficitom lecitín:cholesterol acyl transferázy (LCAT) (S o r o k i n a kol., 2007).

Lipoproteín X

Pri separácii lipoproteínov prostredníctvom stĺpcovej chromatografie sa v LDL oblasti pri závažnej cholestáze detegujú LpY (na TAG bohatá častica), LpX a normálne LDL častice (R a o a kol., 2017). Termín lipoproteín X pochádza od S e i d e l a a kol., ktorí v roku 1969 identifikovali abnormálnu lipoproteínovú časticu imunochemicky odlišnú od lipoproteínu (a) u pacientov s PBC. Vzhľadom na jeho denzitu sa predtým označoval ako Lp „d < 1,063“ alebo aj ako obštrukčný lipoproteín. Denzitou sa LpX blíži k LDL časticiam, fyzikálna veľkosť je podobná VLDL časticiam, prípadne väčšia (Obr. 2 a 3). Podobne ako VLDL, aj LpX častica je schopná rozptyľovať svetlo a spôsobíť vizuálnu turbiditu. Atypický LpX migruje v oblasti betaglobulínov.



Obr. 2: Lipoproteínový profil a elektroforéza. Dráha 1 predstavuje kontrolnú vzorku, dráha 2 vzorku pacienta s primárnou biliárnou cholangitídou. Šípky označujú pozíciu HDL a LDL. Tmavý zamazaný prúžok s migráciou v regióne LDL predstavuje LpX (prevzaté z Farooqi a Hashim, 2015)



Obr. 3: Elektroforéza sérových lipoproteínov znázorňujúca migráciu lipoproteínu X ku katóde (prevzaté z Rao a kol., 2017)

Lipoproteín X predstavuje unikátnu lipoproteínovú časticu, ktorá je zložená z lipidovej dvojvrstvy s priemerom 30 – 70 nm obklopujúcej vnútorný kompartment (Foley a kol., 2009). Táto častica je zložená hlavne z fosfolipidov (66 %), voľného cholesterolu (22%), proteínov (6 %), esterifikovaného cholesterolu (3 %), TAG (3 %). Zo žlčových kyselín je hlavným komponentom LpX kyselina litocholová (R a o a kol., 2017). Hlavnou proteínovou zložkou je albumín v jadre častice a apoC, apoE a apoA1 na jej povrchu (R e s h e t n y a k a M a e v, 2022).

Jedným z najvýznamnejších znakov v štruktúre LpX je chýbanie apoB, hlavnej časti LDL častíc, ktoré predstavujú kľúčový faktor vo vývoji aterosklerotických plakov (H e i n l a kol., 2017). V dôsledku chýbania apoB na povrchu LpX, tieto častice nie sú odstraňované prostredníctvom LDL receptorov na hepatocytoch (iba malé množstvo prostredníctvom väzby cez apoE), ale za pomoci retikuloendotelového systému (F e l l i n a M a n z a t o, 2019). Vďaka absencii apoB zohráva LpX úlohu v odstraňovaní nadbytočných žlčových kyselín a neesterifikovaného cholesterolu preberaného z iných lipoproteínových častíc, pri ktorom je obchádzaná pečeň (R e s h e t n y a k a M a e v, 2022).

Lipoproteín X sa nepovažuje za aterogénnu časticu. V prítomnosti LpX je znížená oxidácia LDL častíc (R a o a kol., 2017). Bolo dokázané, že u pacientov s PBC sú LDL častice istým spôsobom chránené voči ich oxidácii v závislosti na množstve LpX. Okrem toho došlo v prítomnosti LpX aj k zníženiu nežiaducich účinkov už oxidovaných LDL častíc na endotelové bunky (C h a n g a kol., 2004).

Prítomnosť LpX sa typicky prejavuje nízkymi koncentraciami apoB-100 spolu s vysokými koncentraciami celkového cholesterolu. Zvyčajná cieľová hodnota apoB-100 je menej ako 0,9 g·L⁻¹, čo korešponduje s koncentraciou LDL cholesterolu menej ako 3,0 mmol·L⁻¹. Pomer

apoB-100 k celkového cholesterolu je fyziologicky 1:2, avšak v prípade významnej tvorby LpX aj 1:10. Pokiaľ je pri zvýšenej koncentrácii LDL cholesterolu koncentrácia apoB-100 menej ako $0,9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, hypolipidemická liečba nie je potrebná a predpokladá sa prítomnosť neaterogénneho LpX (N e m e s a kol., 2016).

Počiatkové vyšetrenie pacientov s PBC by tak malo zahŕňať aj skríning tradičných rizikových faktorov ako fajčenie, diabetes, hypertenzia, zvýšenie BMI a lipidový panel vrátane vyšetrenia apoB-100. Bežné vyšetrenie lipidov neumožňuje odlíšiť LpX a LDL, čím sa LDL vyšetrenie stáva nedostatočným na stratifikáciu kardiovaskulárneho rizika. Keďže apoB-100 sa na časticiach LpX nenachádza, jeho stanovenie pomáha odlíšiť LpX od LDL. ApoB-100 je preto vhodné na stratifikáciu rizika u pacientov s PBC, jeho vyšetrením je možné zamedziť nadmernému predpisovaniu statínov pri zvýšení LDL u pacientov s PBC (M e l e a kol., 2022).

Lipoproteín X prispieva k hypercholesterolémii aj zvýšením syntézy cholesterolu v pečeni, zabraňuje vychytávaniu chylomikrónových remnantov hepatocytmi, čím dochádza k poklesu obsahu cholesterolu v hepatocytoch a zvyšuje sa aktivita 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzým A (HMG-Co-A) reductázy. Bolo dokázané, že LpX zvyšuje celkové množstvo HMG-Co-A reductázy v hepatocyte priemerne dvojnásobne a jej enzýmovú aktivitu viac ako päťnásobne v porovnaní s kontrolami bez prítomnosti LpX (S o r o k i n a kol., 2007).

Kardiovaskulárne riziko u pacientov s primárnou biliárnou cholangoitídou

Hypercholesterolémia je známym rizikovým faktorom kardiovaskulárnych ochorení. Výsledky štúdií u pacientov s PBC o vzájomnom vzťahu hypercholesterolémie a zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom sú protichodné a stále nejasné (S u r a w e e r a a kol., 2018). Vo všeobecnej populácii bola dokázaná zvýšená kardiovaskulárna morbidita a mortalita u pacientov s hodnotami celkového cholesterolu $\geq 7,2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (L o n g o a kol., 2002). Mortalita pacientov s PBC je oproti všeobecnej populácii trikrát vyššia, avšak podiel kardiovaskulárnej mortality ostáva nejasný (L o r i a a kol., 2014). Väčšina štúdií dosiaľ nepotvrdila zvýšené kardiovaskulárne riziko u pacientov s PBC bez známok súčasného metabolického syndrómu (MS). Hypercholesterolémia u pacientov s PBC nie je asociovaná so subklinickou aterosklerózou, hodnotenou meraním intimo-mediálnej hrúbky karotíd v porovnaní s pacientmi s PBC bez hypercholesterolémie (W a h - S u a r e z a kol., 2019).

Špecifický lipidový profil u pacientov s PBC pravdepodobne prispieva k tomu, že hypercholesterolémia u pacientov s PBC nevedie k ateroskleroze v takom rozsahu, ako u zdravej populácie. K nízkemu stupňu aterogenicity u pacientov s PBC môže prispievať zvýšená sérová koncentrácia HDL a znížená agregácia trombocytov. Súčasťou častíc HDL sú apolipoproteíny A1 a A2. Apolipoproteín A1 (apoA1) má pravdepodobne antiaterogénne vlastnosti. U pacientov s PBC je frakcia celkového apolipoproteínu A vyššia a jeho distribúcia je posunutá smerom k zvýšeným hodnotám apoA1, čo vysvetľuje ich protektívny kardiovaskulárny účinok.

Lipoproteín (a) (Lp(a)) predstavuje nezávislý rizikový faktor aterosklerózy. Pacienti s hypercholesterolémiou v dôsledku PBC majú koncentrácie Lp(a) podobné koncentráciám jedincov bez hypercholesterolémie (S u r a w e e r a a kol., 2018).

Ďalším významným predstaviteľom antiaterogénnych faktorov s protektívnym účinkom voči ateroskleróze a MS je adiponektín. V skupine pacientov s PBC boli signifikantne vyššie hodnoty adiponektínu, leptínu a rezistínu, avšak iba adiponektín bol spojený aj s histologickou progresiou PBC a jeho hodnoty negatívne korelovali s BMI. Hodnoty adiponektínu navyše korelovali nezávisle s vekom, Mayo risk skóre (prognostický index PBC) a hodnotami GMT.

Keďže do klírensu adiponektínu je zapojená aj biliárna sekrécia, progresívna cholestáza môže podporovať intrahepatálnu akumuláciu adiponektínu (F l o r e a n i a kol., 2008).

Meranie intimo-mediálnej hrúbky karotických artérií predstavuje bezpečný, neinvazívny a relatívne lacný prostriedok na detekciu subklinickej aterosklerózy. Intimo-mediálna hrúbka karotickej artérie koreluje s prítomnosťou kardiovaskulárnych rizikových faktorov a s výskytom kardiovaskulárnych ochorení. Talianski autori hodnotili USG karotíd u pacientov s PBC (38 % z nich s hypercholesterolémiou) a v kontrolných skupinách s hypercholesterolémiou a s normálnymi hodnotami cholesterolu. Vyššie hodnoty intimo-mediálnej hrúbky a vysoká prevalencia karotickej stenózy boli zistené len v skupine kontrol s hypercholesterolémiou, nie u pacientov s PBC s korešpondujúcimi hodnotami cholesterolu (A l l o c a a kol., 2006).

Vplyv metabolického syndrómu na progresiu primárnej biliárnej cholangoitídy

Okrem hypercholesterolémie u pacientov s PBC môžu prispievať k vyššiemu kardiovaskulárnemu riziku aj ďalšie rizikové faktory, ako to bolo potvrdené v prípade súčasne

prítomnej hypertenzie alebo MS (W a h - S u a r e z a kol., 2019). Metabolický syndróm môže ovplyvňovať ochorenie pečene viacerými mechanizmami, ako napr. zvýšením voľných kyslíkových radikálov, indukciou peroxidácie lipidov s následnou stimuláciou syntézu extracelulárnej matrix hviezdovitými bunkami (F l o r e a n i a kol., 2015). Metabolický syndróm je spojený nielen s kardiovaskulárnou morbiditou, ale aj s metabolicky asociovanou tukovou chorobou pečene (MAFLD). Prevalencia MAFLD koreluje s prevalenciou obezity a inzulínovej rezistencie a pravdepodobnosť metabolicky asociovanej steatohepatitídy (MASH) a pokročilejších štádií MAFLD sa zvyšuje, ak sú súčasne prítomné viaceré znaky MS.

Na základe týchto údajov Hindi a kol. (2012) predpokladali, že koexistencia jedného alebo viacerých znakov MS a prítomnosť histologických črt MASH je spojená s pokročilou fibrózou u pacientov s PBC a vykonali retrospektívnu analýzu pacientov diagnostikovaných s PBC. Hodnotili výskyt známk MS a histologických známk MASH a ich koreláciu so štádiom fibrózy a biliárneho postihnutia. Autori potvrdili významnú asociáciu medzi obezitou (BMI > 25) a MASH s pokročilou fibrózou pacientov s PBC. Prítomnosť portálneho zápalu s poškodením biliárnych kanálikov bola nájdená u pacientov s obezitou aj MAFLD/MASH. Z toho vyplýva, že klinické a histologické znaky MAFLD majú klinický význam a negatívne ovplyvňujú progresiu ochorenia pacientov s PBC (H i n d i a kol., 2012). Výsledky tejto štúdie sú v súlade s výsledkami talianskej štúdie Sorrentina a kol. s 274 pacientami s AMA-pozitívnou PBC, ktorí taktiež potvrdili výskyt steatózy (40,5 %) a steatohepatitídy u 14,9 % pacientov s PBC. Potvrdili nezávislú asociáciu medzi oxidačným stresom, steatózou, vyšším BMI a abúзом alkoholu a pokročilejším štádiom PBC (S o r r e n t i n o a kol., 2010).

Viscerálny tuk sa významne podieľa na vývoji MS a kardiovaskulárnych ochorení. Pacienti s PBC majú podľa Alempijevica a kol. (2011) nižšie množstvo viscerálneho tuku, čo môže prispievať k nižšej incidencii kardiovaskulárnych príhod napriek značnej hypercholesterolémii (A l e m p i j e v i c a kol., 2011). Floreani a kol. (2015) vo svojej štúdií hodnotili výskyt MS v súvislosti s PBC analýzou nálezov databázy pacientov s dlhodobým sledovaním. V skupine pacientov s PBC bol MS zistený u 32,1 % pacientov. Pacienti s MS mali podobný biochemický profil ako pacienti bez MS, okrem hodnôt HDL cholesterolu a TAG. Pacienti s MS mali väčšie BMI a väčší obvod pásu. Priemerný vek v čase stanovenia diagnózy u pacientov s PBC

a MS bol taktiež signifikantne vyšší. V oboch skupinách pacientov bola závažnosť ochorenia (podľa histologického štádia a Mayo risk skóre) podobná. Počas sledovania bola incidencia kardiovaskulárnych príhod vyššia u pacientov s MS, ale ich prežívanie sa od skupiny pacientov bez MS neodlišovalo (F l o r e a n i a kol., 2015).

ZÁVER

Hypercholesterolémia, najmä v podobe zvýšenia LDL cholesterolu, je známym rizikovým faktorom kardiovaskulárnych ochorení. Typickým nálezom u pacientov s PBC sú zmeny v metabolizme lipidov, avšak výsledky štúdií o vzájomnom vzťahu hypercholesterolémie u pacientov s PBC a ich zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom sú protichodné a stále nejasné. Patologický lipidový profil u pacientov s PBC charakterizuje hypercholesterolémia so značne zvýšenými TAG, HDL aj LDL cholesterolom, pričom ich koncentrácie závisia aj od štádia ochorenia. Špecifický lipidový profil u pacientov s PBC pravdepodobne prispieva k tomu, že hypercholesterolémia u pacientov s PBC nevedie k aterogenéze v takom rozsahu, ako u zdravej populácie. K nízkemu stupňu aterogenicity môže prispievať zvýšená sérová koncentrácia HDL a znížená agregácia trombocytov. Lipoproteín (a) predstavuje nezávislý rizikový faktor aterosklerózy. Pacienti s hypercholesterolémiou v dôsledku PBC majú koncentrácie Lp(a) podobné koncentráciám jedincov bez hypercholesterolémie.

Metabolický syndróm je spojený nielen s kardiovaskulárnou morbiditou, ale aj s metabolicky asociovanou tukovou chorobou pečene. Súčasná prítomnosť znakov MS u pacientov s primárnou biliárnou cholangitídou môže viesť k ich vyššiemu kardiovaskulárnemu riziku.

ZDROJE

- 1. Alempijevic, T. et al. (2011):** Ultrasound measurement of visceral fat in patients with primary biliary cirrhosis. In *Vojnosanit Pregl* 2011;68:739–743. doi: 10.2298/VSP1109739A.
- 2. Allocca, M. et al. (2006):** Hypercholesterolaemia is not associated with early atherosclerotic lesions in primary biliary cirrhosis. In *Gut* 2006;55:1795–1800. doi: 10.1136/gut.2005.079814.
- 3. European Association for the Study of the Liver (2017):** EASL Clinical Practice Guidelines: the diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. In *J Hepatol* 2017; 67(1): 145 – 172. doi: 10.1016/j.jhep.2017.03.022.

- 4. Farooqi, M. S. et Hashim, I. A. (2015):** A woman with primary biliary cirrhosis and hyponatremia. In *Clinical Chemistry* 61:8 1028–1032 (2015).
- 5. Fejfar, T. a kol. (2018):** Primární biliární cholangitida – doporučený postup České hepatologické společnosti ČLS JEP pro diagnostiku a léčbu. In *Gastroent Hepatol* 2018; 72(2): 109 – 118.
- 6. Fellin, R. and Manzato, E. (2019):** Lipoprotein-X fifty years after its original discovery. In *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* (2019) 29, 4-8.
- 7. Floreani, A. et al. (2008):** Plasma adiponectin levels in primary biliary cirrhosis: a novel perspective for link between hypercholesterolemia and protection against atherosclerosis. In *Am J Gastroenterol* 2008;103:1959–1965. doi: 10.1111/j.1572-0241.2008.01888.x.
- 8. Floreani, A. et al. (2015):** Metabolic syndrome associated with primary biliary cirrhosis. In *J Clin Gastroenterol* 2015;49:57–60. doi: 10.1097/MCG.000000000000029.
- 9. Floreani, A. et al. (2017):** Geoeidemiology and changing mortality in primary biliary cholangitis. In *J Gastroenterol* (2017) 52:655–662. DOI 10.1007/s00535-017-1333-2.
- 10. Foley, K. F. et al. (2009):** A Patient with Primary Biliary Cirrhosis and Elevated LDL Cholesterol. In *Clinical Chemistry* 55:1 (2009).
- 11. Heini, R. E. et al. (2017):** Lipoprotein-X disease in the setting of severe cholestatic hepatobiliary autoimmune disease. In *Journal of Clinical Lipidology* (2017) 11, 282–286.
- 12. Hindi, M. et al. (2013):** Primary Biliary Cirrhosis is More Severe in Overweight Patients. In *J Clin Gastroenterol*. 2013 Mar;47(3):e28-32. doi: 10.1097/MCG.0b013e318261e659.
- 13. Huang, Y. Q. (2016):** Recent advances in the diagnosis and treatment of primary biliary cholangitis. In *World J Hepatol* 2016 November 28; 8(33): 1419-1441. ISSN 1948-5182 (online).
- 14. Chang, P. Y. et al. (2004):** Lipoprotein-X reduces LDL atherogenicity in primary biliary cirrhosis by preventing LDL oxidation. In *J Lipid Res* 2004;45:2116–2122. doi: 10.1194/jlr.M400229-JLR200.
- 15. Loeza-del Castillo, A. M. et al. (2019):** Patterns of serum lipids derangements and cardiovascular risk assessment in patients with primary biliary cholangitis. *Annals of Hepatology* 18 (2019) 879–882 <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2019.07.006>.
- 16. Longo, M. et al. (2002):** Hyperlipidaemic state and cardiovascular risk in primary biliary cirrhosis. In *Gut* 2002;51:265–269. doi: 10.1136/gut.51.2.265.
- 17. Loria, P. et al. (2014):** Cardiovascular risk, lipidemic phenotype and steatosis. A comparative analysis of cirrhotic and non-cirrhotic liver disease due to varying etiology. In *Atherosclerosis* 232 (2014) 99e109.
- 18. Mele, A. A et al. (2022):** Hyperlipidemia in the Setting of Primary Biliary Cholangitis: A Case Report and Review of Management Strategies. *Cureus* 14(11): e31411. DOI 10.7759/cureus.31411.
- 19. Nemes, K. et al. (2016):** Cholesterol metabolism in cholestatic liver disease and liver transplantation: From molecular mechanisms to clinical implications. In *World J Hepatol* 2016 August 8; 8(22): 924-932. ISSN 1948-5182 (online).
- 20. Rao, N. et al. (2017):** Lipoprotein X in autoimmune liver disease causing interference in routine and specialist biochemical investigations. In *Clinical Lipidology* 2017, 12:1, 8-13.
- 21. Reshetnyak, V. I. (2015):** Primary biliary cirrhosis: Clinical and laboratory criteria for its diagnosis. In *World J Gastroenterol* 2015 July 7; 21(25): 7683-7708 ISSN 2219-2840 (online).
- 22. Reshetnyak, V. I. et Maev, I. V. (2022):** Features of Lipid Metabolism Disorders in Primary Biliary Cholangitis. *Biomedicines* 2022, 10, 3046. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123046>.
- 23. Sorokin, A. et al. (2007):** Primary biliary cirrhosis, hyperlipidemia, and atherosclerotic risk: a systematic review. In *Atherosclerosis* 2007;194: 293–299. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2006.11.036.
- 24. Sorrentino, P. et al. (2010):** Oxidative stress and steatosis are cofactors of liver injury in primary biliary cirrhosis. In *J Gastroenterol*. 2010 Oct;45(10):1053-62. doi: 10.1007/s00535-010-0249-x.
- 25. Suraweera, D. et al. (2018):** Risk of Cardiovascular Events in Patients with Primary Biliary Cholangitis - Systematic Review. In *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2018 vol. 6 | 1–8.
- 26. You, H. et al. (2023):** Guidelines on the Diagnosis and Management of Primary Biliary Cholangitis (2021). *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2023 vol. 11(3) | 736–746 DOI: 10.14218/JCTH.2022.00347.
- 27. Wah-Suarez, M. I. et al. (2019):** Hyperlipidaemia in primary biliary cholangitis: treatment, safety and efficacy. *Frontline Gastroenterology* 2019;10:401–408. doi:10.1136/flgastro-2018-10112.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 86–90

VÝSKYT VČASNÝCH KOMPLIKÁCIÍ PO VYŠETRENÍ ENDOSKOPICKOU RETROGRÁDNOU CHOLANGIOPANKREATIKOGRAFIU INCIDENCE OF EARLY COMPLICATIONS AFTER ENDOSCOPIC RETROGRADE CHOLANGIOPANCREATOGRAPHY

Kička Miloš, Roškovičová Veronika, Madárová Natália, Lenárt Marek, Hulík Štefan,
Gajdzik Tomáš, Adandedjan Dávid, Kalanin Rastislav, Kaťuchová Jana, Radoňak Jozef
I. chirurgická klinika, UPJŠ LF a UNLP, Košice

kickamilos79@gmail.com

SÚHRN

Endoskopická retrográdna cholangiopankreatikografia (ERCP) je metóda využívaná v diagnostike a liečbe ochorení pankreatobiliárneho traktu. Ide však o invazívne vyšetrenie spojené s výskytom až fatálnych komplikácií. Cieľom tejto práce bolo vyhodnotenie výsledkov výskytu včasných komplikácií, stanovenie miery morbidity a mortality u pacientov po ERCP vyšetrení, poukázať na možnosti ich riešenia a prevencie. V retrospektívnej štúdií sme sledovali výskyt komplikácií po ERCP vyšetrení u 4814 pacientov od roku 2013 do apríla 2023. ERCP vyšetrenie bolo realizované v UNLP v Košiciach a komplikácie liečené na I. Chirurgickej klinike UPJŠ a UNLP v Košiciach. Bolo zaznamenaných celkovo 175 včasných komplikácií. Najčastejšou komplikáciou v našom súbore pacientov bola akútna pankreatitída u 76 pacientov, nasledovaná akútnou cholangitídou v 48 prípadoch. Miera mortality predstavovala 0.12%, t.j. 6 pacientov. Minimalizovanie rizikových faktorov, včasná diagnostika a liečba komplikácií po ERCP vyšetrení predstavujú cestu k zníženiu morbidity a mortality v manažmente týchto stavov.

Kľúčové slová: ERCP; komplikácia; vyšetrenie; post ERCP pankreatitída

ABSTRACT

Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) is a method used in the diagnosis and treatment of diseases of the pancreatobiliary tract. However, it is an invasive examination associated with the occurrence of fatal complications. The aim of this work was to evaluate the results of the incidence of early complications of ERCP and to determine the morbidity and mortality rates in patients after ERCP and also to point out the possibilities of their management and prevention. In a retrospective study, we looked at the incidence of complications after ERCP in 4814 patients from 2013 to April 2023. ERCP was performed at University Hospital of Louis Pasteur in Košice and complications were treated at I. Surgical Clinic of University of Pavol Jozef Šafárik and at University Hospital of Louis Pasteur in Košice. A total of 175 early complications were recorded. Acute pancreatitis was the most common complication in our patient group consisting of 76 patients, followed by acute cholangitis in 48 cases. The mortality rate was 0.12%, i.e. 6 patients. Minimizing risk factors, early diagnosis and treatment of complications after ERCP represent a way to reduce morbidity and mortality in the management of these conditions.

Key words: endoscopic retrograde cholangiopancreatography; complication; examination; post ERCP pancreatitis

ÚVOD

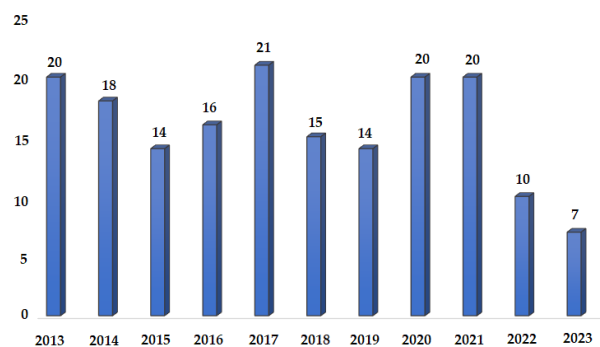
Endoskopická retrográdna cholangiopankreatikografia je kombinovaná rádiologická a endoskopická metóda, ktorá má diagnostické aj terapeutické využitie pri manažmente liečby a diagnostiky pankreatobiliárnych ochorení. Prvýkrát bola úspešne vykonaná kanylácia žlčových ciest v roku 1968, ktorú vykonal McCune (M c C u n e a kol., 1968). S pokrokom v endoskopických technikách sa ERCP stala relatívne bezpečným a účinným postupom. S rozvojom moderných zobrazovacích vyšetrovacích postupov, predovšetkým MR a MRCP vyšetrenia, sa ERCP vyšetrenie posunulo do oblasti terapeutických, nie diagnostických metód. Ide však o invazívne vyšetrenie, ktoré so sebou prináša výskyt až fatálnych komplikácií. Riziká týchto komplikácií sa líšia v závislosti od niekoľkých faktorov, ako je výber pacienta, zručnosti endoskopujúceho lekára, typ a manažment zákroku (J o h n s o n a kol., 2020). Každá invazívna diagnostická aj terapeutická metóda so sebou prináša nežiadúce komplikácie. Komplikácie po ERCP delíme na včasné a neskoré. Medzi včasné komplikácie patrí akútna pankreatitída, akútna cholangitída, perforácia a krvácanie, ktorým sa budeme ďalej venovať v našom článku. Medzi neskoré komplikácie patrí stenóza Vaterskej papily, restenóza benígnych striktúr po dilatácií a recidíva choledocholitíazy. Podľa dostupných vedeckých článkov sa miera mortality pohybuje v rozmedzí 0.1-6%, zatiaľ čo miera morbidity v rozmedzí 5-10% (L a n g e r t h a kol., 2020; E n o c h s s o n a kol., 2013; C h r i s t e n s e n a kol., 2004; C o t t o n a kol., 2009; K a l a i t z a k i s, 2016; E n o c h s s o n a kol., 2010).

SÚBOR PACIENTOV A METÓDY

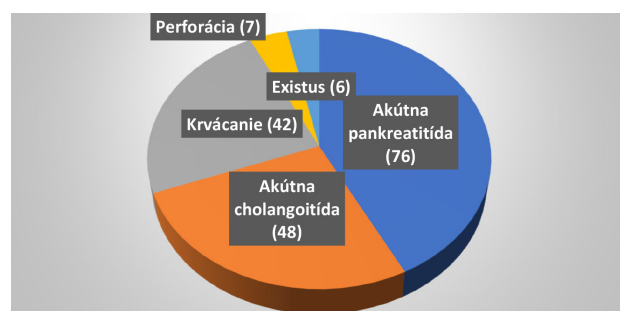
V období od januára roku 2013 do apríla 2023 sme sledovali včasné komplikácie u pacientov po ERCP vyšetrení hospitalizovaných na I. chirurgickej klinike UPJŠ a UNLP v Košiciach s realizovaným ERCP vyšetrením na Klinike rádiodiagnostiky a zobrazovacích metód. Celkový počet pacientov bol 4814. V súbore pacientov bolo 57 % mužov a 43 % žien. Priemerný vek pacientov bol 58 rokov. U väčšiny pacientov bol manažment liečby komplikácie zvládnutý konzervatívne. Cieľom našej práce bolo vyhodnotenie výsledkov výskytu včasných komplikácií, stanovenie miery mortality a morbidity u pacientov po ERCP vyšetrení, poukázať na možnosti ich riešenia a prevencie.

VÝSLEDKY

V našom súbore sme zaznamenali celkovo 175 včasných komplikácií, čo predstavuje 3.6% zo všetkých pacientov. Výskyt komplikácií v jednotlivých rokoch môžeme vidieť v **Grafe č.1**. Po ERCP bola najčastejšou včasnou komplikáciou v našom súbore pacientov akútna pankreatitída, ktorá tvorila 1,5 %, t.j. 76 pacientov. Druhou najčastejšou bola akútna cholangitída ktorá tvorila približne 1%, t.j. 48 pacientov. Ďalšími včasnými komplikáciami bolo krvácanie s mierou zastúpenia približne 0.8%, t.j. 42 pacientov a perforácia s mierou zastúpenia 0.14%, ktorú tvorilo 7 pacientov (**Graf č.2**). Mortalita v našom súbore pacientov dosiahla 0.12 %, t.j. 6 pacientov. Príčinou exitu boli v troch prípadoch kardiálne príčiny, jeden pacient exitoval v dôsledku septického šoku po operačnej revízií, u jedného pacienta nastal exitus v dôsledku hemoragického šoku a u jedného pacienta šlo o onkologické ochorenie v terminálnom štádiu.



Graf č.1 Výskyt včasných komplikácií po ERCP v jednotlivých rokoch



Graf č.2 Výskyt včasných komplikácií po ERCP

AKÚTNA PANKREATITÍDA

Post ERCP pankreatitída (PEP) je najčastejšou komplikáciou po ERCP vyšetrení a môže viesť k významnej morbidite, ako aj k občasnej úmrtnosti (M o r a l e s a kol., 2018). Definícia PEP podľa Cottona z roku 2002 je na základe troch kritérií: nová alebo klinicky zhoršujúca sa bolesť brucha po ERCP, elevácia sérovej hladiny amyláz a lipáz

po 24 hodinách aspoň na trojnásobok hornej hranici normy a predĺženie hospitalizácie aspoň o 2 noci (C o t t o n a L e u n g, 2006). Endoskopujúci lekári, ktorí vykonávajú ERCP, by mali okrem adekvátneho tréningu postupov dokonale rozumieť rizikovým faktorom PEP súvisiacim s pacientom ako aj samotným postupom. Ak sú počiatočné štandardné techniky neúspešné, mali by sa použiť procedurálne techniky podporujúce minimálne traumatickú biliárnu kanyláciu. V našom súbore pacientov bol výskyt PEP približne 1.5%, podľa dostupných zdrojov sa približne pohybuje v rozmedzí 1-15% (E l m u n z e r, 2017). U každého z pacientov bolo realizované CT vyšetrenie s nálezom edematózneho typu u 75 pacientov, v jednom prípade šlo o nekrotickú formu pankreatitídy. Základom liečby PEP bola spazmo – analgetická a infúzna terapia, vylúčenie per orálneho príjmu. U nekrotickej formy sme do liečby pridali štandardne odporúčané antibiotiká (meropenem), po dobu 7 dní.

AKÚTNA CHOLANGOITÍDA

Druhou najčastejšou komplikáciou v našom súbore bola akútna cholangitída s prevalenciou približne 1%, ktorú tvorilo 48 pacientov. Akútna cholangitída je charakterizovaná akútnou bolesťou brucha bezprostredne po ERCP, febrilitami a eleváciou obštrukčných hepatálnych parametrov (I g b a l a kol., 2020). Najčastejšie vzniká po upchatí duodenobiliárneho drénu, po vytvorení striktúry na podklade edému alebo po pasáži konkrementu žľčovými cestami. Základom liečby bola intravenózna hydratácia doplnená o antibiotickú liečbu, na ktorú pacienti dobre odpovedali.

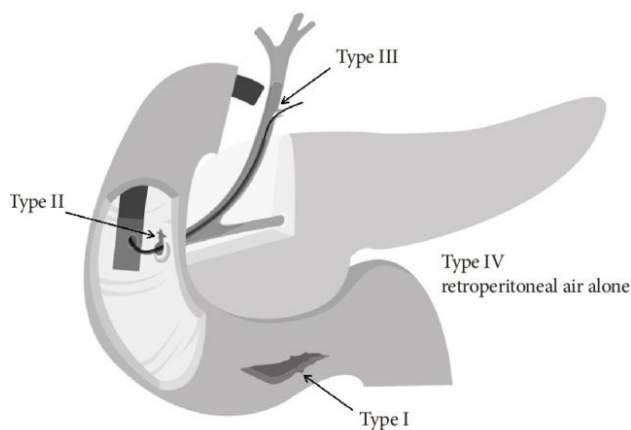
KRVÁCANIE

Rizikové faktory ako vrodené alebo získané koagulopatie, portálna hypertenzia alebo pacienti po predošlej endoskopicko-papilosfinkterotómii, môžu v značnej miere prispieť ku vzniku krvácania po ERCP. Krvácanie je najmä komplikáciou endoskopicko-papilotómie (C a s t a n e r a a kol., 2020). V našom súbore pacientov sa vyskytlo u 42 pacientov, to predstavuje približne 0.8 % všetkých pacientov. U jedného pacienta sa vyskytlo krvácanie z pažerákových varixov, u dvoch pacientov sme zaznamenali krvácanie z ulkusu žalúdka a u dvoch pacientov sme zaznamenali krvácanie pri ezofagitíde. Konzervatívnym postupom, ktorý zahŕňal hemostyptiká a volumoterapiu, bez nutnosti

chirurgickej intervencie sme boli úspešní u 15 pacientov. Endoskopickú intervenciu si vyžiadalo 22 prípadov, vo všetkých sa vykonal opích Vaterskej papily adrenálnom.

PERFORÁCIA

Najobávanejšou komplikáciou je perforácia, ktorá môže priniesť až fatálne dôsledky. V našom súbore pacientov bol výskyt perforácie u 7 pacientov, čo predstavuje približne 0.1%. Perforácie, ktoré vznikajú po ERCP vyšetrení rozdelil Stapfer na základe anatomickej lokalizácie na štyri skupiny (**Obrázok 1**). V súlade s tým perforácie typu 1, tiež známe ako perforácie mediálnej alebo laterálnej steny, ovplyvňujú lumenálnu stenu dvanástnika a môžu viesť k veľkým únikom kontrastu v retroperitoneálnom alebo intraperitoneálnom priestore (**Obrázok 2**). Tieto perforácie sú zvyčajne spôsobené príliš veľkým tlakom aplikovaným na tenkostenné duodenum alebo keď hrot sondy priamo perforuje duodenálny divertikel (S t a p f e r a kol., 2000). V našom súbore sme mali troch pacientov so Stapfer I perforáciou, ktorú sme riešili u dvoch pacientov operačnou revíziou a sutúrou duodena, u tretieho pacienta klipom endoskopicky. Perforácie typu II sú spôsobené sfinkterotómiou alebo prerezaním pomocou ihlového noža a nachádzajú sa v periampulárnej oblasti dvanástnika. Tieto perforácie si vyžadujú chirurgickú revíziu. Naše úspešné pokusy sme uzavreli endoskopicky pomocou samoexpandovateľných kovových stentov (SEMS). V našom súbore pacientov sme nezaznamenali perforácie tohto typu. Perforácie typu III sa vyskytujú počas kanylácie žľčovodu a pankreatického vývodu a často zahŕňajú perforáciu vodiaceho drôtu cez bočnú vetvu pankreatického vývodu alebo kapsulu pečene (S t a p f e r a kol., 2000). Zvyčajne sú malé a súvisia s drôtenými alebo košíčkovými prístrojmi v blízkosti prekážok. V našom súbore sme mali jedného pacienta, u ktorého sme vykonali sutúru terminálneho ductus choledochus. Nakoniec, perforácie typu IV sú retroperitoneálne mikroperforácie, ktoré sa nepovažujú za skutočné perforácie a pravdepodobne súvisia s použitím stlačeného vzduchu na udržanie priechodnosti lúmenu. Charakterizuje ich samotný retroperitoneálny vzduch. U troch pacientov v našej databáze sme zaznamenali tento typ perforácie, následne sme museli vykonať urgentnú revíziu a drenáž žľčových ciest. Z nášho súboru pacientov jeden pacient z dôvodu septického šoku po operačnej revízií zomrel.



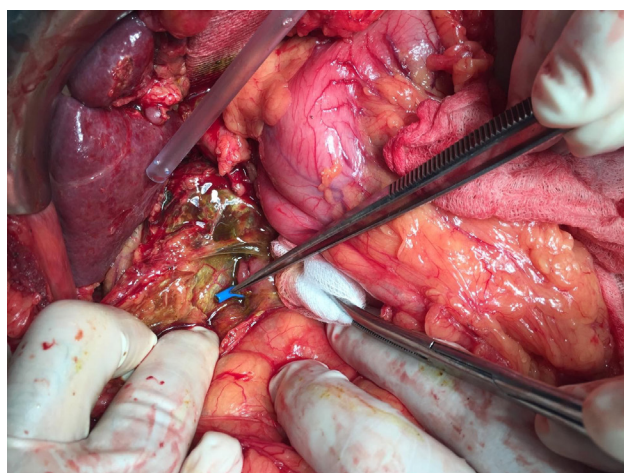
Obrázok 1 Stapferova klasifikácia perforácií po ERCP (upravené podľa Stapfer a kol., 2000)

Typ I – perforácia mediálnej alebo laterálnej steny duodena

Typ II – perforácia v oblasti Vaterskej papily

Typ III – perforácia žľového alebo pankreatického vývodu

Typ IV – prítomnosť vzduchu v retroperitoneu, bez zjavnej perforácie



Obrázok 2 Duodenobilárny drén v retroperitoneu cez perforačný otvor v stene duodena (vlastný súbor autora)

DISKUSIA

ERCP patrí medzi zlatý štandard v diagnostike a liečbe ochorení pankreatobilárneho vývodového systému. Netreba však zabúdať, že je metódou invazívnou a prináša so sebou ako každá diagnosticko-terapeutická invazívna metóda nežiadúce komplikácie. Správnou prípravou a manažmentom pacienta sa týmto komplikáciám môžeme v malej miere vyhnúť. Profylakticky sa u vysokorizikových pacientov odporúča podanie rektálnych nesteroidných protizápalových liekov alebo umiestnenie stentov do pankreatických vývodov a podávanie laktátového Ringerovho roztoku ako dobrá prevencia pred výskytom akútnej pankreatitídy (C a h y a d i a kol., 2022).

Preventívnymi opatreniami v rámci už endoskopického zákroku na obmedzenie výskytu a závažnosti PEP u pacientov sú krátka manipulácia v oblasti papily, pou-

žitie vodiaceho drôtu namiesto opakovaného plnenia kontrastnou látkou alebo implantácia tenkého duodeno-pankreatického drénu (L e e a kol., 2021). Preventívnymi opatreniami môžeme eliminovať výskyt aj ostatných komplikácií. Ako prevencia výskytu akútnej cholangitídy sa odporúča profylaktické podanie antibiotík a CO₂-asistovaná cholangiografia u rizikových pacientov namiesto použitia kontrastu (P é c s i a kol., 2021).

Najnovšie štúdie odporúčajú použitie oxidu dusičnatého, ktorý znižuje základný tlak a amplitúdu sily používanej pri inhibícii Oddiho zvierča a tak umožňuje ľahšiu kanyláciu ductus choledochus (S t a r i t z a kol., 1985; Kaufman a kol., 1993; Luman a kol., 1997).

Dôležitá je príprava pacientov s koagulačnými poruchami a na antikoagulačnej liečbe pred zákrokom a následné dôkladné monitorovanie pacientov po zákroku. Včasná diagnostika a liečba je základom podchytenia komplikácií ako perforácia a krvácanie, ktoré môžu mať fatálne dôsledky (W i l c o x a kol., 2004).

Metódou voľby pri podozrení na perforáciu zostáva CT abdomenu s použitím intravenózneho a perorálneho kontrastu (J o h n s o n a kol., 2020). Základné terapeutické metódy sa opierajú o konzervatívne postupy, pri krvácaní doplnené o endoskopický prístup, avšak ak máme nestabilného pacienta s príznakmi peritoneálneho dráždenia odporúča sa promptný chirurgický zákrok. Existujú stratégie na zníženie a zvládnutie komplikácií súvisiacich s ERCP, ktoré sme si uviedli vyššie, ale na určenie skutočného rozsahu každého rizikového faktora a preventívneho opatrenia sú potrebné rozsiahle štúdie. Prehľadom a zdieľaním súčasných znalostí o komplikáciách ERCP, rizikových faktoroch, stratégiách prevencie a algoritmoch manažmentu môžeme pomôcť zlepšiť klinickú užitočnosť ERCP a môžeme znížiť nežiadúce udalosti súvisiace s ERCP.

ZÁVER

ERCP v súčasnosti predstavuje zl atý štandard v liečbe mnohých ochorení žľového systému a pankreatických vývodov. Komplikácie po ERCP vyšetrení, aj keď sú relatívne zriedkavé, ak nie sú včas diagnostikované a primerane liečené, môžu viesť k významnej morbidite až mortalite. Správna indikácia ERCP vyšetrenia, vhodné technické vybavenie a znalosť techník ERCP s ich potencionálnymi komplikáciami vedie k významnému zníženiu výskytu závažných komplikácií.

LITERATÚRA

- 1. Cahyadi, O. et al. (2022)** Post-ERCP Pancreatitis: Prevention, Diagnosis and Management" *Medicina* 58,no.9:1261.<https://doi.org/10.3390/medicina58091261>.
- 2. Castanera E.P. et al. (2020)** Predictiv factors post-ERCP bleeding. Influence of direct oral anticoagulants. *Rev Esp Enferm Dig.* doi: 10.17235/reed.2020.7547/2020.
- 3. Cotton P.B. et al. (2009)** Risk factors for complications after ERCP: a multivariate analysis of 11,497 procedures over 12 years. *Gastrointest Endosc* 70:80–88. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2008.10.039>.
- 4. Cotton, P.B, Leung, J.W.C. (2006)** *Advanced Digestive Endoscopy: ERCP.* Oxford: Blackwell Publishing, p. 416. <https://doi.org/10.1002/9780470987490>.
- 5. Enochsson L. et al. (2010)** Nationwide, population-based data from 11,074 ERCP procedures from the Swedish Registry for Gallstone Surgery and ERCP. *Gastrointest Endosc* 72: 1175–1184, 84 e1–3.doi.org/10.1016/j.gie.2010.07.047.
- 6. Enochsson L. et al. (2013)** The Swedish Registry of Gallstone Surgery and Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography (GallRiks): a nationwide registry for quality assurance of gallstone surgery. *JAMA Surg* 148:471–478.doi.org/10.1001/jamasurg.2013.1221.
- 7. Christensen M. et al. (2004)** Complications of ERCP: a prospective study. *Gastrointest Endosc* 60:721–731. [doi.org/10.1016/s0016-5107\(04\)02169-8](https://doi.org/10.1016/s0016-5107(04)02169-8).
- 8. Igbal U. et al. (2020)** Emergent versus urgent ERCP in acute cholangitis: a systematic review and meta-analysis, *Gastrointestinal Endoscopy*, Volume 91, Issue 4, Pages 753-760.e4, <https://doi.org/10.1016/j.gie.2019.09.040>.
- 9. Johnson, K.D. et al. (2020)** Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography-Related Complications and Their Management Strategies: A "Scoping" Literature Review. *Dig Dis Sci* 65, 361–375. <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05970-3>.
- 10. Kalaitzakis E. (2016)** All-cause mortality after ERCP. *Endoscopy* 48:987–994.doi.org/10.1055/s-0042-111319.
- 11. Kaufman H.S., Shermak M.A., May C.A.(1993):** Nitric oxide inhibits resting sphincter of Oddi activity. *Am J Surg.*;165:74–80.
- 12. Langerth A. et al. (2020)** ERCP-related perforations: a population-based study of incidence, mortality, and risk factors. *Surg Endosc* 34, 1939–1947. <https://doi.org/10.1007/s00464-019-06966-w>.
- 13. Lee Y.S. et al. (2021)** Difficult Biliary Cannulation from the Perspective of Post-Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography Pancreatitis: Identifying the Optimal Timing for the Rescue Cannulation Technique. *Gut Liver*, 15, 459-464.doi.org/10.105009/gnl19304.
- 14. Luman W. et al. (1997)** Topical glyceryl trinitrate relaxes the sphincter of Oddi. *Gut.*;40:541–543. doi.org/10.1136/gut.40.4.541.
- 15. McCune W.S., Shorb P.E. and Moscovitz H. (1968)** Endoscopic Cannulation of the Ampulla of Vater: A Preliminary Report. *Annals of Surgery*, 167, 752-756. [http://dx.doi.org/10.1097/0000658-196805000-00013](https://doi.org/10.1097/0000658-196805000-00013).
- 16. Morales S.J., Sampath K., Gardner T.B. (2018)** A Review of Prevention of Post-ERCP Pancreatitis. *Gastroenterol Hepatol.* May; 14 (5): 286-292. PMID: 29991936; PMCID: PMC6034611.
- 17. Pécsi D. et al.(2021)** ERCP is more challenging in cases of acute biliary pancreatitis than in acute cholangitis – Analysis of the Hungarian ERCP registry data. *Pancreatology*, 21(1), 59–63. doi.org/10.1016/j.pan.2020.11.025.
- 18. Stapfer M. et al. (2000)** Management of duodenal perforation after endoscopic retrograde cholangiopancreatography and sphincterotomy. *Ann Surg.*, 232:191-8. [10.1097/0000658-200008000-00007](https://doi.org/10.1097/0000658-200008000-00007).
- 19. Staritz M. et al. (1985)** Effect of glyceryl trinitrate on the sphincter of Oddi motility and baseline pressure. *Gut.* 1985;26:194–197.doi.org/10.1136/gut.26.2.194
- 20. Wilcox C.M. et al. (2004)** Patterns of bleeding after endoscopic sphincterotomy, the subsequent risk of bleeding, and the role of epinephrine injection. *Am J Gastroenterol.* 99:244–248.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.04058.x.



VÝZNAM STANOVENIA FIBROBLASTOVÉHO RASTOVÉHO FAKTORA 23 IMPORTANCE OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 DETERMINATION

Hostačná Lenka^{1,2}, Ďurovcová Eva¹

¹Ústav lekárskej a klinickej biochémie, UPJŠ LF, Košice

²Oddelenie klinickej biochémie, Medirex, a.s., Košice

loravcov@gmail.com

SÚHRN

Fibroblastový rastový faktor 23 (FGF-23) predstavuje fosfaturický hormón patriaci do podrodiny endokrinných fibroblastových rastových faktorov. Je vylučovaný hlavne osteoblastmi a osteocytmi kostí a je kľúčovým hormónom v regulácii fosfátovej homeostázy. Tumorom indukovaná osteomalácia predstavuje zriedkavý paraneoplastický syndróm charakterizovaný hypofosfatémiou v dôsledku zvýšených koncentrácií tumorom vylučovaného FGF-23. Následne dochádza k obličkovým stratám fosfátov, porušenému metabolizmu vitamínu D a k osteomalácii.

Jednou z najčastejších príčin zvýšenia FGF-23 je chronická obličková choroba. K zvýšeniu FGF-23 dochádza už v počiatočných štádiách ochorenia a hodnoty FGF-23 korelujú s kardiovaskulárnym rizikom. Fibroblastový rastový faktor 23 je preto považovaný za skorý marker priebehu minerálovej a kostnej choroby.

Kľúčové slová: fibroblastový rastový faktor 23; hypofosfatémia; fosfatúria; tumorom indukovaná osteomalácia, chronická obličková choroba

ABSTRACT

Fibroblast growth factor 23 is a phosphotropic hormone that belongs to a subfamily of endocrine fibroblast

growth factors. It is secreted mainly by osteocytes and osteoblasts in bone and is a principal hormone for the regulation of phosphate homeostasis.

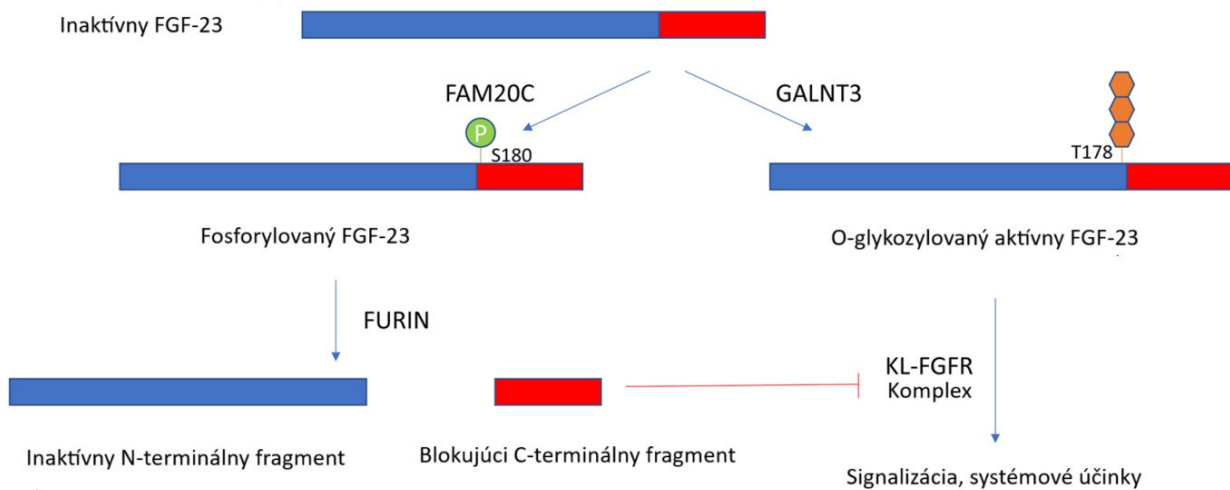
Tumor-induced osteomalacia is a rare acquired paraneoplastic disease characterized by hypophosphatemia resulting from excess levels of tumor-secreted FGF-23. Elevated FGF-23 results in renal phosphate wasting and compromised vitamin D activation, ultimately resulting in osteomalacia.

Chronic kidney disease is one of the most common causes of FGF-23 elevation. Fibroblast growth factor 23 level increases in the very early stages of chronic kidney disease and its concentration may also be highly associated with cardiac complications. Therefore, FGF-23 could be considered an early biomarker of development of chronic kidney disease-mineral bone disorder.

Key words: fibroblast growth factor 23; hypophosphatemia; phosphaturia; tumor-induced osteomalacia; chronic kidney disease

ÚVOD

Fibroblastové rastové faktory (FGF) predstavujú polypeptidové rastové faktory s rozličnými biologickými účinkami. Ovplyvňujú procesy angiogenézy, mitogenézy, diferenciácie buniek, bunkovej migrácie a regenerácie poškodených



Obr. 1: Posttranslačná modifikácia FGF-23 (upravené podľa Ho a Bergwitz, 2021):

Fosforylovaný FGF-23 prostredníctvom FAM20C je štiepený furínom na biologicky neaktívne fragmenty. Neaktívny FGF-23 môže byť aj O-glykozylovaný prostredníctvom GALNT3 na biologicky aktívny intaktný FGF-23.

tkanív. Skupina FGF pozostáva z 22 členov rozdelených do 7 fylogenetických skupín. Fibroblastový rastový faktor 23 (FGF-23) patrí spolu s FGF-19 a FGF-21 do endokrinnnej podrodiny a ide o cirkulujúci hormón, ktorý plní dôležitú úlohu v regulácii minerálnej homeostázy. Fyziologicky sa zvyšuje pri hyperfosfatémii, ktorú normalizuje zvýšením fosfatúrie (Kurpas a kol., 2021). Hyperfosfatémia môže spôsobovať tvorbu ektopických kalcifikácií s následnou poruchou funkcie orgánov (Fauci a kol., 2019).

Fibroblastový rastový faktor 23 – syntéza a posttranslačné modifikácie

Fosfor plní dôležitú úlohu v mnohých fyziologických procesoch, v energetickom metabolizme, bunkovej signalizácii, mineralizácii kostí a funkcii svalov alebo dodávke kyslíka periférnym tkanivám. Hlavnými endokrinnými faktormi ovplyvňujúcimi koncentrácie vápnika a fosforu sú parathormón (PTH), 1,25-dihydroxyvitamín D a FGF-23. Tieto hormóny vzájomnými interakciami a spätno-väzbovými mechanizmami udržiavajú vápnikovú a fosfátovú homeostázu pôsobením na obličky, prítitné telieska, črevá, a kosti (Brand a kol., 2021).

Fibroblastový rastový faktor 23 predstavuje glykoproteín s molekulovou hmotnosťou 32 kDa, ktorého biologická aktivita je sprostredkovaná väzbou na niektorý z jeho špecifických receptorov FGFR1-4 (Albanese a kol., 2022). Fibroblastový rastový faktor 23 je produkovaný predovšetkým osteoblastami a osteocytmi dlhých kostí

(Kalousová a Dusilová Sulková, 2018). Okrem toho je exprimovaný aj v slinných žľazách, žalúdku a v nižších koncentráciách aj v iných tkanivách ako napr. kostrové svaly, mozog, mliečne žľazy, pečeň a srdce (Kurpas a kol., 2021).

Prekursor FGF-23 (obr. 1) pozostáva z 251 aminokyselín, po odštiepení signálneho peptidu (24 aminokyselín) vzniká intaktný FGF-23 (iFGF-23) (Heijboer a Cavalier, 2022). Intaktný FGF-23 môže byť štiepený furínom (subtilizínu podobnou propeín konvertázou) na C-terminálny a N-terminálny fragment, ktoré sú oba neaktívne. Pre správnu funkciu iFGF-23 je potrebná jeho O-glykozylácia, ktorá ho chráni pred intracelulárnou degradáciou furínom (Kalousová a Dusilová Sulková, 2018; Heijboer a Cavalier, 2022). Naopak, fosforylácia neaktívnej molekuly FGF-23 zabraňuje posttranslačnej O-glykozylácií a umožňuje jej proteolýzu furínom (Ho a Bergwitz, 2021). Intaktný FGF-23 predstavuje biologicky aktívnu formu s biologickým polčasom približne 45 – 60 minút (Heijboer a Cavalier, 2022; Albanese a kol., 2022).

Tvorba FGF-23 v kostných bunkách je primárne regulovaná spätno-väzbovými slučkami zahŕňajúcimi hladiny fosfátov, aktívneho vitamínu D a PTH. Zvýšená extracelulárna hladina fosforu, vápnika alebo kalcitriolu zvyšuje sérové hladiny FGF-23. Hypoxia, anémia a nedostatok železa, časté následky chronickej choroby obličiek, boli tiež identifikované ako stimuly tvorby FGF-23. Spúšťačom tvorby

FGF-23 je aj zápal, ktorý prostredníctvom prozápalových cytokínov a iných molekúl spojených so zápalom, vrátane bakteriálnych lipopolysacharidov a pokročilých produktov glykácie (AGE), priamo reguluje expresiu génu FGF-23. Hodnoty FGF-23 pozitívne korelujú s mnohými laboratornými markermi zápalu (Bär a kol., 2019; Kalousová a Dusilová a Sulková, 2018).

Účinky fibroblastového rastového faktora 23

Účinok FGF-23 je sprostredkovaný väzbou na jeho receptor FGFR, v niektorých prípadoch spolu s jeho koreceptorom α Klotho, ktorý stabilizuje väzbu FGF-23/FGFR (Fauconnier a kol., 2019). α Klotho je exprimovaný najmä v obličkách a v choroidálnom plexe, ale aj v prítitných telieskach, hypofýze, placentе, kostrových svaloch, pankrease a semenníkoch (Rodelo-Haad a kol., 2019). Primárnym receptorom FGF-23, ktorý vyžaduje ako kofaktor α -Klotho, je FGFR1c. Receptory FGFR3 a FGFR4 viažu FGF-23 bez účasti α Klotho (Hobaergwitz, 2021). Pre väzbu FGF-23 na komplex FGFR- α Klotho je nevyhnutný C-terminálny fragment (Fauconnier a kol., 2019).

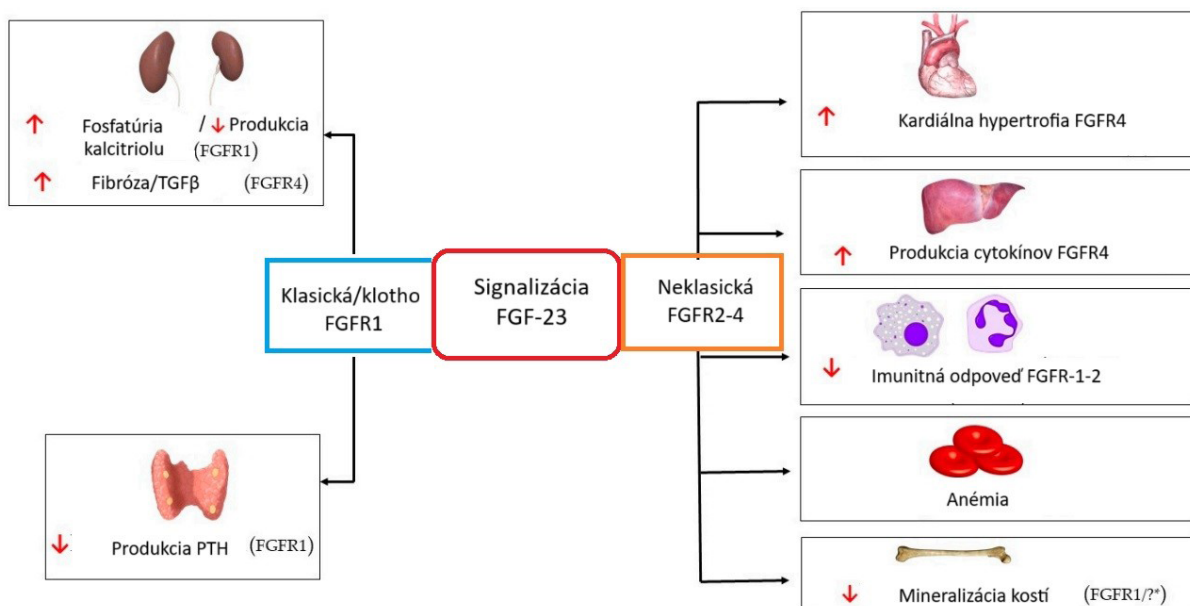
Hormonálny účinok FGF-23 sa prejavuje najmä v obličkách, kde je vysoká expresia α Klotho. Väzba FGF-23 na FGFR1c má za následok zníženú aktivitu Na/P transportérov v bunkách proximálnych tubulov obličiek a tým zníženú reabsorpciu fosfátov. Zvýšená exkrécia fosfátov močom vedie k hypofosfatémii (Brandia kol., 2021). Druhou významnou úlohou FGF-23 v obličkách je inhibícia

enzýmu 1α -hydroxylázy, ktorý premieňa calcidiol na biologicky účinný calcitriol. Okrem toho, FGF-23 stimuluje enzým 24-hydroxylázu, ktorý degraduje calcitriol na jeho neúčinný metabolit (Kalousová a Dusilová a Sulková, 2018).

Prítitné telieska sú ďalším cieľovým orgánom pre FGF-23. Vzťah medzi PTH a FGF-23 je podľa viacerých štúdií nejednoznačný, je pravdepodobné, že FGF-23 reguluje sekréciu PTH najmä za fyziologických okolností. Pri ochoreniach, ako napr. chronická choroba obličiek (CKD) pre zníženú expresiu α Klotho nedokážu ani zvýšené hladiny FGF-23 zabrániť vzniku sekundárnej hyperparatyreózy a vplyv kalcémie a deficitu calcitriolu na sekréciu PTH dominuje (Bär a kol., 2019).

Pri vysokých koncentráciách pôsobí FGF-23 aj na iné orgány (obr. 2). V srdci sa FGF-23 viaže na svoj receptor FGFR4 bez prítomnosti α Klotho, čo vedie k hypertrofii srdca, arytmiám, fibróze a prípadnému zlyhaniu srdca. Fibroblastový rastový faktor 23 má pravdepodobne remodelačné účinky nezávislé od ostatných pro-hypertrofickej faktorov. U pacientov s pokročilou CKD je hypertrofia ľavej komory častým nálezom; FGF-23 môže zvyšovať krvný tlak, podporovať zápal a progresiu CKD. V pitevných nálezoch dialyzovaných pacientov bola potvrdená zvýšená expresia FGF-23 a FGFR4 v kardiomyocytoch (Leifheit-Nestler a kol., 2016).

U pacientov s CKD sa v porovnaní so zdravou populáciou vyskytujú častejšie infekcie. Fibroblastový ras-



Obr.2: Klasické a neklasické účinky FGF-23 (Rodelo-Haad a kol., 2019).

tový faktor 23 znižuje aktiváciu, väzbu, migráciu, chemotaxiu neutrofilov. V pečeni taktiež prostredníctvom väzby na FGFR4 stimuluje tvorbu prozápalových cytokínov a proliferáciu hepatocytov. Na parakrinnej úrovni vplyvom FGF-23 dochádza k porušenej mineralizácii kostí, k anémii (v dôsledku zníženia produkcie a diferenciácie erytrocytov, poklesu erytropoézy a zníženia hodnôt erythropoetínu), ovplyvneniu činnosti mozgu, kostrových svalov, pľúc a endotelu (R o d e l o-H a d a kol., 2019).

Indikácie vyšetrenia fibroblastového rastového faktora 23

Fibroblastový rastový faktor 23 hrá dôležitú úlohu vo vývoji hypofosfatemických ochorení, ako je nádorom indukovaná osteomalácia (TIO) a zriedkavé formy rachitídy (napr. hypofosfatemická rachitída viazaná na chromozóm X), pri ktorých renálne straty fosfátov vedú k hypofosfatémii pri normálnej alebo nízkej koncentrácii PTH.

V diferenciálnej diagnostike hypofosfatémie uvažujeme o získaných tubulopatiách v dôsledku poškodenia obličkových tubulov liekmi alebo toxínmi alebo geneticky podmienených poruchách tubulov (Fanconiho syndróm). Genetické príčiny majú často nástup už v detstve s pozitívnou rodinnou anamnézou. Ďalšími príčinami hypofosfatémie sú hematologické malignity, totálna parenterálna výživa, orgánová transplantácia, refeeding syndróm, korekcia diabetickej ketoacidózy a iné (D e y a kol., 2017).

Na odlíšenie príčin hypofosfatémie s vysokou fosfatúriou sa využíva súčasné stanovenie FGF-23 a PTH. Hladina PTH diferencuje hyperparatyreoidizmus a iné príčiny hypofosfatémie v dôsledku zvýšenia FGF-23 (hypofosfatémia viazaná na chromozóm X (XLH), autozomálne dominantná hypofosfatemická rachitída (ADHR), autozomálne recesívna hypofosfatemická rachitída typ 1 (ARHR1)). Stanovenie FGF-23 pomáha odlíšiť medzi dysfunkciou proximálnych tubulov (nízke koncentrácie FGF-23) a FGF-23-dependenými príčinami ako TIO (normálne alebo zvýšené koncentrácie FGF-23) (H e i j b o e r a C a v a l i e r, 2022).

Význam stanovenia fibroblastového rastového faktora 23 pri tumorom indukovanej osteomalácii

Tumorom indukovaná osteomalácia alebo onkogénna osteomalácia predstavuje zriedkavý paraneoplastický syndróm v dôsledku produkcie FGF-23 benígnymi endokrinnými tumorami spojený s poruchou metabolizmu fosforu a vitamínu D a následnou poruchou metabolizmu kostí

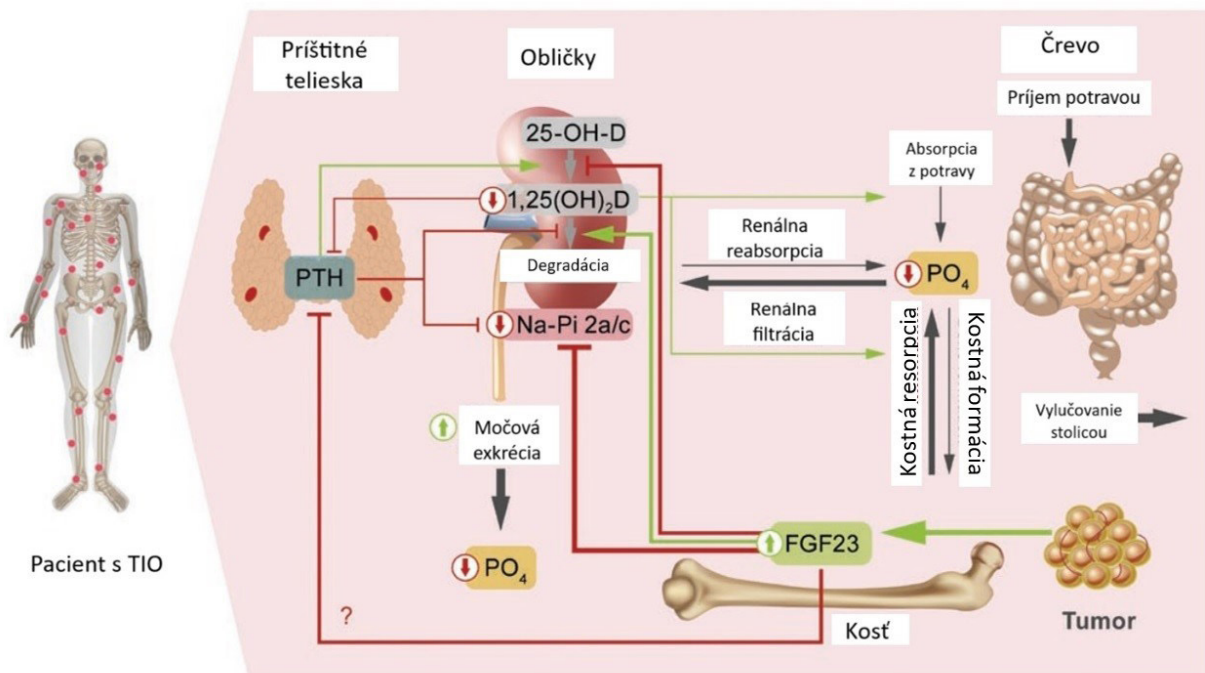
(D a h i r a kol., 2021). Klinické príznaky, akými sú kostná bolesť, zlomeniny, svalová slabosť a deformity skeletu, môžu mať veľký vplyv na kvalitu života pacientov. V niektorých prípadoch môže tumor spôsobiť lokálne príznaky v závislosti od lokalizácie a veľkosti, napr. tumory prínosových dutín sa prejavujú krvácaním a obštrukciou. Keďže prejavy ochorenia sú nešpecifické, diagnostika pacientov s TIO je často oneskorená aj o niekoľko rokov, čo zvyšuje riziko vážnych následkov (B r a n d i a kol., 2021). Doposiaľ bolo v literatúre popísaných celosvetovo len okolo 1000 prípadov tohto ochorenia, prevalencia je však pravdepodobne oveľa vyššia (D a h i r a kol., 2021).

Tumorom indukovaná osteomalácia sa typicky vyskytuje pri malých, pomaly rastúcich mezenchýmových tumoroch, ktorých väčšina sú patologicky klasifikované ako fosfaturické mezenchýmové tumory (PMTs) zmiešaného spojivového tkaniva. Môžu byť lokalizované kdekoľvek v tele v kostiach alebo v spojivovom tkanive (B r a n d i a kol., 2021). K hypofosfatémii v dôsledku zvýšenia FGF-23 môže dôjsť aj pri solídnych neuroendokrinných tumoroch ako napr. malobunkový karcinóm pľúc, karcinóm prostaty alebo pri hematologických malignitách, ktoré môžu tvoriť FGF-23 (H e i j b o e r a C a v a l i e r, 2022).

Priemerný vek výskytu TIO je 40 – 45 rokov, môže sa však objaviť aj u detí a starších ľudí (nad 70 rokov). Postihuje rovnako obe pohlavia. Prípady TIO v pediatrickej populácii sú veľmi zriedkavé a prezentujú sa ako rachitída a rastová retardácia; tieto prípady však môžu byť nesprávne považované za hereditárnu hypofosfatémiu, ktorú je potrebné dokázať genetickým vyšetrením (B r a n d i a kol., 2021). Kľúčovým patogenetickým mechanizmom je nekontrolovaná produkcia FGF-23 zodpovedná za obličkové straty fosfátov, zníženú črevnú absorpciu a chronickú hypofosfatémiu so zníženou kostnou mineralizáciou (D a h i r a kol., 2021).

Prvým krokom v laboratórnej diagnostike TIO, ale aj iných príčin hypofosfatémie, by malo byť vyšetrenie fosforu v sére nalačno. Po potvrdení hypofosfatémie je vhodné stanoviť 1,25-dihydroxyvitamín D, ktorého nízke alebo neprimerane normálne hodnoty odzrkadľujú inhibíciu 1 α -hydroxylázy účinkom FGF-23 na proximálne tubuly obličiek. Diagnózu TIO podporuje nález zvýšeného FGF-23, ktorý je vhodné stanovovať vždy súčasne s fosforom (D a h i r a kol., 2021).

Ďalšími typickými nálezmi je nízky alebo neprimerane normálny 1,25-dihydroxyvitamín D, normálna až znížená



Obr.3: Fosfátový metabolizmus pri tumorom indikovanej osteomalácii (upravené podľa Dahir a kol., 2021)

kalcémie, nízka kalcúria, normálne hodnoty PTH a zvýšenie ALP. Koncentrácia PTH môže byť vysoká pri sekundárnej hyperparatyreóze v dôsledku deficitu vitamínu D spôsobeného FGF-23, hoci samotný FGF-23 potláča tvorbu PTH. Prolongovaná sekundárna hyperparatyreóza u TIO vedie v dôsledku nadmernej stimulácie príštitných teliesok k terciárnej hyperparatyreóze a autonómnej tvorbe PTH. Sekundárna a terciárna hyperparatyreóza ďalej potencujú stratu fosfátov obličkami a hypofosfatémiu (obr. 3).

Zvýšené renálne straty fosfátov potvrdzuje vyšetrenie tubulárnej reabsorpcie fosfátov (TRP) a pomeru maximálnej tubulárnej reabsorpcie ku glomerulovej filtrácii (TmP/GFR). Tento pomer je u pacientov s TIO nízky. Pre výpočet je potrebný súčasný odber krvi nalačno a odber jednorazového moču na vyšetrenie koncentrácie fosfátov a kreatinínu (B r a n d i a kol., 2021). Pri týchto vyšetreniach je dôležité, aby pacient neužíval perorálne ani parenterálne prípravky s obsahom fosforu.

Na presnú lokalizáciu tumorov produkujúcich FGF-23 slúžia zobrazovacie metódy, hlavne 68Ga-DOTA-PET/CT (D a h i r a kol., 2021). Stanovenie FGF-23 sa využíva aj na sledovanie po resekcii tumoru (H e i j b o e r a C a v a l i e r, 2022). Pokles hodnôt FGF-23 po operácii tumoru produkujúceho FGF-23 je spoľahlivou známkou jeho kompletnej resekcie (F a u c o n n i e r a kol., 2019).

Sekundárna TIO sa prezentuje ako paraneoplastický syndróm v spojitosti s pokročilými nádormi hrubého čre-

va, ovárií, prsníka, pľúc a prostaty. (B r a n d i a kol., 2021). Onkogénna osteomalácia má zvyčajne dobrú prognózu, keďže tumory produkujúce FGF-23 sú najčastejšie benígne a resekovateľné. Problémom zostáva neskorá diagnostika (D e y a kol., 2017).

Fibroblastový rastový faktor 23 a chronická obličková choroba

Chronická choroba obličiek predstavuje jednu z najčastejších príčin stavov so zvýšeným FGF-23. Pri rozvoji CKD je prvou metabolickou známkou retencia fosfátov. K zvýšeniu FGF-23 dochádza už v 2. štádiu CKD, ešte pred zvýšením hladiny PTH a fosforu v krvi a pred znížením 1,25-dihydroxyvitamínu D a vápnika. Fyziologickou funkciou FGF-23 je zníženie sekrécie PTH. Deficit α Klotho, ktorý sprevádza zlyhanie obličiek, však čiastočne ovplyvňuje rezistenciu príštitných teliesok na FGF-23 a tým rozvoj sekundárnej hyperparatyreózy. Pravdepodobne ide o kompenzačný mechanizmus s cieľom udržať normálnu fosfatémiu (K u r p a s a kol., 2021). So zvyšovaním fosfatémie v počiatkových štádiách CKD sa súčasne znižuje tvorba 1,25-dihydroxyvitamínu D, čo stimuluje syntézu a sekréciu PTH (A l b a n e s e a kol., 2022).

Koncentrácia FGF-23 u pacientov s CKD sa zvyšuje v závislosti od poklesu funkcie obličiek. Zvýšenie FGF-23 predstavuje prvú známkou porušenej fosfátovej homeostázy. Koncentrácia fosfátov ostáva v referenčnom intervale

vďaka pôsobeniu FGF-23 spravidla až do štádia CKD 4 – 5 (K a l o u s o v á a D u s i l o v á S u l k o v á, 2018). Tento kompenzačný mechanizmus však časom prestreľuje a vedie k poruche fosfátovej homeostázy a k vzniku minerálovej a kostnej choroby (CKD-MBD). Fibroblastový rastový faktor 23 ovplyvňuje tiež metabolizmus železa a erytropoézu, vznik zápalu, inzulínovej rezistencie, proteinúrie, akútneho poškodenia obličiek a hypertrofiu ľavej komory.

V rámci sledovania priebehu ochorenia a znižovania rizika kardiovaskulárnych a kostných komplikácií u pacientov s CKD nefrológovia vyšetrujú koncentrácie vápnika, fosforu, PTH, vitamínu D. Ako by bol teda nápomocný FGF-23? Zvýšenie FGF-23 by mohlo byť prvou laboratórnou známkou vývoja hyperparatyreózy a hyperfosfatémie (M a g a g n o l i a kol., 2022). Bolo dokázané, že zvýšené hodnoty FGF-23 u CKD dobre korelujú s poklesom glomerulovej filtrácie, najvyššie koncentrácie sú v 5. štádiu CKD. Sú nezávislými rizikovými faktormi zhoršenia renálnych funkcií a indikujú potrebu dialýzy/transplantácie obličky u pacientov s aj bez diabetes mellitus. U pacientov s CKD súvisia zvýšené hodnoty aj s celkovou a kardiovaskulárnou mortalitou (F e r r a r o a kol., 2022). Pravidelné monitorovanie hodnôt FGF-23 by preto mohlo pomôcť identifikovať rizikových pacientov vyžadujúcich častejšie a dôkladnejšie sledovanie alebo zavedenie prísnejších preventívnych opatrení (M a g a g n o l i a kol., 2022).

Fibroblastový rastový faktor 23 môže predstavovať kardiovaskulárny rizikový faktor CKD-MBD. Vysoké hodnoty FGF-23 znižujú syntézu vitamínu D, čo spätnou väzbou aktivuje RAAS, ktorý redukuje expresiu α Klotho nevyhnutného pre správnu FGF-23 signalizáciu. Bol potvrdený aj priamy účinok angiotenzínu II a aldosterónu na expresiu FGF-23 v kardiomyocytoch, ktorá prispieva k vývoju myokardiálnej fibrózy pri CKD (K u r p a s a kol., 2021; L e i f h e i t - N e s t l e r a kol., 2018).

Plazmatická koncentrácia FGF-23 sa udáva v jednotkách $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$. U hemodialyzovaných pacientov sú koncentrácie FGF-23 často tisíckrát vyššie ako u zdravých jedincov pravdepodobne v dôsledku zvýšenej kostnej produkcie ako odpoveď na iniciálne a perzistujúce stimulačné faktory. Po transplantácii obličiek dochádza k rýchlemu znižovaniu koncentrácie FGF-23, u veľkej časti pacientov až k fyziologickým hodnotám. Pretrvávajúca vysoká koncentrácia FGF-23 po transplantácii vedie k rozvoju včasnej posttransplantačnej hypofosfatémie (K a l o u s o v á a D u s i l o v á S u l k o v á, 2018).

Význam stanovenia fibroblastového rastového faktora 23 v rôznych štádiách chronickej choroby obličiek

Pri postupnom rozvoji CKD dochádza k strate funkčných nefrónov a tým aj k poklesu expresie α Klotho. Obličky sa stávajú rezistentnými voči účinku FGF-23, na čo organizmus odpovedá jeho zvýšenou syntézou v kostiach s cieľom udržať normofosfatémiu. K takejto odpovedi dochádza už v počiatkových štádiách CKD (GF okolo $75 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.) a zmeny v koncentrácii FGF-23 predchádzajú zmenám v ostatných biomarkeroch poškodenia obličiek.

Vysoké hodnoty FGF-23 predikujú nástup sekundárnej hyperparatyreózy, ktorá je výsledkom reakcie na hypovitaminózu D navodenú FGF-23 a korešpondujúcu hypokalcémiu. K hyperfosfatémii dochádza len vtedy, ak je kompenzačná kapacita fosfaturických hormónov (FGF-23 a PTH) prekročená. Nález zvýšeného FGF-23 pri normofosfatémii môže byť významným diagnostickým a prognostickým prostriedkom na včasnú identifikáciu pacientov, ktorí majú problémy s kontrolou fosfátovej homeostázy.

Fibroblastový rastový faktor 23 ako marker skorej retencie fosfátov poskytuje nový pohľad aj na včasnú diagnostiku a liečbu pacientov s CKD-MBD a stáva sa tak jedným z terapeutických cieľov. Význam má nielen korigovať hyperfosfatémiu v pokročilých štádiách CKD, ale aj zabezpečovať adekvátnu kontrolu normofosfatémie už v počiatkových štádiách. Zvýšenie FGF-23 predstavuje pre funkčné nefróny veľkú záťaž. Vysoká koncentrácia fosfátov v tubuloch vedie k precipitácii s vápnikom a k väzbe kalciumfosfátu na fetuín A. Vzniknuté kalciproteínové častice majú cytotoxický efekt na tubuly a vedú k ďalšiemu poškodeniu obličiek. Podľa posledných štúdií cirkulujúce kalciproteínové častice navodzujú zápalovú odpoveď a tvorbu kalcifikácií v cievach a pri ich ukladaní v kostiach aktivujú expresiu FGF-23 (G o n z á l e z - C a s a u s a kol., 2021).

V pokročilých štádiách CKD je pokles funkčných nefrónov a expresie α -Klotho výrazný. Adaptačný mechanizmus je nedostatočný a dochádza k rezistencii na účinok FGF-23. Cirkulujúce hodnoty FGF-23 sú aj tisíckrát vyššie oproti referenčným hodnotám; FGF-23 sa stáva terapeutickým cieľom s potrebou minimalizácie jeho toxicity na iné orgány (G o n z á l e z - C a s a u s a kol., 2021).

Preanalytické a analytické aspekty stanovenia fibroblastového rastového faktora 23

Dostupné metódy ELISA/CLIA na stanovenie FGF-23 umožňujú stanovovať kompletnú a aktívnu molekulu – intaktný FGF-23, ktorého kvantifikácia lepšie odzrkadľuje jeho biologickú aktivitu. Nevýhodou je možná in vitro degradácia sérovými proteázami (odporúča sa odber plazmy), vyššia intraindividuálna variabilita.

Dostupné ELISA/CLIA metódy rozpoznávajúce C-terminálny úsek molekuly merajú aktívnu formu a aj C-terminálne fragmenty. Majú vyššiu analytickú stabilitu, avšak ich hlavným problémom je malá porovnateľnosť metód a rozdiely medzi kvantitou meraných analytov, teda či sa meria iFGF-23 alebo C-terminálny FGF-23. Keďže sa meria aj C-terminálny fragment, metódy odzrkadľujú len koncentráciu FGF-23 a nie jeho biologickú aktivitu (G o n z á l e z-C a s a u s a kol., 2021). Na európskom trhu je možné využívať automatickú chemiluminiscenčnú imunoanalýzu Diasorin (meria sa iFGF-23) alebo ELISA metódu merajúcu intaktnú molekulu aj C-terminálny fragment od Biomedica.

Interferencie pri stanovení môžu byť spôsobené prítomnosťou heterofilných protilátok alebo monoklonovou protilátkou burosumabom, ktorá sa viaže na iFGF-23 aj na N-terminálny fragment a využíva sa v liečbe X-viazanej hypofosfatémie (H e i j b o e r a C a v a l i e r, 2023). Otázkou je aj voľba správneho typu vzorky. Výrobcami odporúčaná EDTA-plazma neumožňuje súčasné meranie vápnika, riešením by mohlo byť vyšetrenie heparínovej plazmy (F r i e d e c k ý a kol., 2018).

Fibroblastový rastový faktor 23 je stabilným peptidom, s dobrou precíznosťou vyšetrovacích metód. Metódy nie sú štandardizované a preto nie sú porovnateľné. Referenčné intervaly a cut-off hodnoty sú viazané na konkrétnu metódu stanovenia podľa výrobcov. Zdá sa, že hodnoty nie sú ovplyvnené vekom a pohlavím, ale príjem fosfátov, ktorý sa môže v jednotlivých kultúrach líšiť, pravdepodobne treba brať pri interpretácii výsledkov do úvahy. K zlepšeniu štandardizácie FGF-23 metód by mohlo pomôcť zavedenie LC-MS/MS-založenej metódy na kvantifikáciu iFGF-23 ako aj jeho fragmentov (H e i j b o e r a C a v a l i e r, 2023). Odber na FGF-23 by mal byť vykonaný vzhľadom na jeho cirkadiánnny rytmus v ranných hodinách medzi 8:00 – 10:00 (G o n z á l e z-C a s a u s a kol., 2021).

ZÁVER

V uplynulých dvoch desaťročiach bol fibroblastový rastový faktor 23 predmetom intenzívneho výskumu v oblasti nefrológie, kardiológie a onkológie. V súčasnosti je klinická aplikácia imunochemických metód na stanovenie FGF-23 využívaná v diagnostike hereditárnej hypofosfatemickej rachitídy a diagnostike a sledovaní pacientov s TIO. Fibroblastový rastový faktor 23 predstavuje tiež sľubný parameter v manažmente pacientov s chronickou obličkovou chorobou. Jeho zvýšenie odzrkadľuje skorý nástup minerálovej a kostnej choroby ešte pred nálezom hyperfosfatémie a hyperparatyreózy. Hoci sú koncentrácie FGF-23 u pacientov s CKD zvýšené (u hemodialyzovaných dokonca extrémne) a súvisia s mortalitou a kardiovaskulárnym rizikom, indikácie pre využitie stanovenia FGF-23 u pacientov s CKD ako markera predikcie rizika alebo ako liečebného cieľa ostávajú otvorené a vyžadujú ďalší výskum a klinické skúšanie.

V Českej republike je toto vyšetrenie dostupné na vybraných pracoviskách laboratórnej diagnostiky a schválené na úhradu poisťovňou pri určitých diagnózach.

ZDROJE

- Albanese, L. et al. (2022):** Diagnostic utility of FGF-23 in mineral bone disorder during chronic kidney disease. *J Circ Biomark* 2022; 11: 1-4 ISSN 1849-4544 | <https://doi.org/10.33393/jcb.2022.2328>.
- Bär, L. et al. (2019):** Regulation of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in health and disease. *FEBS Letters* 2019; 593 1879–1900: doi:10.1002/1873-3468.13494.
- Brandi, M. L. et al. (2021):** Challenges in the management of tumor-induced osteomalacia (TIO). *Bone* 152 (2021) 116064. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116064>.
- Dahir, K. et al. (2021):** Diagnosis and Management of Tumor-induced Osteomalacia: Perspectives From Clinical Experience. *Journal of the Endocrine Society*, 2021, Vol. 5, No. 9, 1–12 doi:10.1210/jendso/bvab099.
- Dey, B., Gochhait, D., Subramanian, H. et Ponnusamy, M. (2017):** Oncogenic Osteomalacia: An Approach to Diagnosis with a Case Report. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017 Apr, Vol-11(4): ED05-ED07. DOI: 10.7860/JCDR/2017/25055.9634.
- Fauconnier, Ch. et al. (2019):** FGF23: Clinical usefulness and analytical evolution. *Clinical Biochemistry* Volume 66, April 2019, Pages 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.03.002>.

7. Ferraro, S. et al. (2022): Fibroblast growth factor 23: translating analytical improvement into clinical effectiveness for tertiary prevention in chronic kidney disease. *Clin Chem Lab Med* 2022; 60(11): 1694–1705. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0635>.
8. Friedecký, B. a kol., (2018): Úvodní studie měření FGF 23 metodou LIAISON FGF 23. *Klin. Biochem. Metab.*, 26 (47), 2018, No. 1, p. 18–20.
9. González-Casaus, M. L., Gonzalez-Parrab, E., Fernandez-Callec, P. et Buno-Soto, A. (2021): FGF23: From academic nephrology to personalized patients' care. *Nefrologia*. (2021); 41(3):276–283. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2020.09.008>.
10. Heijboer, A.C et Cavalier E. (2023): The Measurement and Interpretation of Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) Concentrations. *Calcified Tissue International* (2023) 112:258–270 <https://doi.org/10.1007/s00223-022-00987-9>.
11. Ho, B.B. et Bergwitz, C. (2021): FGF23 signalling and physiology. *J Mol Endocrinol*. 2021 Feb;66(2):R23-R32. doi: 10.1530/JME-20-0178.
12. Kalousová, M. a Dusilová Sulková S. (2018): Fibroblastový růstový faktor 23 (FGF-23) – nově dostupné laboratorní vyšetření s klinickou aplikací. *Postgraduální nefrologie*. 2018, roč. 16, č. 2, s. 3-6 .
13. Kurpas, A., Supel, K., Idzikowska, K., Zielińska, M. (2021): FGF23: A Review of Its Role in Mineral Metabolism and Renal and Cardiovascular Disease. *Disease Markers* Volume 2021, Article ID 8821292, 12 pages <https://doi.org/10.1155/2021/8821292>.
14. Leifheit-Nestler, M. et al. (2016): Induction of cardiac FGF23/FGFR4 expression is associated with left ventricular hypertrophy in patients with chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2016, 31, 1088–1099.
15. Leifheit-Nestler M. et al. (2018): Fibroblast growth factor 23 is induced by an activated renin-angiotensin-aldosterone system in cardiac myocytes and promotes the pro-fibrotic crosstalk between cardiac myocytes and fibroblasts. *Nephrol Dial Transplant* 33, 1722–1734.
16. Magagnoli, L., Galassi, A., Ciceri, P. et Cozzolino, M. (2022): Measuring FGF23 in clinical practice: dream or reality? *Clin Chem Lab Med* 2022; 60(11): 1691–1693. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0877>.
17. Rodelo-Haad, C. et al. (2019): FGF23, Biomarker or Target? *Toxins* 2019, 11, 175; doi:10.3390/toxins11030175.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 99–106

METABOLIZMUS ŽELEZA A MOŽNÉ NÁSLEDKY JEHO NARUŠENEJ HOMEOSTÁZY VPLYVOM SOCIÁLNYCH DETERMINANTOV

IRON METABOLISM, AND POSSIBLE CONSEQUENCES OF ITS DISTURBED HO- MEOSTASIS DUE TO THE INFLUENCE OF SOCIAL DETERMINANTS

Hubková Beáta¹, Mašlanková Jana¹, Filáková Daniela², Birková Anna¹, Hertelyová Zdenka³,
Chovan Shoshana²

¹Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF, Košice

²Ústav psychológie zdravia a metodológie výskumu UPJŠ LF, Košice

³Centrum klinického a predklinického výskumu MEDIPARK, Ústav experimentálnej medicíny, Lekárska fakulta
UPJŠ, Košice

beata.hubkova@upjs.sk

SÚHRN

Železo je významným mikroprvkom, aktívne sa zapájajúcim do mnohých fyziologických, ale aj patologických dráh. Jeho metabolizmus je podľa viacerých štúdií ovplyvnený okrem iného aj socioekonomickými determinantami. Stanovenie koncentrácie sérovej hladiny železa nie je dostatočné pre potreby správnej diagnostiky patologických stavov spojených s narušenou homeostázou železa. V diagnostickom procese je potrebné vziať do úvahy aj koncentráciu sérového ferritínu a transferínu, celkovej a voľnej väzbovú kapacitu železa, solubilného transferínový receptora a hladiny saturácie transferínu.

Kľúčové slová: železo; metabolizmus; sociálny status

ABSTRACT

Iron is a vital microelement, actively involved in many physiological and pathological pathways. According to recent studies, its metabolism is influenced, among others, by socioeconomic determinants. Assessment of the concentration of serum iron level is not sufficient for the need for correct diagnosis of pathological conditions associated with disturbed iron homeostasis. In the diagnostic process, it is also necessary to consider the concentration of serum ferritin and transferrin, total and

free iron binding capacity, soluble transferrin receptor and transferrin saturation level.

Key words: iron; metabolism; social status

ÚVOD

Železo je mikroprvok schopný ľahko prenášať elektróny medzi rôznymi substrátmi, vďaka čomu je životne dôležitým, avšak vysoko reaktívnym mikronutrientom. Najčastejšie sa vyskytuje v dvoch oxidačných stavoch: vo forme železnatého (Fe^{2+}) a železitého kationu (Fe^{3+}). Redoxný cyklus vzájomnej premeny kationov železa je chemickým základom jeho biologických funkcií. V živých organizmoch je reaktivita železa regulovaná väzbou na prostetické skupiny, napr. hém a FeS proteíny. V štruktúre proteínov môžu funkčné skupiny niektorých aminokyselín, ako napr. histidín, kyselina glutámová, kyselina asparágová a tyrozín viazať železo priamo, koordinačnou väzbou. Železo sa tak aktívne podieľa na mnohých fyziologických procesoch, ako je transport kyslíka v hemoglobíne a myoglobíne (hemoproteíny), zúčastňuje sa mitochondriového bunkového dýchania a produkcie energie v aktívnom centre cytochrómov (hemoproteíny) a nehémových enzýmov spolupracujúcich s FeS proteínmi, podieľa sa na bunkovom raste a diferenciácii, syntéze DNA ako súčasť katalytickej jednotky DNA polymeráz, helikáz, nukleáz, glykozyláz a demetyláz

a regulácie endokrinného systému (P u i g a kol., 2017). Toxicita železa sa taktiež odvíja od jeho redoxných vlastností, napríklad prostredníctvom Fentonovej reakcie dochádza k produkcii reaktívnych foriem kyslíka:



Železo, prostredníctvom svojho prooxidačného pôsobenia, spôsobuje oxidáciu lipoproteínov s nízkou hustotou a prispieva tak k rozvoju aterosklerózy (H a b i b a F i n n, 2014).

Narušenie fyziologických hladín železa výrazne ovplyvňuje funkčnosť buniek, tkanív a orgánov. Regulačné mechanizmy prísne kontrolujúce homeostázu železa riadia transláciu veľkého množstva génov (Tab. 1), čím koordinujú jeho príjem, vychytávanie, distribúciu, využitie, skladovanie ako aj vylučovanie. Mediátorové mRNA získané prepisom génov zapojených do homeostázy železa obsahujú takzvané „železo-responzívne elementy“ (IRE, iron response elements) na 5'- a/alebo 3'-koncoch neprekladanej oblasti (UTR, untranslated region), vytvárajúce vlásenkové štruktúry, schopné viazať proteíny regulujúce homeostázu železa (IRP, iron regulatory protein). Pri nízkej koncentracii železa sa väzbou IRP na IRE na 5'-koncoch UTR mRNA inhibuje translácia a väzbou IRP na IRE na 3'-koncoch UTR mRNA sa chránia transkripty pred atakmi *nukleáz* a následnou degradáciou. Pri vysokej koncentrácii železa nedochádza k naviazaniu IRP na IRE a tak 5'-konce UTR mRNA podliehajú translácii a nechránené 3'-konce UTR mRNA sú štiepené *nukleázami*. Regulácia génov môže prebiehať aj na úrovni transkripcie, faktorom indukovaným hypoxiou (HIF).

Železo v ľudskom organizme

Železo sa v ľudskom organizme nachádza v štyroch základných formách, vo forme hémového, funkčného, zásobného a transportného železa (O r n s t, 2021). 70 – 75 % z celkového obsahu železa tvorí hémové železo viazané v hemoglobíne, ktorého funkciou je transport kyslíka. Aj funkčné železo tvoria prevažne hemoproteíny. Približne 5 % funkčného železa je obsiahnutých v svalovom myoglobíne a asi 1 % je viazané v rôznych enzýmoch, napríklad *cytochróm P450*, *cytochróm c oxidáza*, *kataláza*, *peroxidáza*, alebo v hemoproteínoch dýchacieho reťazca, ako cytochrómy a, b, c. 15 – 20 % železa je viazaných v zásobných formách najmä v pečeni, kde sa nachádza vo forme ferritínu. Hlavnou zásobnou formou železa v mozgu je neuromelanín v dopaminergických neurónoch čiernej

hmoty. Železo sa v situáciách najmä po krvácaní môže ukladať v rôznych tkanivách vo forme hemosiderínu. Železo sa zo zásob uvoľňuje v prípade nedostatočného prísunu potravou, avšak dostupnosť železa z hemosiderínu oproti ferritínu je obťažnejšia. Transmembránovým proteínom transportujúcim železo von z buniek vo forme Fe^{2+} je ferroportín – člen rodiny transportérov rozpustných látok (Slc40a1, solute carrier, family 40, member 1). Na transporte železa sa podieľajú aj *ferroxidázy*, ktoré počas transportu endogénneho železa do plazmy (*ceruloplazmín*) a počas transportu exogénneho železa z enterocytov (*hefestín*) oxidujú železo z Fe^{2+} na Fe^{3+} umožňujúc tak jeho ďalší transport. V krvnej plazme je transportné železo viazané najmä na transferín (vo forme Fe^{3+}), ktorý ho prenáša do cieľových orgánov.

Metabolizmus železa

U ľudí je takmer 90 % potrieb železa pokrytých jeho recykláciou. Keďže najviac železa v organizme je obsiahnutého v hemoglobíne, základom jeho recyklácie je jeho spätné využitie zo zaniknutých červených krviniek (Obr. 1). Z makrofágov recyklujúcich erytrocyty sa železo pomocou ferroportínu a *ceruloplazmínu* dostáva do obehu, kde sa viaže na transferín. *Ceruloplazmín* sa zúčastňuje uvoľnenia železa do obehu aj z iných tkanivových zásob, najmä z pečenej buniek, v ktorých je nie len utilizácia, ale aj zásoba železa výrazná. Zvyšné železo pochádza zo stravy, pričom železo z enterocytov sa do obehu uvoľňuje účinkom ferroportínu s *hefestínom*. Biologická dostupnosť železa zo stravy je závislá od zdroja. Najlepšie sa vstrebáva hémové železo obsiahnuté v živočíšnom zdroji - mäse. Jeho biologická dostupnosť nie je významne závislá od veľkosti zásob železa v tele ani od potravín, ktoré sú konzumované spolu. Naopak, vstrebávanie nehémového železa obsiahnutého v rastlinnej potrave je závislé od pH, zásob železa v organizme a je ľahšie vstrebávané u ľudí s deficitom železa. Výrazne je ovplyvnené aj zložením konzumovaného pokrmu, preto potraviny rastlinného pôvodu napriek vysokému obsahu železa nemusia byť jeho najlepším zdrojom pre organizmus.

Cirkulujúce železo, viazané na transferín, je vychytávané transferínovým receptorom 1 a vzápätí endocytózou prepravené do bunky. V kyslom prostredí endozómu sa transferín aj jeho receptor oddisociujú a regenerujú. Železo sa z endozómu po redukcii na Fe^{2+} vychytáva pomocou transportéra dvojmocných kovov 1 (Dmt1, diva-

Tab. 1 Gény kontrolujúce homeostázu železa (Upravené podľa: VEDI A kol., 2022)

Príslušná metabolická dráha	Symbol génu	Plný názov génu v angličtine
dráha homeostázy železa	ACO1	aconitase 1
	FBXL5	F-box and leucine rich repeat protein 5
	IREB2	iron responsive element binding protein 2
	NCOA4	nuclear receptor coactivator 4
	PCBP1	poly(rC) binding protein 1
	PCBP2	poly(rC) binding protein 2
	PCBP3	poly(rC) binding protein 3
dráha biosyntézy cytosolického klastrového FeS proteínu	CIAO1	cytosolic iron-sulfur assembly component 1
	CIAO2A	cytosolic iron-sulfur assembly component 2A
	CIAO2B	cytosolic iron-sulfur assembly component 2B
	CIAO3	cytosolic iron-sulfur assembly component 3
	CIAPIN1	cytokine induced apoptosis inhibitor 1
	MMS19	MMS19 homolog, cytosolic iron-sulfur assembly component
	NDOR1	NADPH dependent diflavin oxidoreductase 1
	NUBP1	NUBP iron-sulfur cluster assembly factor 1, cytosolic
NUBP2	NUBP iron-sulfur cluster assembly factor 2, cytosolic	
dráha biosyntézy hému	ALAD	aminolevulinat dehydratase
	ALAS1	5'-aminolevulinat syntáza 1
	ALAS2	5'-aminolevulinat syntáza 2
	CPOX	coproporphyrinogen oxidáza
	FECH	ferrochelataza
	HMBS	hydroxymethylbilan syntáza
	PPOX	protoporphyrinogen oxidáza
	SLC25A38	solute carrier family 25 member 38
	TSPO	translocator protein
	UROD	uroporphyrinogen decarboxyláza
	UROS	uroporphyrinogen III syntáza
dráha vylučovania železa	CP	ceruloplasmin
	HAMP	hepcidin antimicrobial peptide
	HEPH	hephaestin
	SLC40A1	solute carrier family 40 member 1
dráha skladovania železa	FTH1	ferritin heavy chain 1
	FTL	ferritin light chain
	FTMT	ferritin mitochondrial
	PCBP1	poly(rC) binding protein 1
	PCBP2	poly(rC) binding protein 2
dráha príjmu železa	CYBRD1	cytochrome b reductase 1
	PRNP	prion protein
	SLC11A2	solute carrier family 11 member 2
	SLC25A28	solute carrier family 25 member 28
	SLC25A37	solute carrier family 25 member 37
	SLC39A14	solute carrier family 39 member 14
	SLC39A8	solute carrier family 39 member 8
	STEAP3	STEAP3 metalloreduktáza
	TF	transferrin
	TFRC	transferrin receptor
mitochondriová dráha exportu FeS proteínov	ABC7	ATP binding cassette subfamily B member 7
	GFER	growth factor, augementer of liver regeneration
mitochondriová dráha biogenézy FeS proteínov	BOLA3	bolA family member 3
	FDX1	ferredoxin 1
	FDX2	ferredoxin 2
	FDXR	ferredoxin reductase
	GLRX5	glutaredoxin 5
	HSCB	HscB mitochondrial iron-sulfur cluster cochaperone
	HSPA9	heat shock protein family A (Hsp70) member 9
	IBA57	iron-sulfur cluster assembly factor IBA57
	ISCA1	iron-sulfur cluster assembly 1
	ISCA2	iron-sulfur cluster assembly 2
	ISCU	iron-sulfur cluster assembly enzyme
	LYRM4	LYR motif containing 4
	NFS1	NFS1 cysteine desulfurase
	NFU1	NFU1 iron-sulfur cluster scaffold
	NUBPL	NUBP iron-sulfur cluster assembly factor, mitochondrial

lent metal transporter 1) známeho aj ako Slc11a2. V prípade saturácie transferínu sa železo, ktoré naň nemohlo byť naviazané (NTBI, non transferin bounded iron), najprv redukuje na rozpustnú formu Fe^{2+} a do bunky sa prenáša tým istým transportérom dvojocenných kovov. Slc11a2 vycytáva železo – opäť vo forme Fe^{2+} – aj v enterocytoch. Exogénne nehémové železo zo stravy najmä rastlinného pôvodu využíva ďalšie prenášače dvojocenných kovov tejto rodiny, Slc39a14 a Slc39a8, ktoré sú známe vďaka transportu zinku aj ako Zip14 a Zip8 (Zip, zinc importing protein). Pre bunku je železo nevyhnutné pre procesy odohrávajúce sa v mitochondriách, či už pre tvorbu ATP alebo pre syntézu hému. Transportu železa do mitochondrií sa zúčastňujú transportéry mitoferrin 1 (Slc25a37) a mitoferrin 2 (Slc25a28). V cytosole zostávajúce železo vytvára takzvanú labilnú zásobu železa (LIP, labile iron pool), čakajúcu na ďalšie spracovanie, skladovanie a export.

Bez ohľadu na typ buniek sa vylučovanie železa určeného na uvoľnenie do obehu alebo elimináciu z organizmu uskutočňuje jediným známym systémom, a to prostredníctvom transmembránového proteínu, ferroportínu. S ferroportínom spolupracujú enzýmy oxidujúce železo (*ceruloplazmín*, *hefestín*) umožňujú jeho následný transport transferínom vo forme Fe^{3+} . Okrem funkcie celulórného exportéra železa je ferroportín aj bunkovým receptorom hormónu hepcidín, ktorý je kľúčovým regulátorom plazmatických hladín železa, ale objavený bol až v roku 2000. Spoločne sa podieľajú na regulácii absorpcie železa z čriev a uvoľňovaní železa z tkanivových zásob, keďže hepcidín je spätne regulovaný tak plazmatickou hladinou železa a jeho zásobami, ako aj mierou erythropoézy. Dôležitú úlohu zohrávajú aj pri obrane hostiteľa a zápale. Syntéza hepcidínu je indukovaná zápalovými cytokínmi, vrátane interleukínu-6 a aktivínu B (N e m e t h a G a n z, 2009; N e m e t h a G a n z, 2021; G a n z, 2013).

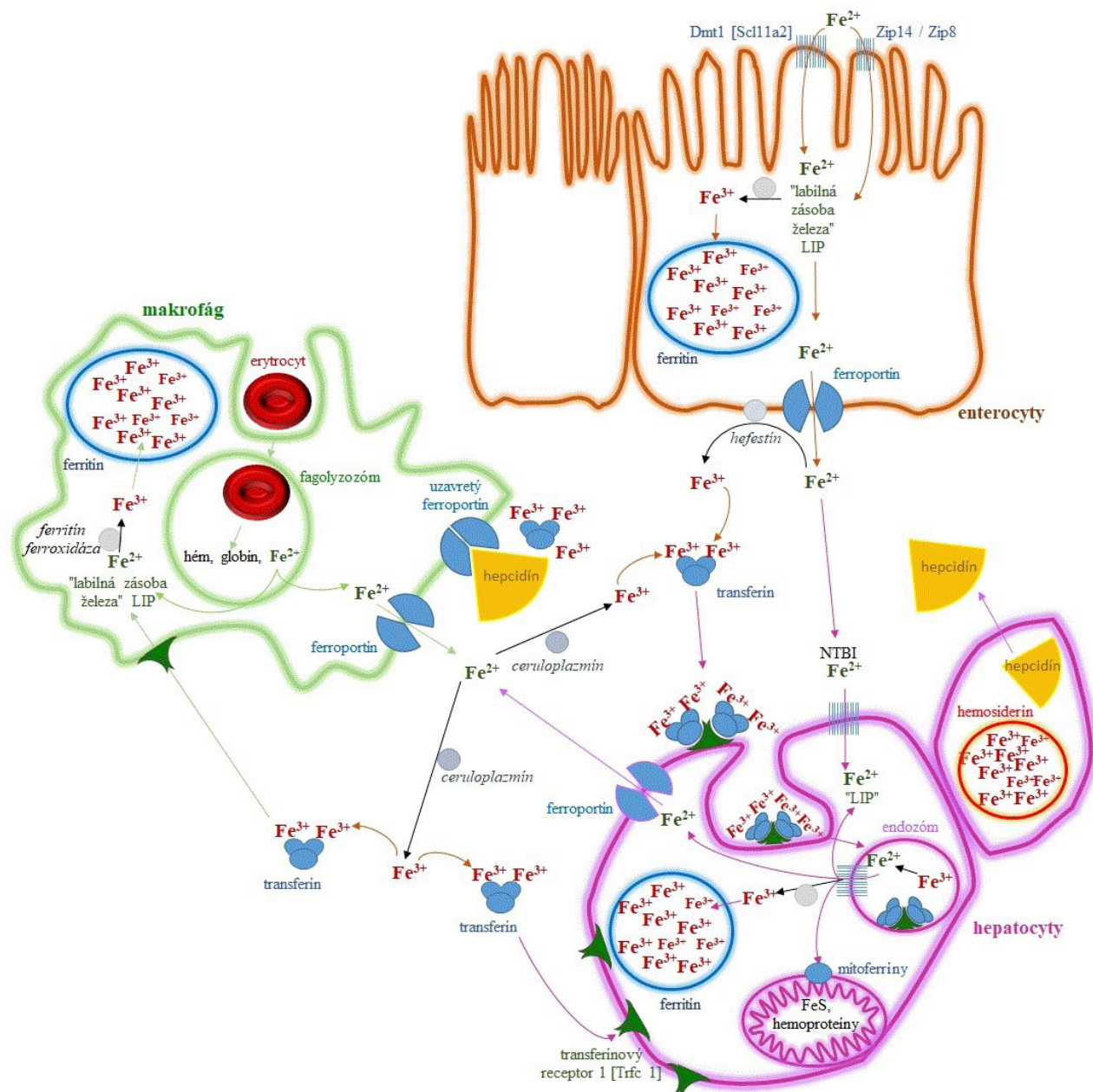
Patologické stavy spojené s narušenou homeostázou železa

Nedostatok, ako aj nadbytočné hromadenie železa prispievajú k rozvoju mnohých patologických stavov, od anémie po ochorenia - neurodegeneratívne, infekčné, kardiovaskulárne, zápaly, diabetes mellitus a rakovinu.

Nedostatok železa predstavuje celosvetovo najčastejší nutričný deficit a najčastejšiu formu deficiencie mikroživín. Keďže železo je nevyhnutné pre syntézu hemoglobínu, vyčerpanie jeho zásob vedie k mikrocytovej hypochrómnej

anémii (stredný objem erytrocytov < 80 fL, stredná koncentrácia hemoglobínu v erythrocyte < 32 g·dL⁻¹), charakterizovanej menšími červenými krvinkami obsahujúcimi znížené množstvo hemoglobínu. Medzi príznaky anémie patrí únava, apatia, bledosť, slabosť, ťažkosti s dýchaním pri námahe a znížená odolnosť voči nízkym teplotám. Nedostatok železa môže v detstve ovplyvniť vývoj, správanie, schopnosti učenia a rast. Závažná anémia spôsobená nedostatkom železa môže tiež zvýšiť riziko komplikácií počas tehotenstva a viesť až k smrti matky. Nedostatok železa je väčšinou spôsobený nedostatočným príjmom železa v potrave, stratou krvi počas menštruácie, stratou krvi v črevách alebo stratou krvi v dôsledku ankylostomózy, nádormi, hemoroidmi a pravidelným užívaním niektorých liekov. Anémia z nedostatku železa v dojčenskom veku môže viesť k oneskorenému psychomotorickému vývoju a nezvratnému poškodeniu neurokognitívnych schopností, ako je pamäť, pozornosť, myslenie, predstavivosť či priestorová orientácia. Dojčené deti majú zvyčajne do veku 4 mesiacov dostatočný prísun železa z materského mlieka, od tohto veku je vhodné jeho dopĺňanie, až kým nebudú jesť dostatok doplnkových potravín bohatých na železo. V opačnom prípade je dokonca aj u donosených detí vo veku 6 až 9 mesiacov častý nedostatok železa a následná anémia (F e r r e i r a a kol., 2019; K i a n i a kol., 2022). Železo je potrebné aj pre patogény napádajúce hostujúci organizmus. Ich virulencia priamo súvisí nie len s ich schopnosťou prispôbiť sa prostrediu a uniknúť imunitnej odpovedi hostiteľa, ale jedným z hlavných determinantov ich prežitia a množenia v hostiteľovi je schopnosť získavania železa. Z tohto dôvodu dokážu patogény rozvrátiť homeostázu železa hostiteľa, čo vedie často k anémii. Samotná hladina železa u hostiteľa je determinujúcim faktorom infekcie, napríklad v prípade infekcie HIV moduluje riziko následného rozvoja tuberkulózy (M c D e r m i d a kol., 2013). Bolo preukázané, že cieleňá suplementácia železa zvyšuje riziko malárie, hnačiek a respiračných infekcií v endemických oblastiach (E s a n a kol., 2013; S o f i a kol., 2013).

Hypotézu existencie prepojenia medzi zvýšenou hladinou železa a koronárnou chorobou srdca prvýkrát navrhol Sullivan v 80. rokoch 20. storočia. Predpokladal, že vyšší výskyt ischemickej choroby srdca u mužov a žien po menopauze v porovnaní s premenopauzálnymi ženami je spôsobený ich vyššími zásobami železa v porovnaní s menštruujúcimi ženami (S u l l i v a n, 1989; S u l l i v a n,



Obr. 1 Metabolizmus železa (upravené podľa Vedi a kol., 2022)

1981; Basuli a kol., 2014). Následné štúdie potvrdili prepojenie medzi zvýšenou koncentráciou ferritínu resp. pomerom medzi transferínovým receptorom a ferritínom a rizikom akútneho infarktu myokardu, rizikom ischemickým cievnych mozgových príhod a všeobecne s ochoreniami ciev, s výraznejšou koreláciou u jedincov s vyššími hladinami lipoproteínov s nízkou hustotou (Salonen a kol., 1992; Tuomainen a kol., 1998; Van Der Aa kol. 2005; Basuli a kol., 2014). Neliečebná hemochromatóza, či už primárna, alebo sekundárna, pri ktorej sa zvýšené množstvo vstrebaného železa z potravy ukladá do rôznych tkanív, vedie k ich toxickému po-

škodeniu. Najčastejšie postihuje pečeň, srdce, pankreas, endokrinné žľazy alebo synoviálny kĺb, spôsobuje zápal až nekrózu a zvyšuje riziko rozvoja diabetes mellitus, metabolického syndrómu alebo karcinómu. Pravdepodobným biologickým mechanizmom poškodenia orgánov a tkanív vysokými koncentraciami železa je už spomenutá tvorba reaktívnych foriem kyslíka, zvýšené riziko aterosklerózy a podpora peroxidácie lipídov (Basuli a kol., 2014).

Markery hladín železa

Stav hladín železa v organizme nie je možné hodnotiť pomocou jediného biomarkera – koncentráciou sérovej

hladiny železa, keďže v dôsledku homeostatickej regulácie obehové hladiny živín nie sú dobrými indikátormi ich reálneho stavu. Okrem sérových hladín železa sa v biochemickom laboratóriu stanovujú aj hladiny ferritínu, transferínu v sére, celková a voľná väzbová kapacita železa, solubilný transferínový receptor a hladina saturácie transferínu. Medzi markery posúdenia anémie patria aj erythropoetín, haptoglobín, holotranskobalamín, kyselina listová, metylmalónová kyselina a vitamín B12 (Medirex, n.d.).

Už v 70-tych rokoch minulého storočia sa preukázalo, že sérový ferritín koreluje s hladinami železa v tele, a preto sa meranie sérových hladín ferritínu na tento účel dodnes používa. V určitých patologických podmienkach, ako napríklad pri akútnom alebo chronickom zápale sa však jeho hladiny nezávisle od koncentrácie železa zvyšujú. Za presnejší ukazovateľ aktuálnych hladín zásob železa sa považuje pomer solubilného transferínového receptora a ferritínu. Stanovenie hladín katalyticky dostupného železa má za cieľ stanoviť reaktívnu formu železa a nie jeho celkovú koncentráciu. Tento prístup vychádza z úvahy, že prevažná časť železa v tele je viazaná na proteíny a nezúčastňuje sa potenciálne škodlivých reakcií, o ktorých sa predpokladá, že sú základom veľkej časti toxicity železa, a sú prekursorom reaktívnych foriem kyslíka. Keďže katalyticky dostupné železo predstavuje relatívne malý podiel celkového železa, jeho meranie je technicky náročné (B a s u l i a kol., 2014).

Sociálne determinanty s možným vplyvom na homeostázu železa

V priemyselných a rozvojových krajinách postihuje nedostatok mikroživín viac ako 2 miliardy ľudí všetkých vekových kategórií, predovšetkým tehotné ženy a deti predškolského veku. Takmer 10 % úmrtí detí je spojené s nedostatkom mikroživín. Podľa odhadov Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO, World Health Organisation) trpí anémiou 25% populácie sveta (takmer 2 miliardy jedincov) a dôvodom polovice prípadov je anémia z nedostatku železa. Ďalšia časť populácie (približne 1 miliarda ľudí) trpí nedostatkom železa v skorých štádiách, bez prejavov anémie (M a n t a d a k i s a kol., 2020). Okrem železa sú častými deficientnými mikroživinami aj kyselina listová, zinok, jód a vitamín A, všetky z nich prispievajú k poruchám intelektu, slabému rastu, perinatálnym komplikáciám a vyššej chorobnosti a úmrtnosti. Ich deficit navyše urýchľuje mitochondriový rozpad a degeneratívne ochorenia spojené so starnutím (K i a n i a kol., 2022). Len malé množstvo

detí v predškolskom veku sa stravuje zdravo z hľadiska dostatočného príjmu živín, konkrétne množstva železa, zinku, vitamínov A a C a energie z nemliečnych sacharidov. Primeranosť stravy vzhľadom na týchto päť parametrov súvisí so sociálno-ekonomickými faktormi. Zistenia zdôrazňujú potrebu celého radu odporúčaní, ktoré sa zameriavajú na sociálne a ekonomické determinanty výberu potravín v rodinách (W a t t a kol., 2001). Najvyššiemu riziku nedostatku železa sú vystavené okrem detí predškolského veku aj ženy pred menopauzou, ale k rizikovým faktorom anémie patria taktiež život v chudobe alebo prisťahovalectvo z rozvojových krajín (M a n t a d a k i s a kol., 2020).

V Európe a na Slovensku patria medzi skupiny najviac ohrozené chudobou a sociálnym vylúčením Rómovia. Ich počet vo svete sa odhaduje na 20-60 miliónov, pričom v Európskej únii tvoria najpočetnejšiu etnickú skupinu s približným počtom 10-12 miliónov príslušníkov. Na Slovensku žije približne 440 tisíc Rómov, pričom približne polovica z nich žije vo viac či menej vylúčených komunitách (Atlas rómskych komunít, 2019). Rómovia čelia diskriminácii a predsudkom, majú sťažený prístup na trh práce, ku vzdelaniu, zdravotnej starostlivosti a k službám, ocitajú sa teda medzi najnižšou sociálnou vrstvou. Marginalizované rómske komunity sú charakteristické generačnou chudobou, nízkym životným a hygienickým štandardom, často s obmedzeným prístupom k pitnej vode alebo kanalizácii. Toto všetko, spoločne s nízkou úrovňou zdravotnej gramotnosti a sociálneho kapitálu, spôsobuje početné zdravotné riziká. Zlá životospráva a výživa sú príčinou väčšiny známych chorôb, najmä v dôsledku dlhodobej expozície nesprávnym návykom. Štatisticky významné rozdiely medzi Rómami z marginalizovaných komunít a majoritu boli preukázané na jednej strane v konzumácii tučných jedál a sladených nápojov, ktoré najmä u Rómov prevládajú a na druhej strane v konzumácii mlieka, mliečnych výrobkov, ovocia a zeleniny, ktoré vo svojom jedálničku Rómovia neuprednostňujú, čo je spôsobené jednak rómskymi zvyklosťami ale aj zlou finančnou situáciou Rómov (Hubková a kol., 2014). Štúdia HepaMeta mapujúca rizikové faktory vírusovej hepatitídy B/C a metabolického syndrómu v skupine obyvateľstva žijúceho v rómskych osadách na Slovensku poukázala na to, že rómske ženy aj muži mali výrazne nižšie hladiny sérového železa v porovnaní s ich nerómskymi náprotivkami (P e t r i k o v a a kol., 2018; P a l l a y o v a a kol., 2020). Štúdia uskutočnená na rómskej populácii žijúcej v Maďarsku nepreukázala výraz-

né rozdiely v hladinách železa medzi minoritnou a majoritnou populáciou (Llanaj a kol., 2020; Llanaj a kol., 2021).

Nedostatočnosť ktorejkoľvek zložky metabolického systému priamo ovplyvňuje nie len jednotlivcov, ale aj spoločnosť tým, že spôsobuje horší zdravotný stav, zníženú pracovnú kapacitu, nižšie dosiahnuté vzdelanie a nižší potenciál zárobku populácie. Štatistické údaje dokumentujúce dĺžku hospitalizácie poukazujú aj na iné ekonomické hľadisko, podľa ktorého je na liečbu rovnakého ochorenia u ľudí pochádzajúcich zo zlých sociálno-ekonomických pomerov potrebný dlhší čas, než u ľudí majoritnej populácie.

ZÁVER

Patologické dôsledky nedostatočného príjmu železa sú známe, avšak neexistujú relevantné štúdie potvrdzujúce zníženie hladiny železa u rómskych detí oproti deťom majoritnej populácie. Na zabezpečenie intervencií je v prvom rade potrebné poznať súčasný stav hladín mikroživín. Projekt výskumu raného detstva v marginalizovaných rómskych komunitách má za cieľ zmapovať nutričný stav a umožniť cieleňú politiku verejného zdravia so zameraním na minoritné marginalizované populácie.

PodĎakovanie

Práca vznikla v rámci riešenia projektu APVV-19-0493 Výskum raného detstva v marginalizovaných rómskych komunitách: kontextuálne faktory psychomotorického vývinu detí počas prvých 1000 dní a VEGA, reg. č. 1/0593/21 Raný vývin detí v kontexte marginalizovaných rómskych komunit: faktory ohrozujúce zdravie a zdravý vývin.

LITERATÚRA

1. Basuli, D. et al. (2014) 'Epidemiological associations between iron and cardiovascular disease and diabetes', *Frontiers in Pharmacology*. doi: 10.3389/fphar.2014.00117.
2. Esan, M. O. et al. (2013) 'Iron supplementation in HIV-infected malawian children with anemia: A double-blind, randomized, controlled trial', *Clinical Infectious Diseases*. doi: 10.1093/cid/cit528.
3. Ferreira, A., Neves, P. and Gozzelino, R. (2019) 'Multilevel impacts of iron in the brain: The cross talk between neurophysiological mechanisms, cognition, and social behavior', *Pharmaceuticals*. doi: 10.3390/ph12030126.
4. Ganz, T. (2013) 'Systemic iron homeostasis', *Physiological Reviews*. doi: 10.1152/physrev.00008.2013.
5. Habib, A. and Finn, A. V. (2014) 'The role of iron metabolism as a mediator of macrophage inflammation and lipid handling in atherosclerosis', *Frontiers in Pharmacology*. doi: 10.3389/fphar.2014.00195.
6. Hubková a kol. (2014) 'Zdravie Rómov na východnom Slovensku' Človek a spoločnosť : internetový časopis pre pôvodné teoretické a výskumné štúdie z oblasti spoločenských vied ISSN 1335-3608. - Roč. 17, č. 1 (2014), s. 112-116.
7. Kiani, A. K. et al. (2022) 'Main nutritional deficiencies', *Journal of preventive medicine and hygiene*. doi: 10.15167/2421-4248/jpmh2022.63.2S3.2752.
8. Llanaj, E. et al. (2020) 'Dietary profile and nutritional status of the roma population living in segregated colonies in Northeast Hungary', *Nutrients*. doi: 10.3390/nu12092836.
9. Llanaj, E. et al. (2021) 'Deteriorated dietary patterns with regards to health and environmental sustainability among hungarian roma are not differentiated from those of the general population', *Nutrients*. doi: 10.3390/nu13030721.
10. Mantadakis, E., Chatzimichael, E. and Zikidou, P. (2020) 'Iron deficiency anemia in children residing in high and low-income countries: Risk factors, prevention, diagnosis and therapy', *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. doi: 10.4084/MJHID.2020.041.
11. McDermid, J. M. et al. (2013) 'Host iron redistribution as a risk factor for incident tuberculosis in HIV infection: An 11-year retrospective cohort study', *BMC Infectious Diseases*. doi: 10.1186/1471-2334-13-48.
12. Medirex. (n.d.) 'Zoznam parametrov'. Dostupné na: <https://www.medirex.sk/lekar/zoznam-parametrov.n.d>.
13. Nemeth, E. and Ganz, T. (2009) 'The role of hepcidin in iron metabolism', *Acta Haematologica*. doi: 10.1159/000243791.
14. Nemeth, E. and Ganz, T. (2021) 'Hepcidin-ferroportin interaction controls systemic iron homeostasis', *International Journal of Molecular Sciences*. doi: 10.3390/ijms22126493.
15. Ornst, P. (2021) 'Anémia z nedostatku železa'. Národný portál zdravia. Národné centrum zdravotníckych informácií. Dostupné na: https://www.npz.sk/sites/npz/Stranky/NpzArticles/2013_06/Anemia_z_nedostatku_zeleza.aspx?did=4&s-did=31&tuid=0&page=full&.
16. Pallayova, M. et al. (2020) 'Roma Ethnicity and Sex-Specific Associations of Serum Uric Acid with Cardiometabolic and Hepatorenal Health Factors in Eastern Slovakian Population: The HepaMeta Study'. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. doi: org/10.3390/ijerph17207673
17. Petrikova, J. et al. (2018) 'Serum Uric Acid in Roma and Non-Roma-Its Correlation with Metabolic Syndrome and Oth-

- er Variables'. *Int J Environ Res Public Health*. doi: 10.3390/ijerph15071412. PMID: 29973567; PMCID: PMC6069053.
18. Puig, S. *et al.* (2017) 'The elemental role of iron in DNA synthesis and repair', *Metallomics*. doi: 10.1039/c7mt00116a.
19. Salonen, J.T. *et al.* (1992) 'High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men'. *Circulation*. doi: 10.1161/01.cir.86.3.803.
20. Soofi, S. *et al.* (2013) 'Effect of provision of daily zinc and iron with several micronutrients on growth and morbidity among young children in Pakistan: A cluster-randomised trial', *The Lancet*. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60437-7.
21. Sullivan, J. L. (1981) 'Iron and the sex difference in heart disease risk', *The Lancet*. doi: 10.1016/S0140-6736(81)92463-6.
22. Sullivan, J. L. (1989) 'The iron paradigm of ischemic heart disease', *American Heart Journal*. doi: 10.1016/0002-8703(89)90887-9.
23. Tuomainen, T. P. *et al.* (1998) 'Association between body iron stores and the risk of acute myocardial infarction in men', *Circulation*. doi: 10.1161/01.CIR.97.15.1461.
24. Van Der A, D. L. *et al.* (2005) 'Serum ferritin is a risk factor for stroke in postmenopausal women', *Stroke*. doi: 10.1161/01.STR.0000173172.82880.72.
25. Vedi, M. *et al.* (2022) '2022 updates to the Rat Genome Database: a Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable (FAIR) resource' *Genetics*. doi: 10.1093/genetics/iyad042.
26. Watt, R. G., Dykes, J. and Sheiham, A. (2001) 'Socio-economic determinants of selected dietary indicators in British pre-school children', *Public Health Nutrition*. doi: 10.1079/phn2001202.



**Váš partner v oblasti medicíny,
vedy a výskumu**



SARSTEDT

www.sarstedt.com

info.sk@sarstedt.com

Tel: 02/321 84 930

Spoločnosť SARSTEDT desaťročia vykonáva výskum a vývoj produktov, ktorý je zameraný na praktické použitie a realizuje sa pomocou inovatívnych technológií a neustálej komunikácie s používateľmi. Vďaka tomu sme dnes vedúcim poskytovateľom v oblasti zdravotníckych a laboratórnych produktov.

Ponúkame riešenia šité na mieru pre najrozmanitejšie oblasti použitia od odberových systémov na vzorky krvi, moču a stolice, cez molekulárnu biológiu, biochémiu a bunkovú biológiu až po laboratórnu automatizáciu. Vyvíjame riešenia s ohľadom na jednoduchosť použitia, bezpečnosť a najnovšie technológie.

Odberové systémy



- Odberové systémy na venóznú a kapilárnu krv
- Odberové systémy na diagnostiku krvných plynov
- Odberové systémy na sliny, moč a stolicu
- Produkty na transport vzoriek
- Nádoby na likvidáciu nebezpečného odpadu
- Stojany na sedimentáciu

Laboratórne produkty



- Reagenčné a centrifugačné skúmavky a mikroskúmavky
- PCR a molekulárna biológia, pipety a pipetové špičky
- Mikrobiológia
- Kultivácia buniek a tkanív
- Systémy pre forenznú medicínu
- Stojany a uskladňovacie boxy
- Centrifúgy a miešacie systémy

Produkty do nemocníc a na transfúziu



- Močové a drenážne systémy a vaky
- Infúzne a transfúzne systémy
- Systémy na anestéziu
- Ohrev produktov
- Etiketovacie systémy
- Prístroje na váženie a miešanie pre mobilný alebo stacionárny odber krvi
- Systémy na transport a skladovanie vzoriek
- Inkubátory a agitátory
- Stoly a ležadlá pre mobilný odber krvi

Laboratórna automatizácia



- Tempus600 - jednodotkový transportný systém
- Etiketovače skúmaviek
- Automatické laboratórne systémy
- Automatické mikrobiologické systémy



UCELENÉ ŘEŠENÍ PRO LABORATORNÍ KOMPLEMENT

- ▶ Zvýšení efektivity laboratorního provozu
- ▶ Integrace všech laboratorních odborností v jednom systému
- ▶ Kompletní podpora všech laboratorních procesů
- ▶ Splnění požadavků SUKL a ISO 15189
- ▶ Propojení s nejmodernějšími laboratorními technologiemi
- ▶ Řešení pro řetězce laboratoří a detašovaná pracoviště
- ▶ Dokonalé sledování nákladů a nadstandardní statistiky
- ▶ Flexibilní přizpůsobení provozním zvyklostem
- ▶ Automatizace centrálního příjmu včetně skladu žádanek
- ▶ Zajištění požadované dostupnosti systému a snadná správa IS

STAPRO s. r. o. | Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice | tel.: +420 467 003 111
fax: +420 467 003 119 | e-mail: stapro@stapro.cz | www.stapro.cz



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 107–112

SOCIOEKONOMICKÉ ZNEVÝHODNENIE A STRES: HLADINY KORTIZOLU MERANÉ VO VLASOCH MATIEK Z MARGINALIZOVANÝCH RÓMSKYCH KOMUNÍT A Z MAJORITNEJ POPULÁCIE

SOCIOECONOMIC DISADVANTAGE AND STRESS: HAIR CORTISOL CONCENTRATIONS OF MOTHERS FROM MARGINALIZED ROMA COMMUNITIES AND FROM MAJORITY POPULATION

Chovan Shoshana¹, Hubková Beáta², Füzér Ján³, Kollár Peter³, Čižmárová Beáta²,
Fiľakovská Bobáková Daniela¹

¹Ústav psychológie zdravia a metodológie výskumu, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice

²Ústav lekárskej a klinickej biochémie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice

³Ústav fyzikálnych vied, Prírodovedecká fakulta UPJŠ, Košice

shoshana.chovan@student.upjs.sk

SÚHRN

Ludia žijúci v marginalizovaných rómskych komunitách (MRK) sú vystavovaní viacerým zdrojom stresu, ktorý možno vzhľadom na množstvo faktorov podieľajúcich sa na úrovni zažívaného stresu v tomto prostredí považovať za chronický. Špecifické postavenie v rámci MRK majú ženy, na ktorých pleciach spočíva starostlivosť o deti v často mnohopočetných rodinách. Cieľom našej štúdie je porovnať úroveň stresu medzi matkami malých detí z MRK a matkami z majoritnej populácie a preskúmať, ktoré indikátory socioekonomického znevýhodnenia vplyvajú na zvýšené hladiny vlasového kortizolu. Výskumnú vzorku tvorilo 61 matiek detí vo veku 15 – 18 mesiacov z marginalizovaných rómskych komunít a 90 matiek rovnako starých detí z majoritnej populácie. Na analýzy boli použité dáta o hladinách kortizolu získaných zo vzoriek vlasov matiek a dáta z dotazníkov. Matky z MRK mali dvojnásobne vyššie priemerné hodnoty hladín vlasového kortizolu v porovnaní s matkami z majoritnej populácie. Okrem toho sme zistili významné súvislosti medzi socioekonomickým znevýhodnením a hladinami vlasového kortizolu týchto matiek, pokiaľ ide o vzdelanie, vybavenosť a preľudnenosť domácností.

Kľúčové slová: socioekonomické znevýhodnenie; marginalizované rómske komunity; stres; matky; vlasový kortizol

ABSTRACT

People living in marginalized Roma communities are exposed to multiple sources of stress, which can be considered chronic stress given the number of factors involved in the level of stress experienced in this environment. Women from marginalized Roma communities, on whose shoulders rests the care of children in often large families, have a specific position. Our study aims to compare the level of stress between mothers of young children from marginalized Roma communities (MRC) and mothers from the majority population and to investigate which indicators of socioeconomic disadvantage affect elevated hair cortisol levels. The research sample consisted of 61 mothers of children aged 15-18 months from marginalized Roma communities and 90 mothers of children of the same age from the majority population. Data on cortisol levels obtained from the hair samples of mothers and data from questionnaires were used for the analyses. Mothers from MRCs had twice higher average

values of hair cortisol levels compared to mothers from the majority population. In addition, we found significant associations between socioeconomic disadvantage and hair cortisol levels of these mothers in terms of education, household equipment, and household overcrowding.

Key words: socioeconomic disadvantage; marginalized Roma communities; stress; mothers; hair cortisol

ÚVOD

O dlhodobej, silnej alebo častej aktivácii telesných systémov reagujúcich na stres hovoríme aj ako o toxickom strese. Fyziologická stresová reakcia zahŕňa uvoľňovanie stresových hormónov ako sú hormón uvoľňujúci kortikotropín, adrenokortikotropný hormón, kortizol, noradrenalin a adrenalin (Shonkoff a kol., 2012). Keď je človek vystavený stresu, amygdala vysiela signál do hypotalamu, ktorý spúšťa endokrinnú reakciu cez hypotalamo-hypofýzo-adrenokortikálnu os a produkuje zvýšené hladiny cirkulujúceho kortizolu. Koncentrácie vlasového kortizolu (HCC, *hair cortisol concentration*) sa čoraz častejšie používajú ako marker chronického stresu na základe jeho jedinečnej možnosti spätne hodnotiť dlhodobé systematické hladiny kortizolu (Russell a kol., 2012; Staufenbiel a kol., 2013).

Za normálnych okolností majú stresové hormóny v pokojovom stave rozsah, ktorý je citlivý na stimuláciu a umožňuje v odpovedi na akútny stres flexibilnú reguláciu oboma smermi. Pri chronickom dlhodobom strese sa systémy odpovede na stres adaptujú a nastavujú úroveň stresových hormónov v pokojovom stave na relatívne vysoké hodnoty, ktoré nie sú flexibilne regulovateľné. V takom prípade hovoríme o vysokej allostatickej záťaži na stresové systémy (Blair a kol., 2011), ktorá môže narúšať kardiovaskulárny, metabolický ako aj imunitný systém (Semana a kol., 2010). Ľudia zo socioekonomicky znevýhodneného prostredia majú trvalo vyššie riziko zdravotných problémov vo všetkých týchto biologických systémoch (Semana a kol., 2010).

Faktory prispievajúce k allostatickej záťaži možno nájsť na všetkých úrovniach Bronfenbrennerovho ekologického modelu (Bronfenbrenner, 1997). Na makrosystémovej úrovni ide o socioekonomické ukazovatele ako sú vzdelanie, príjem, zamestnanosť, prechod na nižšiu socioekonomickú úroveň a príslušnosť k etnickej menši-

ne). Faktory v exosystéme, ktoré sa podieľajú na allostatickej záťaži, sú charakteristiky okolia a bezprostredného prostredia, v ktorom človek žije (preľudnenosť, hluk, neistota bývania, dostupnosť služieb a vybavenosti) ale aj sociálne vzťahy a interakcie. V mikrosystéme ide o bezprostredné vplyvy na úrovni rodiny (citová väzba, násilie a konflikty, osamelé rodičovstvo, separácia, narušená starostlivosť a rodičovstvo), práce (nestálosť zamestnania, nároky zamestnania, nerovnováha medzi úsilím a odmenou) a rovesníckych skupín. Na individuálnej úrovni sú to genetické a osobnostné vplyvy (Juster et al., 2010). Na všetkých menovaných úrovniach ekologického modelu čelia rodiny žijúce v chudobe viacerým formám znevýhodnenia a sú neúmerne vystavované psychosociálnym stresorom (Bowers a kol., 2018).

V rámci Slovenska patria ľudia žijúci v marginalizovaných rómskych komunitách (MRK) k najviac znevýhodneným skupinám, ktoré čelia viacerým zdrojom znevýhodnenia súčasne. Ohrozujú ich bariéry v prístupe k vzdelaniu, zdravotnej starostlivosti, pracovným príležitostiam, základným službám a adekvátnemu príjmu čo spôsobuje materiálny a finančný nedostatok a vedie k nízkej kvalite života (Rochová Rsnáková, 2018). Špecifické postavenie v rámci MRK majú ženy, na ktorých pleciach spočíva starostlivosť o deti v často mnohopočetných rodinách. Úroveň stresu a koncentrácie kortizolu vo vlasoch u dospelých žien sú ovplyvnené sociálno-ekonomickým znevýhodnením, meraným ako príjem (Serwinská a kol., 2016) či úroveň vzdelania (Costa Martins a kol., 2023). Ursache a kol. (2017) opisujú túto asociáciu ako nelineárnu, pričom je najsilnejšia pre tých, ktorí sú najviac znevýhodnení.

Cieľom našej štúdie je porovnať úroveň stresu medzi matkami malých detí z marginalizovaných rómskych komunít a matkami z majoritnej populácie a preskúmať, ktoré indikátory socioekonomického znevýhodnenia vplyvajú na zvýšené hladiny vlasového kortizolu.

MATERIÁL A METODIKA

Tento výskum je súčasťou rozsiahlejšej štúdie RomaREACH (Výskum raného detstva v marginalizovaných rómskych komunitách), ktorá sa zameriava na faktory ovplyvňujúce raný vývin detí v MRK na Slovensku. Dáta použité na analýzy boli získané počas prvej vlny zberu dát v štúdiu RomaREACH, ktorá prebiehala od decembra 2021 do decembra 2022 v Košickom a Prešovskom kraji na Slovensku,

dvoch krajoch s najvyšším podielom rómskej populácie (Atlas Rómskych komunít, 2019).

Táto štúdia bola schválená Etickou komisiou Lekárskej fakulty Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach (č. 16N/2021) a Etickou komisiou Košického samosprávneho kraja a Prešovského samosprávneho kraja (pod značkou „RomaREACH“ a č. 03682 /2022/OZ-20).

Respondenti štúdie

Matky detí vo veku 15 – 18 mesiacov boli oslované počas povinných preventívnych prehliadok u všeobecných lekárov pre deti a dorast, Prostredníctvom asistentov podpory zdravia z p.o. Zdravé regióny, v komunitných centrách v Košickom a Prešovskom kraji na Slovensku a šírením pozvánky online prostredníctvom rodičovských skupín na sociálnych sieťach. Do analýz boli zaradené matky z MRK (N=61) aj matky z majoritnej slovenskej populácie (N=90).

Postupy a merania

Na analýzy boli použité dáta o hladinách kortizolu získaných zo vzoriek vlasov matiek a dáta z dotazníkov. Po poskytnutí úplných informácií o štúdiu boli respondentky požiadané o účasť a podpísali informovaný súhlas.

Pre analýzy koncentrácie vlasového kortizolu boli matkám odstrihnuté 3 cm vlasov najbližšie k pokožke hlavy z pozície zadného vertexu. Vzorky vlasov premytých v izopropylalkohole sa potom rozdrvili pomocou vibračného guľového mlyna (Fritsch PULVERISETTE 0, s mažiari s guľou s tvrdenej ocele s dobou mletia od 10 min do 17 min.) na prášok, ktorý bol následne pridaný do čistého metanolu v pomere 50mg na 2ml. Nádobky sa pomaly otáčali počas 24 hodín na extrakciu steroidov. Vzorky boli následne odstredené v centrifúge (Z 326 K, Hermle) pri 10 000 otáčkach za minútu počas 2 minút a 1 ml číreho supernatantu bolo prenesené do novej 2 ml kryoskúmavky. Metanol sa následne odparoval pri 40 °C pod konštantným prúdom dusíka počas 30 minút alebo do úplného vysušenia vzoriek. Suché zvyšky sa resuspendovali v 0.4 ml destilovanej vody a skúmavky boli vortexované 15 s, kým sa úplne nerozpustili. Koncentrácia vlasového kortizolu bola hodnotená metódou ELISA (EIAHCOR – Cortisol Competitive Human ELISA kit, Invitrogen) a meraná v pikogramoch na miligram vlasov (pg·mg⁻¹).

Príslušnosť k MRK bola hodnotená na základe otázky „Sú vaši najbližší susedia väčšinou Rómovia?“, ako aj na základe hodnotenia administrátorov podľa obvyklého pobytu respondentky.

Meraných bolo viacero indikátorov socioekonomického znevýhodnenia ako **vzdelanie** (základné, stredoškolské, vysokoškolské), **vybavenosť domácnosti** (studená tečúca voda, teplá tečúca voda, splachovací záchod, kúpeľňa/sprcha, elektrina), **problémy s výdavkami** (zaplatiť nájomné; inkasné platby; bežné výdavky a nákupy potravín či ošatenia; splátky nákupov, pôžičiek alebo úverov; náklady na zdravotnú starostlivosť), **prefudnenosť domácnosti** (počet členov domácnosti na počet obytných miestností v obydli). Pre vybavenosť domácnosti sme vytvorili sumárne skóre dostupného vybavenia, pričom vyššie skóre naznačuje lepšie vybavenie. Vytvorili sme sumárne skóre pre počet zaznamenaných problémov s platením výdavkov, pričom vyššie skóre naznačuje viac problémov. Respondentiek sme sa pýtali aj na obavy/stres pociťovaný v súvislosti s rôznymi oblasťami socioekonomického znevýhodnenia (strata strechy nad hlavou, hlad, odňatie detí, neschopnosť splácať dlhy, financie na kúrenie, uväznenie seba alebo blízkeho, choroba blízkeho, strata práce seba alebo blízkeho, domáce násilie, konflikty v komunite). Vyššie sumárne skóre v premennej **SES stres** predstavuje stres pociťovaný vo viacerých oblastiach socioekonomického znevýhodnenia.

Štatistická analýza

Najprv sme zhodnotili základné charakteristiky a sociálne znevýhodnenie zúčastnených matiek z MRK a majoritnej populácie. Rozdiely v koncentráciách vlasového kortizolu a indikátoroch socioekonomického znevýhodnenia medzi matkami z týchto dvoch skupín sme overovali pomocou Mann-Whitney U-testu a Chí-kvadrátového testu. Vzťah medzi socioekonomickým znevýhodnením a koncentráciou vlasového kortizolu sme skúmali pomocou lineárnej regresie za použitia metódy Bootstrap na 1 000 vzorkách, pretože rezíduá modelov neboli normálne rozdelené. Štatistické analýzy boli uskutočnené pomocou IBM SPSS.

VÝSLEDKY

Z popisu vzorky uvedeného v Tabuľke 1 vyplýva, že matky z MRK skórovali horšie vo všetkých skúmaných indikátoroch socioekonomického znevýhodnenia. V porovnaní s matkami z majoritnej populácie majú nižšie vzdelanie, častejšie žijú v prefudnených domácnostiach s horšou vybavenosťou, častejšie majú problémy so zaplatením bežných výdavkov, pociťujú viac stresu v súvislosti

Tabuľka 1. Základné charakteristiky vzorky a porovnanie matiek z MRK a majoritnej populácie (Mann-Whitney U-test a Chí-kvadrátový test)

	Matky z MRK (n=61)		Matky z majority (n=90)		Spolu (n=151)		p-value
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
Najbližší susedia sú Rómovia	61	100	0	0	61	40.4	0.000
Vzdelanie							0.000
Základné	45	75.0	1	1.1	46	30.9	
Stredoškolské s VL	15	25.0	3	3.4	18	12.1	
Stredoškolské s maturitou	0	0	15	16.9	15	10.1	
Vysokoškolské	0	0	70	78.9	70	47.0	
	Priemer (SD)		Priemer (SD)		Priemer (SD)		
Vek	24.63 (6.05)		32.17 (4.23)		29.13 (6.24)		0.000
Počet detí	4.25 (3.09)		1.65 (0.77)		2.70 (2.40)		0.000
Počet dospelých v domácnosti	2.97 (2.17)		2.17 (0.76)		2.49 (1.54)		0.046
Počet detí v domácnosti	4.30 (2.99)		1.65 (0.77)		2.72 (2.37)		0.000
Preľudnenosť domácnosti	4.39 (3.24)		1.12 (0.35)		2.40 (2.54)		0.000
Vybavenosť domácnosti	2.52 (1.80)		4.99 (0.11)		3.97 (1.67)		0.000
Problémy s výdavkami	0.91 (1.21)		0.13 (0.60)		0.43 (0.95)		0.000
SES stres	2.56 (2.43)		0.47 (0.88)		1.29 (1.93)		0.000
Kortizol (pg/mg)	22.98 (29.01)		11.76 (16.53)		16.28 (22.99)		0.000

SD= štandardná odchýlka; VL= výučný list

so socioekonomickým znevýhodnením a majú tiež vyššie hladiny kortizolu vo vlasoch.

V jednoduchých regresných analýzach boli zistené významné súvislosti medzi viacerými indikátormi socioekonomického znevýhodnenia a koncentraciami vlasového kortizolu (Tabuľka 2). Príslušnosť k MRK, vzdelanie, vybavenosť domácností a preľudnenosť sú prediktormi zvýšených hladín vlasového kortizolu. Nenašli sme však významný vzťah zvýšených hladín vlasového kortizolu s problémami so zaplatením bežných výdavkov ani pociťovaným stresom v súvislosti so socioekonomickým znevýhodnením.

Tabuľka 2. Vzťah medzi indikátormi socioekonomického znevýhodnenia a koncentraciami vlasového kortizolu

	B	(CI)
Príslušnosť k MRK	10.52	(3.42; 18.7)*
Vzdelanie	-0.53	(-1.43; 0.3)*
Preľudnenosť domácnosti	-3.52	(-6.73; -0.83)**
Vybavenosť domácnosti	1.42	(0.35; 2.92)**
Problémy s výdavkami	5.96	(-1.34, 15.92)
SES stres	2.00	(-2.0, 5.6)

*p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

DISKUSIA

Cieľom tejto štúdie bolo porovnať úroveň stresu medzi matkami malých detí z marginalizovaných rómskych ko-

munít a matkami z majoritnej populácie a preskúmať, ktoré indikátory socioekonomického znevýhodnenia vplyvajú na zvýšené hladiny vlasového kortizolu. Matky z MRK mali dvojnásobne vyššie priemerné hodnoty hladín vlasového kortizolu v porovnaní s matkami z majoritnej populácie. Okrem toho sme zistili významné súvislosti medzi socioekonomickým znevýhodnením a hladinami vlasového kortizolu týchto matiek, pokiaľ ide o vzdelanie, vybavenosť a preľudnenosť domácností.

Rozdiely v hladinách vlasového kortizolu medzi matkami z MRK a z majoritnej slovenskej populácie, ktoré sme zistili, boli v súlade s predchádzajúcimi štúdiami, ktoré poukázali na súvislosť medzi socioekonomickým znevýhodnením a hladinami vlasového kortizolu (S e r w i n s k i a kol., 2016; C o s t a M a r t i n s a kol., 2023). To potvrdzuje vyššiu prevalenciu stresorov v socioekonomicky znevýhodnených prostrediach (B o w e r s a kol., 2018).

Zistili sme signifikantné rozdiely medzi matkami z MRK a z majoritnej slovenskej populácie vo vzdelaní, preľudnenosti a vybavenosti domácností, problémoch so zaplatením bežných výdavkov, pociťovanom strese súvisiacom so socioekonomickým znevýhodnením. Na rozdiel od našich očakávaní, indikátory socioekonomického znevýhodnenia, ktoré boli viac ovplyvnené subjektivitou, napr. pociťovaný stres súvisiaci so socioekonomickým znevýhodnením alebo

problémy so zaplacením bežných výdavkov nepreukázali významný vzťah k hladinám vlasového kortizolu. Naše zistenia sú podobné iným zisteniam iných štúdií, ktoré nenašli významné súvislosti medzi vnímaným stresom a hladinami vlasového kortizolu (L i n g a kol., 2020, M i l a m a kol., 2014, O' B r i e n a kol., 2013, H o l l e n b a c h a kol., 2019). Možným vysvetlením by mohlo byť, že pri meraní vnímaného stresu a subjektívneho socioekonomického znevýhodnenia majú ľudia tendenciu podceňovať závažnosť svojich problémov alebo majú tendenciu dávať sociálne žiaduce odpovede, aby zabránili možným následkom. Táto interpretácia je v súlade so zisteniami autorov G a l l u c h a M i l l e r - S e r r a n o (2018), že ľudia s vyššou sociálnou potrebou reportujú stres, aj keď ho necítia.

Ďalším možným vysvetlením je, že znevýhodnenie zatknuté v každodennom živote ľudí žijúcich po generácie v MRK sa natoľko znormalizovalo, že špecifické situácie a podmienky už nemusia byť vnímané ako problematické, keďže ľudia to v rámci svojej komunity považujú za bežné. Sociálne porovnanie vedie ľudí k tomu, že svoj subjektívny blahobyt odvodzujú od toho, ako sa im darí v porovnaní s ich očakávaniami na základe hodnotenia ich súčasnej sociálnej skupiny (K r a u s, 2018). Pre tých, ktorí sú vystavení neustálemu stresu spojenému s chudobou, má porovnanie sa s ľuďmi, ktorí sú na tom horšie, pozitívny vplyv na vnímaný blahobyt (T o d d a W o r e l l, 2000). Je tiež pravdepodobné, že si ľudia žijúci extrémnej chudobe osvojili stratégie, ako sa vyrovnáť s obmedzenými zdrojmi, čo ich vedie k tomu, že nevnímajú obmedzený príjem ako obzvlášť stresujúci (A n d e r s o n a kol., 2010). Avšak veľmi konkrétne indikátory socioekonomického znevýhodnenia ako sú nižšie vzdelanie, a teda menej príležitostí, nízka životná úroveň a preľudnenosť domácností, ktoré nepodliehajú subjektivite, môžu viesť k biologickému stresu, aj keď ich človek žijúci v týchto podmienkach nepovažuje za obzvlášť stresujúce (A n d e r s o n a kol., 2010).

Silné a slabé stránky štúdie

Použitie hladín vlasového kortizolu ako nového biomarkera pre stres, ktorý je objektívny, a preto nepodlieha vplyvom sociálnej žiadúcnosti, je jednou z hlavných silných stránok tejto štúdie. Táto štúdia je zároveň prvou, ktorá do meraní hladín vlasového kortizolu zahrnula populáciu matiek malých detí z MRK.

Hlavnou limitáciou tejto štúdie je obmedzená veľkosť vzorky, čo mohlo viesť k podhodnoteniu skúmaných

vzťahov a limituje zovšeobecniteľnosť našich zistení. Ďalšou možnou limitáciou je použitie relatívne sugestívnej formulácie v meraní pocíťovaného stresu súvisiaceho so socioekonomickým znevýhodnením, čo mohlo posilniť sociálne žiaduce odpovede niektorých účastníčok.

Implikácie

Životné podmienky v MRK a s tým súvisiaca zvýšená miera stresu sú faktory, ktoré by pracovníci poskytujúci služby zdravotnej a sociálnej starostlivosti v kontakte s pacientmi a klientmi z MRK mali pri práci s brať do úvahy, pretože tieto môžu byť základnou príčinou mnohých zdravotných a sociálnych problémov. Životné podmienky významne vplyvajú na hladiny stresových hormónov a ovplyvňujú tak celkové zdravie a blahobyt, preto je nevyhnutné aby im bola venovaná pozornosť zo strany tvorcov politík. Tvorcovia politík by sa mali zamerať na podporu duševného a fyzického zdravia matiek malých detí implementáciou politík zameraných na podporu prístupu k vzdelaniu pre marginalizované ženy a zlepšenie životných podmienok napríklad formou mikropôžičiek či spoločnej výstavby, ktoré sa ukázali byť efektívnym nástrojom, ako v prípade Projektu DOM.ov. Aby sa prehĺbilo pochopenie mechanizmov vedúcich k vyšším hladinám vlasového kortizolu, je potrebné ďalší výskum uskutočniť na väčšej a rôznorodejšej vzorke prípadne formou kvalitatívnej štúdie a zamerať sa aj na copingové stratégie a faktory podporujúce resilienciu v znevýhodnenom prostredí.

ZÁVER

Matky malých detí z MRK majú výrazne vyššie hladiny vlasového kortizolu v porovnaní s matkami z majoritnej slovenskej populácie, čo súvisí s tým, že čelia vyššej miere socioekonomického znevýhodnenia. Životné podmienky, konkrétne preľudnenosť a vybavenosť domácností, spolu s úrovňou vzdelania sú významnými prediktormi zvýšenej hladiny vlasového kortizolu. Tieto zistenia poukazujú na potrebu zlepšenia životných podmienok a prístupu k vzdelaniu s cieľom podporiť duševné a fyzické zdravie ľudí žijúcich v MRK.

Podakovanie

Chceli by sme vyjadriť vďaka všetkým spolupracujúcim lekárom, p.o. Zdravé regióny a ich asistentom podpory zdravia, komunitným centráam a sociálnym pracovníkom, ktorí na výskume participovali a umožnili nám vstup do terénu. Špeciálne poďakovanie patrí Ústavu fyzikálnych

vied Prírodovedeckej fakulty UPJŠ, ktorého expertíza v oblasti mletia materiálov umožnila extrakciu vlasového kortizolu v súlade s metodológiou. Ďakujeme Ing. Františkovi Onderkovi, PhD. za pomoc pri spracovaní vzoriek vlasov. V neposlednom rade patrí naša vďaka všetkým matkám, ktoré súhlasili s účasťou v štúdiu.

Financovanie

Túto prácu podporila Agentúra na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-19-0493 a Vedecká grantová agentúra Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied, reg. č. 1/0593/21.

LITERATÚRA

1. **Anderson, W., White, V., Finney, A. (2019)** Coping with low income and cold homes. You just have to get by. Bristol: Center for Sustainable Energy. Available at: https://beatcold.org.uk/wp-content/uploads/2011/08/you_just_have_to_get_by.pdf.
2. **Atlas Rómskych komunit (2019)** Ministerstvo vnútra SR. Available at: <http://www.minv.sk/?atlas-romskych-komunit-2019>.
3. **Blair, C. et al. (2011)** Allostatic and allostatic load in the context of poverty in early childhood. *Development and Psychopathology*, 23(3), 845–857. doi:10.1017/S0954579411000344.
4. **Bowers, K. et al. (2018)** Maternal distress and hair cortisol in pregnancy among women with elevated adverse childhood experiences. *Psychoneuroendocrinology*, 95, pp. 145–148, doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.05.024.
5. **Bronfenbrenner, U. (1977)** Toward an experimental ecology of human development. *American Psychologist*, 32(7), 513–531. doi: 10.1037/0003-066X.32.7.513.
6. **Costa Martins, R. et al. (2023)** Determinants of hair cortisol in preschool children and their mothers: A Brazilian birth cohort study. *Psychoneuroendocrinology*, 150, doi: 10.1016/j.psyneuen.2023.106027.
7. **Galluch, P. S., Miller-Serrano, M. (2018)** The truth about predispositions: Exposing the gap between what we say and how we feel. *Journal of Strategic Innovation and Sustainability*, 13(2), 37–53.
8. **Hollenbach, J.P. et al. (2019)** Hair cortisol, perceived stress, and social support in mother-child dyads living in an urban neighborhood. *The International Journal on the Biology of Stress*, 22(6), doi: 10.1080/10253890.2019.1604667.
9. **Kraus, M. W. (2018)** Beggars do not envy millionaires: Social comparison, socioeconomic status, and subjective well-being. In E. Diener, S. Oishi, & L. Tay (Eds.), *Handbook of well-being*. Salt Lake City, UT: DEF Publishers. doi:nobascholar.com.
10. **Ling, J., Xu, D., Robbins, L. B., & Meyer, J. S. (2020)** Does hair cortisol really reflect perceived stress? Findings from low-income mother-preschooler dyads. *Psychoneuroendocrinology*, 111, 104478. doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.104478.
11. **Milam, J. et al. (2014)** Hair Cortisol, Perceived Stress and Dispositional Optimism: A Pilot Study among Adolescents. *Journal of Traumatic Stress Disorders & Treatment*. doi.org/10.4172/2324-8947.1000126.
12. **O'Brien, K. M., Tronick, E. Z., Moore, C. (2013)** Relationship between Hair Cortisol and Perceived Chronic Stress in a Diverse Sample. *Stress and Health*, 29(4), 337–344. doi.org/10.1002/smi.2475.
13. **Rochovská, A., Rusnáková, J. (2018)** Poverty, segregation and social exclusion of Roma communities in Slovakia. *Bulletin of Geography, Socio-economic Series*, 42(42), doi: 10.2478/bog-2018-0039.
14. **Russell, E. et al. (2012)** Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*, 37(5), 589–601, doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.09.009.
15. **Seeman, T. et al. (2010)** Socio-economic differentials in peripheral biology: Cumulative allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1186, 223–239. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05341.x.
16. **Serwinski, B. et al. (2016)** Associations between hair cortisol concentration, income, income dynamics and status incongruity in healthy middle-aged women. *Psychoneuroendocrinology*, 67, 182–188, doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.02.008.
17. **Shonkoff, J. P. et al. (2012)** The lifelong effects of early childhood adversity and toxic stress. *Pediatrics*, 129(1). doi: 10.1542/peds.2011-2663.
18. **Staufenbiel, S.M. et al. (2013)** Hair cortisol, stress exposure, and mental health in humans: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology*, 38(8), 1220–1235, doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.11.015.
19. **Todd, J. I., Worell, J. (2000)** Resilience in low-income employed African American women. *Psychology of Women Quarterly*, 24, 119–128.
20. **Ursache, A. et al. (2017)** Socioeconomic status, hair cortisol and internalizing symptoms in parents and children. *Psychoneuroendocrinology*, 78, 142–150, doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.01.020.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 113–120

STANOVENIE SUBFRAKCIÍ HDL A LDL CHOLESTEROLU AKO ĎALŠIE HODNOTIACE KRITÉRIUM PRI PREDIKCII VZNIKU ATEROSKLERÓZY THE DETERMINATION OF HDL AND LDL CHOLESTEROL SUBFRACTIONS AS ANOTHER EVALUATION CRITERION IN THE PREDICTION OF THE ATHEROSCLEROSIS

Chlebová Zuzana^{1,2}, Chlebo Peter^{1,3,4}, Magula Daniel², Vaverková Gabriela², Vinklerová Silvia²,
Bihari Maroš³

¹Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Nitra

²Oddelenie klinickej biochémie, Špecializovaná nemocnica sv. Svorada Zobor, n.o., Nitra

³Ústav výživy a genetiky, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov,
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Nitra

⁴Oddelenie anesteziológie a intenzívnej medicíny, Špecializovaná nemocnica sv. Svorada Zobor, n.o., Nitra

chlebova.z@gmail.com

SÚHRN

Civilizačné ochorenia, najmä kardiovaskulárne ochorenia, sú hlavnými príčinami chorobnosti a úmrtnosti v súčasnosti. Determinácia rizík vzniku a rozvoja kardiovaskulárnych ochorení je preto kľúčovou otázkou. Z rizikových faktorov, ktoré hrajú rozhodujúcu úlohu vzniku aterosklerózy a jej kardiovaskulárnych komplikácií, hrajú hladiny zložiek lipidového spektra, najmä hladina cholesterolu a jeho frakcií LDL a HDL. Cieľom našej práce bolo zdokumentovať hladiny lipidového spektra u náhodne vybraného súboru populácie a poskytnúť nový pohľad na interpretáciu zvýšených hladín lipidového spektra za pomoci analýzy subfrakcií LDL cholesterolu s ohľadom na aterogenicitu. Našu štúdiu sme zrealizovali v júni a v júli 2023 a náš súbor tvorilo 69 probandov, z čoho bolo 52 žien a 17 mužov. Biochemické parametre boli stanovené na Oddelení klinickej biochémie Špecializovanej nemocnice sv. Svorada Zobor, n.o. v Nitre a následne i vo Výskumnom centre AgroBioTech Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre, kde boli analyzované subfrakcie LDL. Zistili sme, že až 79.71 % nášho súboru malo zvýšené hladiny celkového cholesterolu a až 20.29 % probandov malo zvýšené hladiny LDL cholesterolu, čo je alarmujúce, pričom až 20.29 % probandov malo potvrdenú prítomnosť aterogénnych subfrakcií LDL cho-

lesterolu. Na príklade kazuistík sme zdokumentovali, že nie všetky výsledky so zvýšenými hladinami lipidového spektra je nutné hodnotiť ako aterogénne. Pri hodnotení aterogenicity krvného séra možno úspešne použiť jeho analýzu pomocou systému Lipoprint.

Kľúčové slová: ateroskleróza; LDL cholesterol; kardiovaskulárne ochorenie; Lipoprint

ABSTRACT

The chronic non-communicable diseases, especially cardiovascular diseases, are the main causes of morbidity and mortality nowadays. Determination the risks of the origin and the development of cardiovascular diseases is therefore a key issue. Out of the risk factors, that plays a decisive role in the development of atherosclerosis and its cardiovascular complications, the levels of components of the lipid spectrum, especially the level of cholesterol and its LDL and HDL fractions. The main aim of our work was to document the levels of the lipid spectrum in a randomly selected group of the population and to provide a new perspective on the interpretation of elevated levels of the lipid spectrum using the analysis of LDL cholesterol subfractions with regard to atherogenicity. We carried out our study in June and July

2023, and our group consisted of 69 probands, of whom 52 were women and 17 were men. The biochemical parameters were determined at the Department of Clinical Biochemistry at Specialized Hospital of St. Svorad Zobor, Nitra, Slovakia and subsequently also in the AgroBioTech Research Centre at Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia where LDL subfractions were analysed. We discovered that up to 79.71% of our group of probands had elevated levels of total cholesterol and up to 20.29% of the probands had elevated levels of LDL cholesterol, which is alarming whereas up to 20.29% of the probands had the confirmed presence of the atherogenic subfractions of LDL cholesterol. By using the example of case reports, we have documented that not all results with increased levels of the lipid spectrum must be evaluated as atherogenic. When assessing the atherogenicity of blood serum, its analysis using the Lipoprint system can be successfully used.

Key words: atherosclerosis; LDL cholesterol; cardiovascular disease, Lipoprint

ÚVOD

Identifikácia a adekvátna, často i agresívna liečba jedincov so zvýšeným rizikom rozvoja kardiovaskulárnych ochorení je rozhodujúca pre optimalizáciu zdravotného stavu a prognózy pacientov (Chung a kol., 2009). Súčasné rizikové faktory kardiovaskulárnych ochorení definované s ohľadom na hladiny cholesterolu úplne nepredpovedajú jedincov s vysokým rizikom rozvoja civilizačných ochorení. Hľadanie a validácia nových potenciálnych metódik je nevyhnutná na prijatie potenciálneho nového rizikového faktora na zlepšenie predpovedania rizika kardiovaskulárnych ochorení. A práve detekcia a správna interpretácia hladín subfrakcií lipoproteínov s nízkou hustotou (sLDL) by mohla poslužiť ako nový rizikový faktor, ktorý by mohol rozšíriť škálu vyšetrení rizikových faktorov kardiovaskulárnych ochorení.

Ateroskleróza a jej charakteristika

Ateroskleróza je charakterizovaná ako chronické ochorenie tepien, kde dochádza k zúženiu tepien a k nedostatočnému zásobovaniu orgánov kyslíkom a živinami, čo sa prejaví znížením funkčnosti tepien (Golian, 2020). Tento jav sa vo všeobecnosti označuje ako endotelová dysfunkcia a hrá kľúčovú úlohu v tvorbe aterogenézy. Pre toto ochore-

nie je charakteristické, že tepny strácajú svoju elasticnosť, zhrubnú a sú tuhšie (Východoslovenský ústav srdcovocievnych chorôb, 2010). Mechanizmus vzniku aterosklerózy je podmienený ukladaním lipidových častíc, najmä cholesterolu, do stien tepny a následné vytváranie plaku (Východoslovenský ústav srdcovocievnych chorôb, 2010). So vznikom plaku vzniká aj riziko prasknutia špičky plaku, ktoré vyvolá nasadenie trombocytov na poškodené miesto tepny, čím sa tepna postupne zužuje, znižuje sa prietok krvi cez tepnu až môže dôjsť k úplnému uzavretiu tepny (Východoslovenský ústav srdcovocievnych chorôb, 2010). Ateroskleróza môže postihnúť väčšinu tepien v tele, vrátane tepien v srdci, mozgu, rukách, nohách, panve a obličkách (National Heart, Lung, and Blood Institute, 2022).

Základným predpokladom vzniku a progresie aterosklerózy je proces nazývaný ako aterogenéza (Kopčeková a kol. 2019). Rozvoj aterosklerózy môže začať už v mladosti, kde celkový priebeh ochorenia môže byť asymptomatický alebo len veľmi mierny a pozvoľný (Kopčeková, Gažarová a Chlebo, 2019). Dokonca aj prvé klinické príznaky aterosklerózy môžu byť veľmi nešpecifické ako napríklad náhla nevoľnosť, hučanie a pískanie v ušiach a stále studené končeky prstov (Horáková, 2011; Bada, 2014).

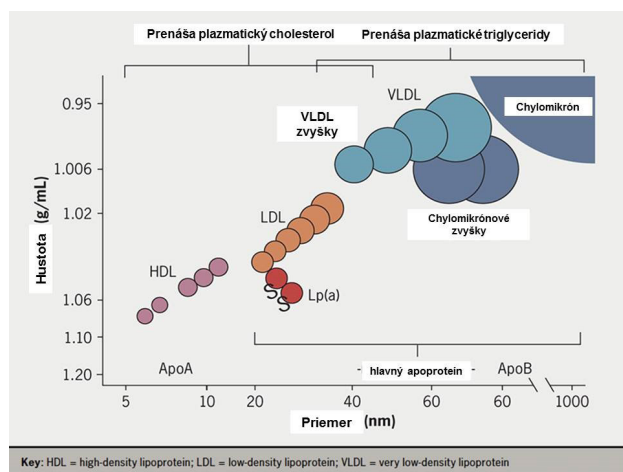
Medzi hlavné príčiny vzniku aterosklerózy sa zaraďujú vysoké hladiny cholesterolu, vysoký krvný tlak, inzulínová rezistencia, obezita, diabetes mellitus, nevhodná životospráva, stres, fajčenie, nedostatok pohybu a familiárny výskyt ochorenia tepien (Východoslovenský ústav srdcovocievnych chorôb, 2010).

Ukladanie tukových častíc do steny ciev s následným vznikom aterosklerózy sú spájané s hladinami lipoproteínov. Na vzniku aterosklerózy sa taktiež podieľajú aj triglyceridy. Zvýšené hladiny triglyceridov, celkového cholesterolu, patologické zmeny v hladinách HDL a LDL cholesterolu zahŕňame spoločne pod pojem dyslipidémie. Posledné štúdie týkajúce sa vzniku a rozvoja aterosklerózy poukazujú na to, že rozhodujúci vplyv na vznik aterosklerózy majú aterogénne zložky lipidového spektra. V bežnej klinickej laboratórnej praxi sa stanovujú hodnoty celkového cholesterolu, hodnoty HDL cholesterolu a LDL cholesterolu, kde vo všeobecnosti je HDL cholesterol považovaný za tzv. „dobrý“ a LDL cholesterol naopak za „zlý“ cholesterol. Vychádza sa zo základného a klinického výskumu, kde bol potvrdený ochranný účinok častíc HDL na cievy a cievnú homeostázu, a na druhej strane boli potvrdené nežiaduce účinky LDL cholesterolu a jeho negatívna úloha v rozvoji aterosklerózy.

Poznanie hladín HDL a LDL cholesterolu aj v súčasnej dobe môže mať významnú výpovednú hodnotu aterogénneho rizika a všeobecne sa uvádza, aby bol pomer HDL cholesterolu ku LDL cholesterolu čo najvyšší. Tým sa garantuje optimálny pomer rozloženia cholesterolu v lipoproteínoch v krvnom sére, čo bráni rozvoju aterosklerózy.

Subfrakcie HDL a LDL cholesterolu

Plazmatické lipoproteíny sú sférické častice zodpovedné za transport cholesterolu, triglyceridov a fosfolipidov. Existuje päť hlavných tried lipoproteínov: chylomikróny, lipoproteíny s veľmi nízkou hustotou (VLDL), lipoproteíny so strednou hustotou (IDL; v niektorých zahraničných zdrojoch označovaný aj ako MID), lipoproteíny s nízkou hustotou (LDL) a lipoproteíny s vysokou hustotou (HDL) (Cox a García-Palmieri, 1990).



Obr. 1 Klasifikácia plazmatických lipoproteínov (Packard, 2023)

Väčšina lipoproteínových tried, medzi ktoré patria HDL, LDL, IDL a VLDL, nie sú homogénne ani čo do hustoty ani čo do chemického zloženia, a z tohto dôvodu môžu byť ďalej rozdelené do niekoľkých podskupín (Žák, 2007). Taktiež aj účinky HDL a LDL cholesterolu sú rozdielne, a to hlavne s ohľadom na proces vzniku aterosklerózy, a v zásade ich možno rozdeliť na tzv. aterogénne a neaterogénne. Koncepcia aterogénnych a neaterogénnych lipoproteínov sa vyformovala po publikovaní pôvodných prác Castelliho v roku 1988, v ktorých uverejnil svoje výsledky, z ktorých vyplývalo, že viac než 75 % pacientov s akútnym koronárnym syndrómom malo hladinu celkového cholesterolu, koncentráciu cholesterolu v HDL a LDL v norme (Abbot a kol., 1988). Ivanova a kol. (2017) vo svojej publikácii uvádza, že jedinci s aterogénnym lipoproteínovým pro-

filom sú charakteristickí tým, že majú zvýšené hladiny aterogénnych lipoproteínov, najmä VLDL, IDL1 a IDL2, lipoproteínov s nízkou hustotou (sdLDL) a sHDL. Uvádza sa, že HDL sa všeobecne považuje za ochrannú (protektívnu) antiaterogénnu časť plazmatických lipoproteínov a LDL za aterogénnu lipoproteínovú časť (Žitňanová a kol., 2020).

Laboratórna diagnostika aterosklerózy

Cholesterol v plazmatických lipoproteínoch s nízkou hustotou (LDL-C), v lipoproteínoch s vysokou hustotou (HDL-C) a triglyceridy sa tradične používajú na hodnotenie lipidového profilu pacienta a na usmernenie manažmentu rizika kardiovaskulárnych ochorení (KVO) (Nasir a kol., 2005). Avšak stanovovanie hladín tradičných lipidov v manažmente rizika KVO je chybné v tom, že nie je možné identifikovať niektorých jedincov s potenciónnym alebo skutočným rozvojom aterosklerózy iba na základe týchto hladín, čo bolo zistené napr. u mladých ľudí a žien s vysokou aterogénnou záťažou, a tým aj boli obmedzené možnosti včasnej liečby u týchto jedincov (Nasir a kol., 2005). Z tohto hľadiska metóda stanovenia subfrakcií LDL a HDL cholesterolu môže zohrávať významnú úlohu ako doplnujúca metóda predikcie vzniku a rozvoja aterosklerózy k tradičnej metóde laboratórneho hodnotenia lipidového spektra.

V súčasnej dobe existuje viacero metód identifikácie a stanovenia hladín jednotlivých subfrakcií LDL a HDL cholesterolu, napr. nukleárna magnetická rezonancia, gélová elektroforéza, ultracentrifugácia, vysokoúčinná gélová filtračná chromatografia (Chung a kol., 2009). Avšak pravdepodobne v súčasnosti najviac využívanou a v literatúre najviac publikovanou metódou stanovenia subfrakcií HDL a LDL je metóda využívajúca systém Lipoprint. Systém Lipoprint predstavuje prelom v rutinej laboratórnej diagnostike porúch metabolizmu lipoproteínov, pričom tento systém pracuje na princípe elektroforetickej metódy delenia lipoproteínov na špeciálnom polyakrylamidovom géle (Hoefner a kol., 2001). Pomocou systému Lipoprint je možné u jedincov určiť aterogénny alebo neaterogénny fenotyp na základe prevahy LDL subfrakcií nasledovne: aterogénny profil, Fenotyp B, v prípade prítomnosti malých denzných subfrakcií LDL3–7 s priemernou veľkosťou LDL častíc pod 255 Å; neaterogénny profil, Fenotyp A, v prípade prítomnosti iba väčších LDL subfrakcií LDL1-2, s priemernou veľkosťou LDL častíc nad 255 Å (Žitňanová a kol., 2020). Na základe uvedených faktov je možné rozlíšiť 4 základné lipoproteínové

profily – neaterogénna normolipidémia, neaterogénna hyperlipoproteinémia (obe patriace do skupiny neaterogénneho profilu – Fenotyp A), aterogénna normolipidémia a aterogénna hyperlipoproteinémia (obe patriace do skupiny aterogénneho Lp profilu – Fenotyp B).

Systém Lipoprint je vhodné použiť u tých jedincov, u ktorých sú prítomné aspoň 2 z nižšie uvedených faktorov, z ktorých je možné niektoré ovplyvniť. Medzi tieto faktory patria:

- vyšší vek ,
- pohlavie – muži vo veku 45 rokov a starší; ženy vo veku 55 rokov a staršie,
- dedičnosť – zahrňujú sa všetky rasy populácie, história familiárneho výskytu ochorenia srdca (napr. otec alebo brat s diagnostikovaným ochorením pred vekom 55 rokov a matka alebo sestra s diagnostikovaným ochorením pred vekom 65 rokov),
- zvýšené hladiny celkového cholesterolu a LDL cholesterolu v krvi
- nízka hodnota HDL cholesterolu,
- vysoký krvný tlak vyšší ako 140/90 mmHg,
- diabetes mellitus – jedinec s diabetom má vyššie riziko výskytu srdcovo-cievnych ochorení, v tomto prípade je nevyhnutné znížiť hodnoty cholesterolu pod odborným lekárskeym dohľadom,
- fajčenie – aktívni a pasívni
- nedostatok fyzickej aktivity a sedavý spôsob života,
- obezita a nadhmotnosť,
- nadmerná konzumácia alkoholických nápojov – vyššia konzumácia alkoholu (nad 10 g čistého alkoholu) môže zapríčiniť zvýšenie krvného tlaku, spôsobiť zlyhanie srdca a viesť k náhlejšej cievnej príhode, rakovine a iným chorobám, zapríčiniť nepravidelný tep srdca, obezitu, alkoholizmus a nehody,
- stres – miera stresu závisí od individuálnej reakcie osoby. Niektorí vedci zaznamenali koreláciu medzi rizikom KVO a stresom v živote človeka, jeho životným štýlom a socio-ekonomickým postavením. Všetky uvedené faktory môžu ovplyvniť a zvýšiť riziko vzniku KVO (FixTrade, s.r.o., 2023).

CIEĽ PRÁCE

Cieľom našej práce bolo poukázať na možnosti využitia systému Lipoprint v diagnostike a liečbe aterosklerózy a to hlavne v takých prípadoch, kedy bežné stanovenie hladín

lipidových parametrov nemusí zodpovedať skutočnému, resp. potencionálnemu riziku vzniku KVO.

METÓDA

Klinická štúdia bola realizovaná v období od júna 2023 do júla 2023 na Ústave výživy a genomiky Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre, vo Výskumnom centre AgroBioTech Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre a na Oddelení klinickej biochémie Špecializovanej nemocnice sv. Svorada Zobor, n.o. v Nitre. Výber probandov do štúdie sa uskutočnil náhodným výberom z prihlásených záujemcov, pričom neboli použité žiadne exkluzívne kritéria výberu probandov. Štúdie sa zúčastnilo 69 dobrovoľníkov, pričom 52 bolo žien a 17 mužov. U probandov sa hodnotili nasledovné antropometrické parametre: vek, telesná výška, telesná hmotnosť a BMI. Uvedené parametre sú zhrnuté v Tabuľke 1.

Parameter	Priemer	SD	Min	Max
Vek (roky)	50.65	11.05	25.00	75.00
Telesná výška (cm)	169.23	7.87	149.90	187.80
Telesná hmotnosť (kg)	76.57	16.10	48.90	127.30
BMI (kg.m ⁻²)	26.58	4.26	17.70	36.30

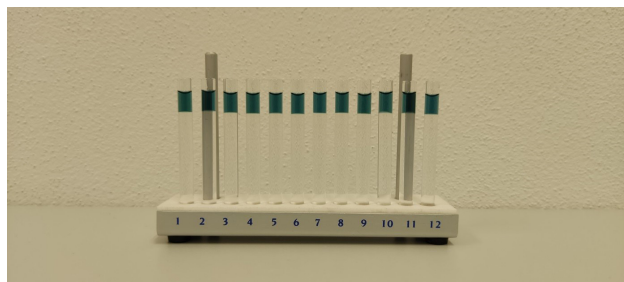
Vysvetlivky: SD – smerodajná odchýlka (standard deviation), Min – minimum, Max - maximum

V rámci štúdie bola probandom odobratá venózna krv do S-Monovette Serum Gel CAT/7.5 mL skúmaviek, ktorá bola následne centrifugovaná na centrifúge Eppendorf TM Centrifuge 5702 R po dobu 10 minút pri 4000 otáčkach za minútu. Z centrifugovaných vzoriek krvi bola odobratá alikvótne časť na ďalšie analýzy. Zo vzoriek krvi probandov boli stanovované na biochemickom analyzátore BioMajesty JCA-BM6010/C (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Holzheim, Nemecko) biochemické parametre lipidového spektra, tzn. celkový cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol a triglyceridy.

Vo Výskumnom centre AgroBioTech boli alikvótne časti odobratých vzoriek krvi použité na stanovenie subfrakcií LDL cholesterolu. Na stanovenie bol použitý špeciálny analytický kit určený na stanovenie subfrakcií LDL cholesterolu Quantimetrix Lipoprint System LDL Subfractions Kit "Lipoprint LDL Kit" (Quantimetrix, Redondo Beach, CA, USA) kompatibilný s prístrojom Lipoprint® (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA). Metodický postup stanovenia subfrakcií LDL cholesterolu bol dodržaný podľa uvedených metodických inštrukcií výrobcu. Použitie tejto metódy nie

je náročné na manuálne zručnosti, vyžaduje však špecifické technické vybavenie. Samotné stanovenie subfrakcií HDL a LDL sa realizuje v postupnom slede krokov, pričom osobitne sa stanovujú subfrakcie HDL a LDL cholesterolu špecifickými kitmi. Pre demonstráciu uvádzame niektoré kroky v nasledujúcich obrázkoch (obr. 2, obr. 3, obr. 4 a obr. 5).

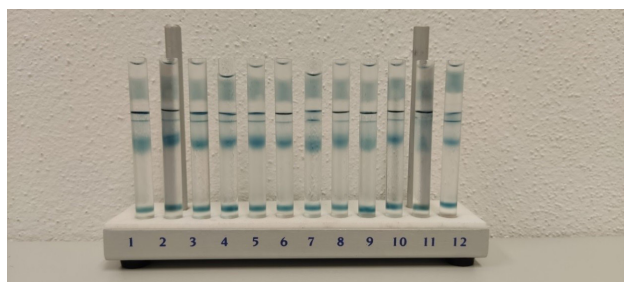
Získané hodnoty boli následne spracované a štatisticky vyhodnotené.



Obr. 2 Vzorky s farbivom v trubičkách s polyakrylamidovým gélom pred elektroforézou (zdroj: autor)



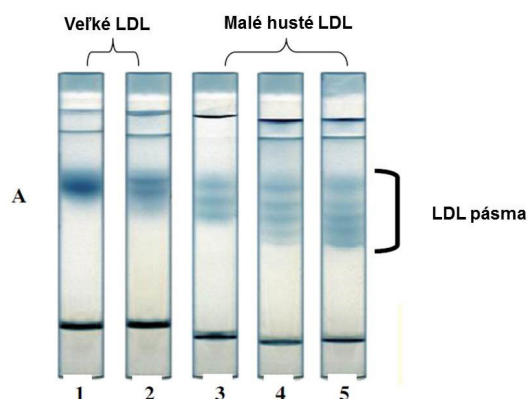
Obr. 3 Elektroforéza vzoriek (zdroj: autor)



Obr. 4 Vzorky po prebehnutí elektroforézy – viditeľné oddelenie jednotlivých subfrakcií (zdroj: autor)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri bežnom vyšetrení lipidových parametrov môžeme zistiť výrazne zvýšené hodnoty rizika vzniku KVO, čo však nemusí korelovať s reálnym rizikom. Pri analýze zistených výsledkov pilotného vyšetrenia lipidových parametrov nášho náhodného vybraného súboru populácie sme zistili, že pomerne veľká časť nášho súboru mala zvýšené hodnoty celkového cholesterolu a LDL cholesterolu a súčasne sme zistili aj zvýšené hodnoty, resp. hodnoty na



Obr. 5 Rozdelenie jednotlivých pásiem LDL po elektroforéze (Fix-Trade, s.r.o., 2023)

hornej hranici normy HDL cholesterolu (stanovená norma HDL cholesterolu $0.9 - 1.42 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Zároveň sme zistili zvýšený podiel aterogénnych subfrakcií LDL cholesterolu. Uvedené hodnoty sú prezentované v tabuľke 2. Z uvedených údajov vyplýva zistenie, že priemerná hodnota hladín celkového cholesterolu bola $6.11 \pm 1.19 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Priemerné hodnoty LDL cholesterolu boli $3.12 \pm 0.79 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ a HDL cholesterolu $1.72 \pm 0.49 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Alarmujúce je však to, že až 69 probandov, čo je 79.71 % z nášho súboru malo hodnoty celkového cholesterolu nad normu. Taktiež až 14 probandov, čo je 20.29 % probandov malo hodnoty LDL cholesterolu zvýšené nad normu. Analýzou subfrakcií LDL častic systémom Lipoprint bolo zistené, že až 14 probandov, čo je 20.29 % malo detegované aterogénne subfrakcie LDL cholesterolu.

Tab. 2 Priemerné hodnoty lipidového spektra nášho súboru

Parameter	Priemer	SD	Min	Max
Celkový cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.11	1.19	2.90	8.23
HDL cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.72	0.49	0.42	3.67
LDL cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	3.12	0.79	0.94	4.68
Triglyceridy ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.49	1.03	0.56	8.14

Vysvetlivky: SD – smerodajná odchýlka (standard deviation), Min – minimum, Max – maximum

Mnohé štúdie preukázali, že vysoké hladiny LDL cholesterolu predstavujú rizikový faktor kardiovaskulárnych ochorení spojených s aterosklerózou (Gąsecka a kol., 2021), čo automaticky predikovalo nasadenie farmakologickej, častokrát až agresívnej liečby s mnohými nežiadúcimi vedľajšími účinkami (Statíny, Ezetimib, Fibráty, PCSK9-i). Analýzou subfrakcií LDL cholesterolu u niektorých

jedincov bolo zistené, že napriek zisteným zvýšeným alebo až dokonca vysokým hodnotám celkového cholesterolu ($6-8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) a LDL cholesterolu ($3.9-4.68 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) neboli vo vyšetrovanom sére detegované aterogénne subfrakcie LDL cholesterolu, čo výrazne znižuje rizikovosť vzniku KVO. Ako príklad môžeme uviesť kazuistiku 1.

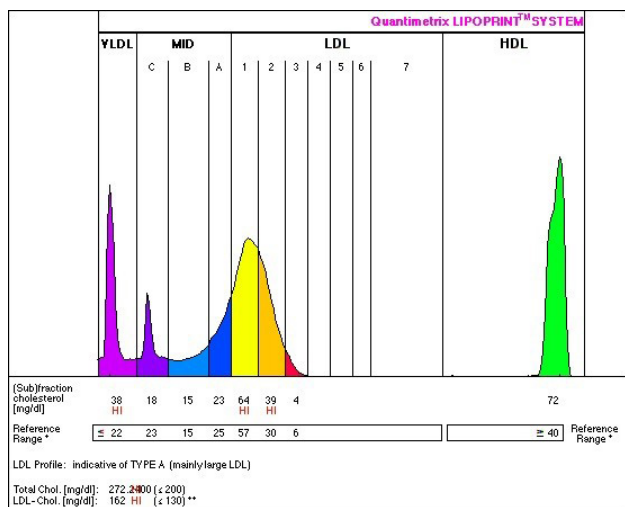
Kazuistika č. 1

Išlo o 61-ročnú probandku s nadhmotnosťou (BMI = $29.4 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$), u ktorej boli zistené nasledovné parametre lipoproteínov, ktoré sú uvedené v tabuľke 3.

Tab. 3 Hodnoty lipidového spektra – kazuistika 1

Hodnotený parameter	Hodnota
Celkový cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	7.04
HDL cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	2.00
LDL cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	3.51
Triglyceridy ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.99

Pri analýze subfrakcií LDL cholesterolu neboli detegované žiadne aterogénne zložky lipidového séra, čo dokumentuje obrázok 6.



Obr. 6 Kazuistika 1 - analýza LDL subfrakcií systémom Lipoprint

Pri analýze stravovacích zvyklostí probandky bolo zistené, že v období posledných troch až piatich mesiacov probandka konzumovala minimálne množstvo exogénneho cholesterolu a taktiež bol u nej zistený znížený príjem potravín s obsahom tukov, najmä živočíšnych. Ďalej bolo zo stravovacích zvyklostí zistené, že probandka v posledných mesiacoch konzumovala zvýšený obsah zeleniny a ovocia a minimalizovala príjem bieleho pečiva a živočíšnych tukov. Uvedenú skutočnosť možno vysvetliť ako dôsledok

zníženej hladiny obsahu cholesterolu v organizme, čo vyvolalo zvýšenú tvorbu endogénneho cholesterolu a na základe regulačných mechanizmov fungujúcich v ľudskom organizme boli zaznamenané takto zvýšené hodnoty lipidového spektra. Možno konštatovať, že napriek zvýšeným hodnotám lipidového spektra nie je u tejto probandky indikovaná farmakologická liečba hyperlipidémie a riziko KVO je minimálne.

Naproti tomu môžeme uviesť ako príklad kazuistiku č. 2, kde sme zaznamenali opačný efekt.

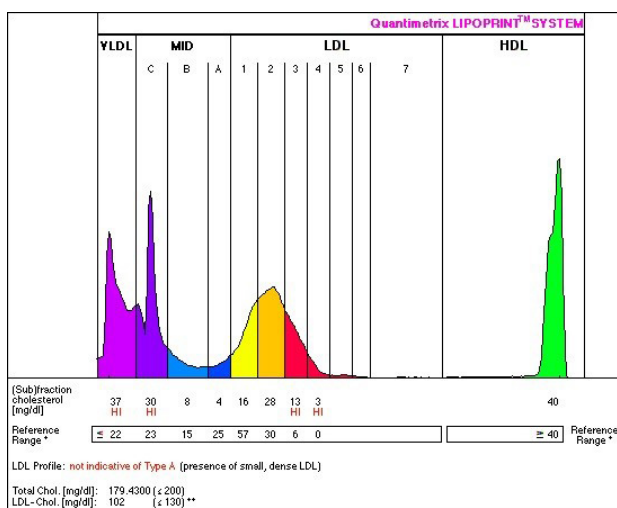
Kazuistika č. 2

Taktiež išlo o 61-ročného probanda, ktorý je na liečbe statínami a boli zistené nasledovné hodnoty lipidového spektra, ktoré sú uvedené v tabuľke 4.

Tab. 4 Hodnoty lipidového spektra – kazuistika 2

Hodnotený parameter	Hodnota
Celkový cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	4.64
HDL cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.22
LDL cholesterol ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	2.05
Triglyceridy ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	2.30

Výsledky analýz subfrakcií LDL cholesterolu systémom Lipoprint u kazuistiky č. 2 sú uvedené na obrázku 7.



Obr. 7 Kazuistika 2 - analýza LDL subfrakcií systémom Lipoprint

Lipidové spektrum vyšetrené rutinnými biochemickými metódami u tohto probanda možno hodnotiť ako v norme, kde je možné predpokladať, že i riziko vzniku a rozvoja KVO bude minimálne. Analýzou subfrakcií LDL cholesterolu pomocou systému Lipoprint sme zistili vy-

soké hodnoty subfrakcií LDL3 a LDL4, ktoré prezentujú malé denzné LDL častice, a zároveň boli zistené i vysoké hodnoty VLDL a IDL cholesterolu. I napriek normálnej hladine HDL cholesterolu, ktorá však bola na dolnej hranici normy, musíme riziko vzniku KVO tohto probanda hodnotiť ako vysoké. Na základe uvedených faktov môžeme konštatovať, že použitie statínov síce upravilo bežne vyšetrované parametre sérových lipoproteínov, avšak u pacienta sme napriek tomu detegovali aterogénne subfrakcie LDL cholesterolu. Z uvedeného možno konštatovať, že iba nasadená liečba statínmi u tohto probanda nie je dostačujúca a sú nutné i ďalšie režimové opatrenia. Tento fakt potvrdzuje i následná analýza stravovacích zvyklostí probanda, u ktorých bola zistená zvýšená konzumácia živočíšnych tukov, najmä s vysokým obsahom nasýtených mastných kyselín a cholesterolu, znížený príjem ovocia a zeleniny a znížená pohybová aktivita. Táto kazuistika demonštruje prínos stanovenia subfrakcií LDL cholesterolu s ohľadom na riziko vzniku KVO a zároveň poukazuje na nutnosť komplexného prístupu k manažmentu dyslipidemií.

ZÁVER

V súčasnosti sme svedkami vysokej mortality a morbidity na KVO. V roku 2019 zomrelo na choroby obehovej sústavy (CHOS) 22 663 osôb, čo z celkového počtu 53 234 úmrtí predstavuje 42.6 % podiel. Úmrtia na CHOS tvorili z celkového počtu úmrtí do 74 rokov (predčasné úmrtia) v porovnávaných rokoch 2011, 2015 a 2019 v priemere 32 % podiel (Ochaba a Danihelová, 2022). Ochorenia srdca zostali za posledných 20 rokov hlavnou príčinou úmrtí na celosvetovej úrovni. Počet úmrtí na srdcové choroby sa od roku 2000 zvýšil o viac ako 2 milióny na takmer 9 miliónov v roku 2019. Srdcové ochorenia teraz predstavujú 16 % z celkových úmrtí zo všetkých príčin (WHO, 2020). Jednou z kľúčových príčin vzniku a rozvoja KVO je ateroskleróza, na vzniku ktorej sa podieľajú zvýšené hladiny lipoproteínov krvného séra. Mnohé štúdie v súčasnosti dokumentujú zvýšené hladiny cholesterolu a jeho frakcií. K podobným výsledkom sme dospeli i my v našej štúdií. Zároveň je však nutné konštatovať, že nie každé zvýšenie lipidového spektra musí zákonite viesť k vzniku aterosklerózy a zvýšeniu rizika KVO. Objavením sa nových technologických procesov a prístrojov sa mení aj pohľad na interpretáciu zvýšených hladín lipoproteínov krvného séra. Jednou z týchto nových technológií je i použitie metódy Lipoprint.

Cieľom našej práce bolo zdokumentovať hladiny lipoproteínov krvného séra u náhodne vybraného súboru probandov a na súbore kazuistik poukázať na nové možnosti využitia systému Lipoprint v interpretácii výsledkov lipidového spektra. Do budúcnosti sa ukazuje, že sa budeme musieť zaoberať komplexným vyhodnocovaním hladín lipidového spektra, a to hlavne s ohľadom na riziko aterogenicity. Pri tomto hodnotení môžu hrať významnú úlohu údaje zistené analýzou lipidového spektra pomocou prístroja Lipoprint.

PodĎakovanie

Táto publikácia vznikla s podporou vedecko-výskumného projektu **APVV-19-0598 „Protektívny účinok extraktu hlivy ustricovej (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) pri chronických neprenosných ochoreniach.“**

LITERATÚRA

1. **Abbott, R.D. et al. (1988)** „High Density Lipoprotein Cholesterol, Total Cholesterol Screening, and Myocardial Infarction. The Framingham Study.“ *Arteriosclerosis*, May/June 1988, 8(3) pp. 207-211.
2. **Bada, V. (2014)** „Ako sa dá predchádzať chorobám srdca a ciev. Bratislava: SAMEDI, s.r.o. p. 164.
3. **Cox, R. A., García-Palmieri, M. R. (1990)** „Chapter 31 Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins“, in *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edn. Boston: Butterworths. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK351/> (cit. 8.9.2023).
4. **Gąsecka, A. et al. (2021)** „LDL-Cholesterol and Platelets: Insights into Their Interactions in Atherosclerosis“ *Life*, 11(1), pp. 1-13. doi: <https://doi.org/10.3390/life11010039>.
5. **FixTrade, s.r.o. (2023)** Systém LipoPrint. Dostupné na: <http://www.lipoprint.eu/sk/system-lipoprint/> (cit. 19.8.2023).
6. **Golian, J. (2020)** „Včelie produkty vo výžive ľudí“, in *Zdravie a výživa ľudí 2*. 2. doplnené, rozšírené a prepracované edn. Bratislava: CAD PRESS, p. 1270.
7. **Hoefner, D. M. et al. (2001)** „Development of rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System“ *Clinical Chemistry*, 47(2), pp. 266-274. doi: <https://doi.org/10.1093/clinchem/47.2.266>.
8. **Horáková, K. (2011)** „Varovné signály tela. Srdce a cievy v ohrození“ Bratislava: Plat4M Books, s.r.o. p. 292.
9. **Chung, M. et al. (2009)** „Comparability of methods for LDL subfraction determination: A systematic review“, *Atherosclerosis*, 205(2), pp. 342-348, <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.12.011>.

10. **Ivanova, E. A. et al. (2017)** „Small Dense Low-Density Lipoprotein as Biomarker for Atherosclerotic Diseases“, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, volume 2017, article ID 1273042, pp. 1-10. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/1273042>.
11. **Kopčeková, J., Gažarová, M., Chlebo, P. (2019)** „Výbrané protektívne a rizikové faktory vo vzťahu ku kardiovaskulárnym ochoreniam“. 1. ed. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. p. 91.
12. **Nasir, K. et al. (2005)** „Detection of high-risk young adults and women by coronary calcium and national cholesterol education program panel guidelines“ *Journal of the American College Cardiology*, 46(10), pp. 1931-1936. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.07.052>.
13. **National Heart, Lung, and Blood Institute (2022)** Atherosclerosis – what is atherosclerosis? Dostupné na: <https://www.nhlbi.nih.gov/health/atherosclerosis> (cit: 8.8.2023).
14. **Ochaba, R., Danihelová, V. (2022)** „Vývoj kardiovaskulárnych ochorení u obyvateľov Slovenskej republiky za roky 2011 – 2022, *Zdravotnícke štúdie*, 14 (2), pp.: 3-7. doi:<https://doi.org/10.54937/zs.2022.14.2.3-7>.
15. **Packard, J. C. (2023)** „Triglyceride-rich lipoproteins and their role in cardiovascular disease“ *The British Journal of Cardiology*, 30(suppl 2), pp. S4-S9. doi: 10.5837/bjc.2023.s06.
16. **Východoslovenský ústav srdcovocievnych chorôb, a.s. (2010)** Ateroskleróza. Dostupné na: <https://www.vusch.sk/ochorenia/ateroskleroz/> (cit: 7.8.2023).
17. **World Health Organization. (2020)** WHO reveals leading causes of death and disability worldwide: 2000-2019. Dostupné na: <https://www.who.int/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019> (cit. 6.9.2023).
18. **Žák, A. (2007)** „Poruchy metabolismu lipidů a lipoproteinů“, in *Laboratorní diagnostika*. 2. doplnené a prepracované edn. Praha: Galén, Karolinum, p. 906.
19. **Žitňanová, I. et al. (2020)** „Gender differences in LDL and HDL subfractions in atherogenic and nonatherogenic phenotypes“ *Clinical Biochemistry*, 79, pp. 9-13. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2020.02.002>.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 121–128

VYUŽITIE MMP-9 AKO BIOMARKERA V SKRÍNINGU KOLOREKTÁLNEHO KARCINÓMU USE OF MMP-9 AS A BIOMARKER IN THE SCREENING OF COLORECTAL CANCER

Kička Miloš¹, Radoňak Jozef¹, Kaťuchová Jana¹, Šoltés Marek¹,
Mašlanková Jana², Večurkovská Ivana²

¹I. Chirurgická klinika UPJŠ LF a UNLP Košice

²Ústav lekárskej a klinickej biochémie, UPJŠ LF Košice

kickamilos79@gmail.com

SÚHRN

Kolorektálny karcinóm je v súčasnosti významným medicínskym a zdravotným problémom, ktorý postihuje ľudí všetkých vekových a etnických skupín. Je najčastejším zhubným nádorom tráviaceho ústrojenstva. Nádorové bunky, vrátane buniek kolorektálneho karcinómu sú schopné tvorby a sekrécie *matrixových metaloproteináz*, ktoré hrajú úlohu v invázii nádorov a metastázovaní.

Cieľom práce bolo zistiť, či hodnoty *matrixovej metaloproteinázy-9* (MMP-9) budú signifikantne zvýšené u pacientov s karcinómom hrubého čreva a konečníka a či by bolo možné používať MMP-9 zisteného v sére v skríningu pre kolorektálny karcinóm.

Súbor 90 pacientov pozostával z pacientov s histologicky verifikovaným kolorektálnym karcinómom ako aj z kontrolnej skupiny pacientov s benignou formou lézií. Tkanivo bolo odoberané pacientom hospitalizovaným na I. Chirurgickej klinike, UNLP v Košiciach a následne spracované elektroforetickou metódou želatínovej zymografie.

Potvrdili sme až 3.6 násobne vyšší výskyt karcinómu u mužského pohlavia. Zaznamenali sme vyššie hodnoty MMP-9 v sére aj v tkanive v skupine pacientov v II. štádiu oproti skupine pacientov v III. štádiu. Potvrdili sme štatisticky významné zhoršené prežívanie pacientov vo vyšších štádiách ochorenia. V sledovanom súbore 60 pacientov s dokázaným kolorektálnym karcinómom

sme zaznamenali úmrtie v 11 prípadoch, čo predstavovalo 18.33%. V nami sledovanom súbore sme nepotvrdili stúpajúce hodnoty hladiny MMP-9 so zvyšujúcim sa štádiom kolorektálneho karcinómu. Výsledky teda nepotvrďujú koncept, že hladiny MMP-9 ako v sére tak aj v samotnom tkanive kolorektálneho karcinómu možno využiť ako potencionálny biomarker daného ochorenia.

Kľúčové slová: karcinogenéza; kolorektálny karcinóm; *matrixová metaloproteináza*

ABSTRACT

Colorectal cancer is currently a major medical and social problem that affects people of all ages and ethnic groups. It is the most common malignant tumor of the digestive system. Tumor cells, including colorectal cancer cells, can produce and secrete *matrix metalloproteinases* that play a role in tumor invasion and metastasis.

The aim of this study was to determine whether *matrix metalloproteinase-9* – MMP-9 – levels would be significantly elevated in patients with colorectal cancer and whether MMP-9 detected in serum could be used in screening for colorectal cancer.

This work aimed to point out the importance of MMP-9 in patients with colorectal cancer. We evaluated

group consist of 90 patients with verified colorectal cancer and patient from control group with benign lesion. Samples were gathered at I. Department of Surgery, UNLP Košice, further evaluated by electrophoretic gelatin zymography.

We confirmed up to 3.6 times higher incidence of cancer in male patients. We observed higher serum and tissue MMP-9 values in the stage II group compared to the stage III group. We confirmed a statistically significant impaired survival of patients at higher stages of the disease. In a group consisting of 60 patients with proven colorectal cancer, we observed death in 11 cases, which accounted for 18.33%.

In our study group, we did not confirm increasing levels of MMP-9 with increasing stage of colorectal cancer. The results do not support the concept that MMP-9 levels both in serum and in colorectal cancer tissue itself can be used as a potential biomarker of the disease.

Key words: carcinogenesis; colorectal cancer; *matrix metalloproteinase*

ÚVOD

Kolorektálny karcinóm sa celosvetovo dostal v ostatných rokoch na popredné miesta vo výskyte onkologických ochorení. V incidencii zhubných ochorení na Slovensku je u mužov na prvom a u žien po karcinóme prsníka na druhom mieste. Vzrastajúci trend výskytu tohto ochorenia v našej populácii pretrváva niekoľko desaťročí. Slovenská republika sa v roku 2012 v odhadoch Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny (IARC) zaradila na prvé miesto v celosvetovom rebríčku výskytu zhubných nádorov kolorekta. Ide o multifaktoriálne ochorenie, ktoré vzniká malígnou transformáciou buniek epitelu hrubého čreva a rekta. Deviatim z desať zhubných nádorov kolorekta predchádza benígny adenóm, ktorý sa považuje za prekancerózu. Najväčšie riziko rozvoja kolorektálneho karcinómu je pozorované u pacientov s genetickými predispozíciami alebo so sporadickými adenomatóznymi polypmi. Adenomatózne polypy sú neoplastické tumory, ktoré majú potenciál prechodu do invazívneho adenokarcinómu hrubého čreva alebo konečníka. Aj napriek pokrokom v liečbe, kolorektálny karcinóm má veľmi zlú prognózu, a preto je nevyhnutné detegovať nové diagnostické a prognostické biomarkery, ktoré by uľahčili, prípadne spresnili včasnú diagnostiku.

Nádorové bunky, vrátane buniek kolorektálneho karcinómu sú schopné tvorby sekrécie špecifických endopeptidáz, matrixových metaloproteináz (MMP), ktoré hrajú úlohu v nádorovej invázii a metastázovaní. Kolorektálny karcinóm je často sprevádzaný vyššou hladinou matrixových metaloproteináz ako aj vyššou hladinou ich prirodzených tkanivových inhibítorov (TIMPs).

DIAGNOSTIKA KOLOREKTÁLNEHO KARCINÓMU

Aj napriek pokrokom v chirurgickej a onkologickej liečbe sa mortalita kolorektálneho karcinómu v posledných desaťročiach podstatne nemení. Vyliečiť sa darí asi 35-40% pacientov. Jediným efektívnym spôsobom, ako znížiť mortalitu, je prevencia a včasná diagnostika (Urbana, 2008; Kiss, 2011).

Pri diagnostike kolorektálneho karcinómu využívame anamnézu, fyzikálne vyšetrenie vrátane digitálneho vyšetrenia konečníka, zobrazovacie a laboratórne diagnostické metódy. Zo zobrazovacích vyšetrovacích modalít sa využíva USG brucha, počítačová tomografia (CT), magnetická rezonancia (MR), CT kolonografia, endorektálna ultrasonografia (EUS), pozitronová emisná tomografia (PET) (Krupa, 2006; Kavabayraktar, 2010; Blahová, 2013).

Nádorové markery sú nádorové antigény, ktoré tvoria tumory a v malom množstve ich uvoľňujú do cirkulácie. Vo všeobecnosti vysoké predoperačné hodnoty markerov považujeme za nepriaznivý prognostický faktor. Pri diagnostike kolorektálneho karcinómu má najväčší význam karcinoembryonálny antigén (CEA). Vhodné doplnkové markery sú tkanivový polypeptický antigén (TPA) a Ca 19-9. Predoperačne zvýšené hodnoty CEA korelujú viac s veľkosťou primárneho nádoru a stupňom postihnutia lymfatických uzlín, zatiaľ čo hodnoty Ca 19-9 sú vyššie u pacientov s metastatickým postihnutím (Krupa, 2013).

Nádorové bunky, vrátane buniek kolorektálneho karcinómu, sú schopné tvorby a sekrécie MMP, špecifických endopeptidáz, ktoré hrajú úlohu v nádorovej invázii a metastázovaní. Keďže MMP predstavujú mnohopočetnú skupinu, významným krokom bol objav MMP špecifickej pre kolorektálny karcinóm, a to matrixovej metaloproteinázy 9.

EXTRACELULÁRNY MATRIX

Extracelulárny matrix (ECM) je možné zjednodušene opísať ako sieť obklopujúcu bunky alebo ako materiál uk-

ladajúci sa v medzibunkovom priestore, ktorý je tvorený prevažne z kolagénu. Vznik ECM bol zásadný pre evolúciu živočíchov. Umožňuje uchytenie buniek, medzibunkovú komunikáciu, pružnosť, má svoju úlohu v bunkovej diferenciácii, migrácii ako aj samotnom raste. Predstavuje väčšinu celkového objemu väčšiny tkanív (V a r g o v á a kol., 2012; K e s s e n e n e b r o c k a kol., 2010; R i c a r d - B l u m, 2011; F i s c h e r a kol., 2019).

Bunky tvoriace tkanivá sú zodpovedné za biosyntézu zložiek ECM, ale rovnako ECM má vplyv na funkciu týchto buniek. Vzájomné interakcie medzi bunkou a ECM sú výsledkom prítomnosti špecifických bunkových receptorov a epitopov (antigénnych determinantov, časti antigénu, ktorý je rozpoznávaný imunitným systémom) umiestnených na molekulách ECM a na povrchoch buniek. Receptory a epitopy zohrávajú dominantnú úlohu nielen v spojení a migrácii buniek, ale aj v regulácii a stimulácii diferenciácie buniek a expresie špecifických proteínov na génovej úrovni. ECM vytvára špeciálne fyziologické mikroprostredie pre ochranu buniek pred škodlivými fyzikálnymi faktormi a uľahčuje prenos signálov (H u s s e y a kol., 2018; A h m e d a F f r e n c h - C o n s t a n t, 2016).

KOLAGÉN

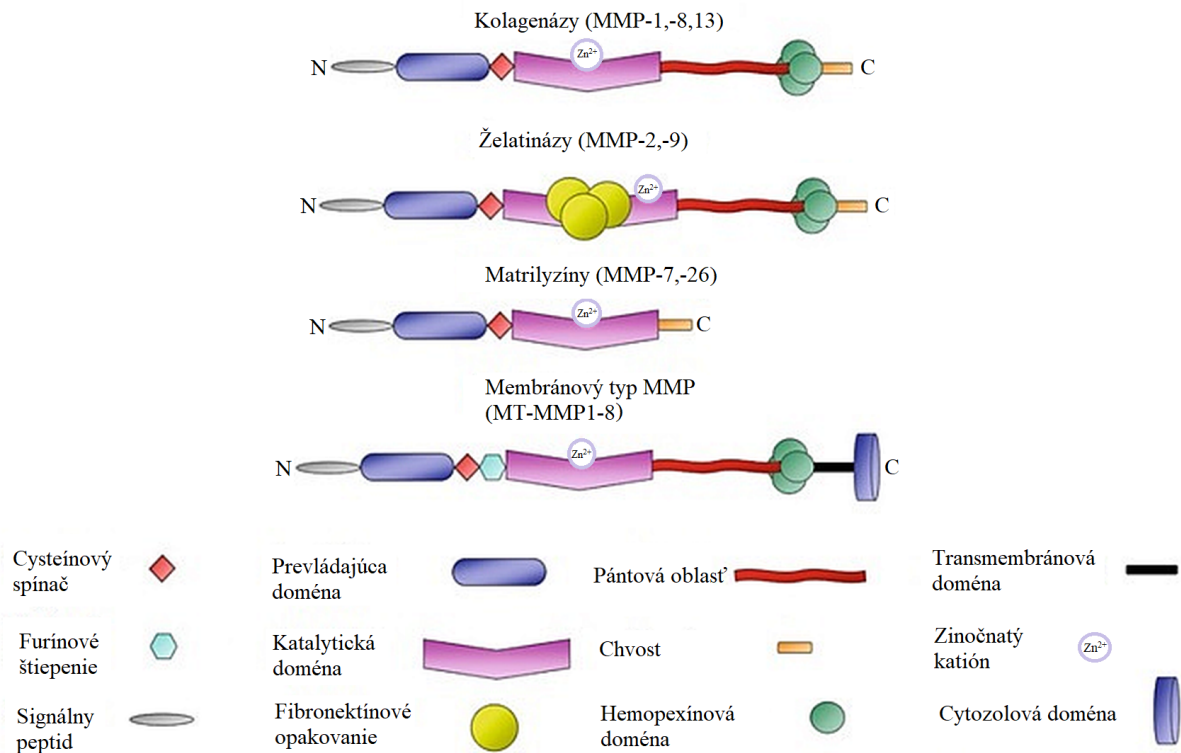
Kolagén je hlavnou štrukturálnou zložkou spojivového tkaniva, ktorá umožňuje udržiavať stabilitu orgánov a podporovať integritu ich štruktúry. V poslednom desaťročí sa výrazne rozšírila znalosť o skupine proteínov a o enzýmoch degradujúcich kolagén. Kolagén je najviac zastúpeným proteínom v ECM. Pozostáva z troch reťazcov α v trojitej špirále. Pre stabilizáciu kolagénovej štruktúry je dôležitý vysoký obsah glycínu, pretože umožňuje tvorbu vodíkových mostíkov a tvorbu priečných väzieb (Z h u a kol., 2018; H e i n o a kol., 2009; L e i t i n g e r, 2011). U stavovcov je známych 28 členov superrodiny kolagénov označovaných rímskymi číslicami (I-XXVIII), pričom ich spoločným štrukturálnym znakom je práve prítomnosť trojitej špirály. Degradácia kolagénu ako jednej zo základných zložiek ECM je veľmi dôležitým procesom vo vývoji, morfogénéze, prestavbe a oprave tkanív. Je prísne regulovaná vo fyziologických podmienkach a jej dysregulácia v zmysle nadmernej degradácie patrí medzi príčinné súvislosti chorôb, ako je reumatoidná artritída, nefritída, chronické vredy a fibróza, kardiovaskulárne poruchy (hypertenzia, ateroskleróza) ako aj tvorba, rast a šírenie nádoru (H e i n o a kol., 2009; L e i t i n g e r, 2011). Ako všetky

proteíny aj kolagény sú v organizme degradované a resynetizované. Denaturovaný kolagén sa nazýva želatína. Tá môže byť ďalej degradovaná prostredníctvom *želatináz*. Hlavnými predstaviteľmi enzýmov s kolagénolytickou aktivitou sú *matrixové metaloproteínázy*.

MATRIXOVÉ METALOPROTEINÁZY

Matrixové metaloproteínázy, tiež nazývané *matrixíny* alebo *kolagenázy stavovcov*, sú na zinku závislé proteíny a peptidové hydrolázy, ktoré tvoria samostatnú rodinu metaloproteínov (T a l l a n t a kol., 2010; A n d r e i n i a kol., 2006; B a s s i o u n i a kol., 2021). Metaloproteín je všeobecný termín pre proteín obsahujúci ión kovu, ktorý je v pozícii kofaktora. Odhaduje sa, že asi polovica všetkých ľudských proteínov patrí medzi metaloproteíny a ión kovu je nevyhnutný pre správne vykonávanie funkcií proteínu (A n d r e i n i a kol., 2006). MMP sú vysoko homológne, multidoménné enzýmy obsahujúce ión zinku v katalytickej oblasti, ktoré sú schopné degradovať rôzne zložky medzibunkovej hmoty (C u i, 2017; L a r o n h a a C a l d e i r a, 2020; C e r o f o l i n i a kol., 2019). Prvý identifikovaný enzým v tejto skupine bol *kolagenáza-1* (teraz označovaná ako MMP-1), ktorú v roku 1962 objavili Gross a Lapiere v experimente na tkanivovom materiáli z chvosta žubrienky severoamerického druhu žaby *Pana catesbiana*. Kolagenáza umožňuje distribúciu veľkého množstva kolagénu v chvoste žubrienky počas premeny, čo uľahčuje transformáciu tela na dospelého jedinca (G r o s s a L a p i e r e, 1962; K l e i n a kol., 2010; I s a a c s o n a kol., 2017).

Expresia génov MMP sa pozoruje v bunkách spojivového tkaniva, predovšetkým vo fibroblastoch ale aj v neutrofiloch, makrofágoch a endotelových bunkách. Expresia MMP sa udržiava v tkanivách na konštantnej nízkej úrovni. Aktivácia a inhibícia MMP je založená na kaskáde kontrolovaných procesov. Faktory, ktoré zvyšujú expresiu MMP sú: zápalové cytokíny (interleukín-1, interleukín-6, tumor nekrotizujúci faktor α -TNF α), epidermálny rastový faktor (EGF), rastový faktor odvodený z krvných doštičiek (PDGF), transformujúci rastový faktor (TGF β) a základný fibroblastový rastový faktor (bFGF). Naopak, expresia inhibítorov MMP zahŕňa: kortikosteroidy, kyselinu retinovú, heparín a interleukín-4. Proteolytické vlastnosti MMP sú kontrolované počas aktivácie neaktívnych katalytických proenzýmov tkanivovými inhibítormi metaloproteáz (TIMP). V krvnej plazme sú inhibítormi α 1-antiproteáza a α 2-makroglobulín. V tkanivách boli doteraz extrahované



Obrázok 1 Štruktúra MMP (Vargová a kol., 2012)

štyri TIMP (Aparicio a kol., 1999; Li a kol., 2005; Baker a kol., 2003; Heslin a kol., 2001; Islekkel a kol., 2007; Curran a kol., 2004).

- Pridaná transmembránová doména s malou cytoplazmatickou C-koncovou doménou, ktorá je prítomná iba u MMP-14,-15,-16 a -24 (Laroha, 2020).

ŠTRUKTÚRA MMP

Najbežnejšími štruktúrnymi znakmi MMP sú (Obrázok 1):

- Signálny N je koncový peptid s premenlivou dĺžkou, ktorý je zameraný na sekréciu peptidu.
- Pro-doména, ktorá udržuje enzým neaktívny, pričom po aktivácii MMP je táto oblasť odstránená. Obsahuje cysteín.
- Katalytická doména, ktorá obsahuje zinok viažucu sekvenciu, ktorá je zodpovedná za proteolytickú aktivitu.
- Na prolín bohatý „linker“ („spojovník“), ktorý spája katalytickú doménu s hemopexínovou doménou.
- Doména podobná hemopexínu, ktorá je nevyhnutná pre degradáciu kolagénu na trojitú špirálu, rozpoznanie a následná katalytická degradácia fibrilárneho kolagénu. Jediné MMP, ktoré nemajú túto doménu sú MMP-7, MMP-23 a MMP-26.

Pre účinnosť MMP sa vyžadujú ióny zinku v katalytickom mieste a ich proteolytická aktivácia, pretože sú syntetizované ako neaktívne zymogény. Pri proteolytickom štiepení sa pro-peptidová doména destabilizuje a interakcia medzi Zn²⁺ a cysteínom narušuje, čo mení neaktívny zymogén na aktívnu formu MMP.

V nasledujúcej tabuľke () sú uvedené MMP s prominentným postavením pri kolorektálnom karcinóme (Jonsson a kol., 2018; Urushibara a kol., 2018; Emara a kol., 2009; Shi a kol., 2013).

VÝSLEDKY

Na I. Chirurgickej klinike UPIŠ LF a UNLP v Košiciach bola v období od 01.05.2018 do 31.08.2019 vykonaná prospektívna štúdia, ktorej cieľom bolo meranie a následné vyhodnotenie matrixovej metaloproteázy-9, u pacientov

MMP	Názov	Úloha v CRC
MMP-1	Kolagenáza-1	Expresia koreluje s CRC inváziou a metastázami
MMP-2	Želatináza A	Expresia koreluje s CRC inváziou
MMP-7	Matrilýzín	Expresia koreluje s CRC bunkovou proliferáciou, inváziou, metastázami
MMP-9	Želatináza B	Expresia koreluje s CRC inváziou a metastázami
MMP-12	Metalloelastáza	Expresia koreluje so zníženým rastom CRC a zvýšeným prežitím
MMP-13	Kolagenáza-3	Expresia koreluje so zníženým CRC prežitím

Tabuľka 1 MMP s prominentným postavením pri CRC (Falk a kol., 2018)

s kolorektálnym karcinómom. Cieľom predloženej práce bolo zistiť, či hodnoty MMP-9 budú signifikantne zvýšené u pacientov s karcinómom hrubého čreva a konečníka a či by bolo možné používať MMP-9 zisteného v sére ako skrining pre kolorektálny karcinóm. Do sledovaného súboru boli zaradení pacienti, ktorí boli v danom období operovaní s diagnózou kolorektálny karcinóm. Počas daného obdobia boli sledované a vyhodnotené hladiny MMP-9 aj v kontrolnej skupine pacientov operovaných na I. Chirurgickej klinike UPJŠ LF a UNLP v Košiciach v rovnakom období od 01.05.2018 - 31.08.2019 s diagnostikovanými benígnymi ochoreniami hrubého čreva a konečníka.

V nami sledovanom súbore pacientov bolo 60 pacientov s histologicky potvrdenou diagnózou karcinóm hrubého čreva alebo konečníka a 30 pacientov s benígnymi ochoreniami hrubého čreva alebo konečníka. V súbore bolo 33 žien (37%) a 57 mužov (63%), s priemerným vekom 65 rokov. V skupine s malígnym ochorením bolo 60 pacientov s priemerným vekom 67 rokov, prítomných bolo 16 žien a 44 mužov. Pacientov s benígnym ochorením bolo 30 s priemerným vekom 65 rokov, 17 žien a 13 mužov. Pri porovnávaní vekového zastúpenia pacientov v benígnej a malígnej skupine sme nezistili štatisticky významný rozdiel. V sledovanej skupine sme zaznamenali vyšší výskyt malígneho ochorenia, karcinómu u mužov, $p < 0.005$. Pomocou binárnej logistickej regresie sme potvrdili až 3.6 násobne vyšší výskyt karcinómu u mužského pohlavia.

Pacienti s potvrdenou diagnózou kolorektálny karcinóm boli rozdelení do štyroch skupín, podľa štádia ochorenia. V prvom štádiu ochorenia bolo 12 pacientov, v druhom 24 pacientov, v treťom štádiu 18 pacientov a vo štvrtom bolo operovaných 6 pacientov.

U všetkých sledovaných pacientov po odstránení tumoru počas operácie boli odobraté vzorky z tkaniva tumoru. Z nádorového tkaniva bolo stanovené MMP-9 (Tabuľka 2). Súčasne bola stanovená hladina MMP-9 v krvnom sére pacientov, ktoré bolo odobraté ráno v deň operácie (Tabuľka 3). Hodnoty boli vyhodnotené pomocou metódy ELISA v spolupráci s pracovníkmi z Ústavu lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF.

V nami sledovanom súbore pacientov s benígnym ochorením a malígnym ochorením sme potvrdili štatisticky významný rozdiel v hodnotách MMP-9 v tkanivách a v krvnom sére, $p < 0.01$. Pri vyhodnotení hodnôt MMP-9 v skupine

Pacienti	n	Priemer ng·mL ⁻¹	Smerodajná odchýlka ng·mL ⁻¹
Benígne ochorenia HČ+K	30	164.99	137.14
Karcinóm HČ+K – I. štádium	12	315.65	238.73
Karcinóm HČ+K – II. štádium	24	470.74	497.88
Karcinóm HČ+K – III. štádium	18	252.47	272.12
Karcinóm HČ+K – IV. štádium	6	1012.63	304.92
Celý súbor pacientov	90	340.62	379.03

Tabuľka 2: Sledovanie hodnôt MMP-9 v tkanivách u pacientov s benígnym ochorením hrubého čreva a konečníka a karcinómom hrubého čreva a konečníka (HČ+K)

Pacienti	n	Priemer ng·mL ⁻¹	Smerodajná odchýlka ng·mL ⁻¹
Benígne ochorenia HČ+K	30	77.26	94.33
Karcinóm HČ+K – I. štádium	12	288.19	403.45
Karcinóm HČ+K – II. štádium	24	367.89	95.19
Karcinóm HČ+K – III. štádium	18	157.35	119.46
Karcinóm HČ+K – IV. štádium	6	543.37	527.03
Celý súbor pacientov	90	229.98	254.61

Tabuľka 3: Sledovanie hodnôt MMP-9 v sére u pacientov s benígnym ochorením hrubého čreva a konečníka a karcinómom hrubého čreva a konečníka (HČ+K)

s kolorektálnym karcinómom v skupinách rozdelených podľa jednotlivých štádií sme nepotvrdili štatisticky signifikantný rozdiel. Zaznamenali sme vyššie hodnoty MMP-9 v sére aj v tkanive v skupine pacientov v II. štádiu oproti skupine pacientov v III. štádiu.

V sledovanom súbore pacientov sme sledovali prežívanie pacientov. Pri vyhodnotení mediánu prežívania sme zaznamenali medián prežívania v I. štádiu 30 mesiacov, v II. štádiu 25 mesiacov, v III. štádiu 23 mesiacov a v IV. štádiu 18 mesiacov. Potvrdili sme štatisticky významné zhoršené prežívanie pacientov vo vyšších štádiách ochorenia, $p < 0.01$. V skupine pacientov s dokázaným kolorektálnym karcinómom sme v priebehu 4-ročného sledovania zaznamenali úmrtie v 11 prípadoch, čo predstavovalo 18.33%.

DISKUSIA

Experimentálne štúdium nádorovej invázie a metastáz identifikovala MMP ako kľúčové pri šírení nádoru. Štúdie využívajúce prírodné a syntetické inhibítory MMPs poskytli presvedčivý dôkaz, že aktivita MMP môže indukovať alebo zvýšiť prežitie nádoru, inváziu a metastázy. Schopnosť MMP degradovať proteíny ECM je hlavným mechanizmom, ktorým MMP podporujú vývoj nádoru. Proteolytický rozklad zdravého tkaniva uľahčuje extravazáciu cirkulujúcich nádorových buniek (N a j a f i a kol., 2019).

MMP-9 bola študovaná ako potenciálny prognostický biomarker kolorektálneho karcinómu. Viaceré štúdie poukazujú na stúpajúce hladiny MMP-9 so zvyšujúcim sa štádiom kolorektálneho karcinómu. Cho a kol., 2007 zistili, že zvýšené farbenie MMP-9 v primárnych nádoroch je nezávislým markerom zlej prognózy. Plazmatické hladiny MMP-2 a MMP-9 boli signifikantne zvýšené u pacientov s kolorektálnym karcinómom a u pacientov s adenomatóznymi polypmi a po resekciách nádoru sa pozorovalo významné zníženie oboch, čo naznačuje ich potenciál ako markerov terapeutической účinnosti (C h o a kol., 2007). V ďalšej štúdií Herszényi a kol., 2008 potvrdili, že expresia MMP-9 v CRC bola významne vyššia v porovnaní s adenómami alebo normálnou sliznicou. Signifikantne vyššia expresia MMP-9 bola pozorovaná u adenómov s dyspláziou vysokého stupňa v porovnaní s inými adenómami alebo normálnym hrubým črevom (H e r z s é n y i a kol., 2008). Mroczo a kol., 2010 merali sérové hladiny MMP-9 a zistili, že sérové hladiny všetkých testovaných proteínov boli významne vyššie u pacientov s CRC ako u zdravých jedincov (M r o c z k o a kol., 2010). Svagzdys a kol., 2011

skúmali prognostickú hodnotu expresie matrixových metaloproteináz (MMP-2 a MMP-9) a ich inhibítorov (TIMP-2 a TIMP-3) pri karcinóme rekta na predikciu prežitia pacientov. Bola vykonaná retrospektívna analýza klinicko-patologických nálezov 64 pacientov. Počas sledovania zomrelo 28 pacientov. Zosnulí pacienti preukázali signifikantne vyššiu expresiu MMP-9 a nižšiu expresiu TIMP-3 v parenchýme karcinómu v porovnaní s prežívšími (S v a g z d y s a kol., 2011). Ďalšia retrospektívna štúdia, ktorú vykonali Ruan a kol., 2020 bola zameraná na skúmanie stavu expresie želatínázy u pacientov s rakovinou konečníka a na skúmanie ich prognostickej hodnoty na prežitie. Zaradených bolo 60 pacientov, ktorí podstúpili pooperačnú adjuvantnú chemorádioterapiu pre karcinóm rekta II. a III. štádia. Pozitívna expresia MMP-9 bola pozorovaná u 70 % nádorov. Celkové prežívanie bolo znížené u zle diferencovaných nádorov a nádorov s pozitívnou expresiou MMP-9. Expresia MMP-9 bola pozorovaná v nádoroch pacientov so štádiom II a III rektálneho karcinómu v porovnateľných hodnotách a bola charakterizovaná zlým celkovým prežívaním (R u a n a kol., 2020). Mnohé iné štúdie potvrdzujú predpoklad využitia MMP-9 ako biomarkera v skríningu kolorektálneho karcinómu.

ZÁVER

Kolorektálny karcinóm je najčastejším nádorom tráviaceho traktu a celosvetovo patrí medzi najčastejšie nádory vôbec. Stratégia liečby kolorektálneho karcinómu by mala výrazným spôsobom podporiť skríning kolorektálneho karcinómu, teda diagnostiku asymptomatického ochorenia. V tomto štádiu je kurabilita dosiahnutá často len endoskopickým či resekcijným výkonom. Výsledky radikálnej liečby včasných štádií ochorenia sú dramaticky lepšie než v prípade pokročilého ochorenia a liečba je tiež menej nákladná, bez následnej chemoterapie či biologickej liečby. Skríning a včasná detekcia CRC tak zostávajú klinickou výzvou, čo zdôrazňuje potrebu identifikovať nové biomarkery na pomoc pri diagnostike CRC. Nádorové bunky, vrátane buniek kolorektálneho karcinómu sú schopné produkcie a sekrécie špecifických *endopeptidáz*, *matrixových metaloproteináz*, ktoré hrajú úlohu v nádorovej invázii a metastázovaní.

Keďže MMP predstavujú mnohopočetnú skupinu, významným krokom bolo objavenie MMP špecifických pre kolorektálny karcinóm. Sú nimi MMP-2 a MMP-9. Tie sú dnes pokladané za potenciálne biomarkery tohto ochorenia a v budúcnosti sa bude klásť dôraz na ich zavedenie

do klinickej praxe. Na vyhodnotenie prínosu stanovenia týchto parametrov ako prognostických alebo prediktívnych biomarkerov na skríning, diagnostiku a sledovanie pacientov sú potrebné ďalšie štúdie. To môže zlepšiť diagnostické a terapeutické stratégie.

LITERATÚRA

- Ahmed M, Ffrench-Constant C. (2016):** Extracellular Matrix Regulation of Stem Cell Behavior. *Current Stem Cell Reports.*; 2:197-206. doi: 10.1007/s40778-016-0056-2.
- Andreini C., Banci L., Bertini I. (2006):** et al. Zinc through the three domains of life. *Journal of Proteome Res.* 2006; 5 (11): 3173-3178. doi: 10.1021/pr0603699.
- Aparicio T., Kermoryant S., Dessirier V. et al. (1999):** Matrix metalloproteinase inhibition prevents colon cancer peritoneal carcinomatosis development and prolongs survival in rats. *Carcinogenesis.*; 20 (8): 1445-1451. doi: 10.1093/carcin/20.8.1445.
- Baker E.A., Leaper D.J. (2003):** The plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in colorectal cancer: relationship to tumour pathology. *Eur J Cancer.*; 39(7): 981-988. doi: 10.1016/s0959-8049(03)00065-0.
- Bassiouni W., Ali M.A., Schulz R.:** Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease *FEBS J* 288(24): 7162-7182. doi: 10.1111/febs.15701.
- Bláhová B. (2013):** Kolorektálny karcinóm a FOB skríning v ambulancii všeobecného lekára. *Via pract.* 10 (5): 187-190.
- Cerofolini L., Fragai M., Luchinat C. (2019):** Mechanism and inhibition of matrix metalloproteinases. *Curr Med Chem.* 26: 2609-2633. doi: 10.2174/0929867325666180326163523.
- Cho Y.B., Lee W.Y., Song S.Y. et al. (2007):** Matrix metalloproteinase 9 activity is associated with poor prognosis in T3 – T4 node – negative colorectal cancer. *Human Pathology*; 38(11):1603-1610. doi: 10.1016/j.hum-path.2007.03.018.
- Cui N. (2017):** Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 147: 1-73. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
- Curran S., Dundas S.R., Buxton J. et al. (2004):** Matrix metalloproteinase / Tissue inhibitors of matrix metalloproteinase phenotype identifies poor prognosis colorectal cancers. *Clin Cancer Res.*; 10: 8229-8234. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0424.
- Emara M., Chlung P., Grabowski K. et al. (2009):** Serum levels of matrix metalloproteinase – 2 and - 9 and conventional tumor markers [CEA and Ca 19-9] in patents with colorectal and gastric cancers. *Clin Chem Lab Med.*; 47 (8): 993-1000. doi: 10.1515/CCLM.2009.212.
- Falk P., Jonsson A., Swartling T. et al. (2018):** Role of matrix metalloproteinases in tumour invasion: immunohistochemistry of peritoneum from peritoneal carcinomatosis. *Medical Oncology.* 35(5): 64. doi: 10.1007/s12032-018-1122-7.
- Fischer T., Senn N., Riedl K. (2019):** Design and Structural evolution of Matrix Metalloproteinase Inhibitors. *Chemistry A European Journal*; 25 (34): 7960-7980. doi: 10.1002/chem.201805361.
- Gross J., Lapiere Ch.M. (1962):** Collagenolytic activity in amphibian tissues: A tissue culture assay. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America.*; 48 (6): 10,14-1022. doi: 10.1073/pnas.48.6.1014.
- Heino J., Huhtala M., Käpylä J. et al. (2009):** Evolution of collagen- based adhesion systems. *Int J Biochem Cell Biol.*; 41 (2): 341-348. doi: 10.1016/j.biocel.2008.08.021.
- Hersényi L., Sipos F., Galamb O. et al. (2008):** Matrix metalloproteinase-9 expression in the normal mucosa – adenoma – dysplasia – adenocarcinoma sequence of the colon. *Pathol. Oncol. Res.*;14(1):31-37. doi: 10.1007/s12253-008-9004-5.
- Heslin M., Yan J., Johnson M.R. et al. (2001):** Role of matrix metalloproteinases in colorectal carcinogenesis. *Annals of Surgery.*; 233 (6): 786-792. doi: 10.1097/00000658-200106000-00008.
- Hussey G. S., Dziki J. L., Badylak S. F. (2018):** Extracellular matrix-based materials for regenerative medicine. *Nature Reviews Materials.*; 3: 159-173.
- Isaacson J.K., Jensen M.M., Subrahmanyam N.B. (2017):** Matrix metalloproteinases as targets for controlled delivery in cancer: An analysis of upregulation and expression. *Journal of Controlled Release.*; 259: 62-75. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.01.034.
- Islekel H., Oktay G., Terzi C. et al. (2007):** Matrix metalloproteinase - 9, - 3 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase - 1 in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables. *Cell Biochem Funct.*; 25: 433-441. doi: 10.1002/cbf.1325.

- 21. Jonsson A., Hjalmarsson G., Falk P. et al. (2018):** Stability of matrix metalloproteinase – 9 as biological marker in colorectal cancer [online]. *Medical Oncology*. 35(4): 50. doi: 10.1007/s12032-018-1109-4.
- 22. Kav T., Bayraktar Y. (2010):** How useful is rectal endosonography in the staging of rectal cancer? *World J Gastroenterology*. 16 (6): 691-697. doi: 10.3748/wjg.v16.i6.691.
- 23. Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z. (2010):** Matrix metalloproteinases: Regulators of the Tumor microenvironment. *Cell*. 141 (1): 52-67. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.015.
- 24. Kiss I. (2011):** Kolorektální karcinom – slovo úvodem. *Onkologie*. 5 (5): 260.
- 25. Klein T., Bischoff R. (2010):** Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteinases. *Amino Acids*. 41(2): 271-290. doi: 10.1007/s00726-010-0689-x.
- 26. Kroupa K. (2006):** Chirurgické riešenie metastáz kolorektálneho karcinómu v pečeni. *Onkológia*. 1 (2): 106-111.
- 27. Kroupa K. (2013):** Zásady a možnosti chirurgickej liečby kolorektálneho karcinómu. *Onkologie*.; 7(4): 42-50.
- 28. Laronha H., Caldeira J. (2020):** Structure and function of human matrix metalloproteinases. *Cells*.; 9 (5): 1076. doi: 10.3390/cells9051076.
- 29. Leitinger B. (2011):** Transmembrane collagen receptors. *Annu Rev CellDev Biol*.;27: 265-290. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154013.
- 30. Li B.H., Zhao P., Liu S.Z. et al. (2005):** Matrix metalloproteinase – 2 and tissue inhibitor of metalloproteinase – 2 in colorectal carcinoma invasion and metastasis. *World J of Gastroenterology*.; 11 (20): 3046-3050. doi: 10.3748/wjg.v11.i20.3046.
- 31. Mroczko B., Groblewska M., Okulyzk B. et al. (2010):** The diagnostic value of matrix metalloproteinase 9 (MMP – 9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 (TIMP – 1) determination in the sera of colorectal adenoma and cancer patients. *Int J Colorectal Dis*.; 25: 1177 – 1184. doi: 10.1007/s00384-010-0991-9
- 32. Najafi M., Farhood B., Mortezaee K. (2019):** Extracellular matrix stiffness and degradation as cancer drivers. *J Cell Biochem*.;120(3):2782-2790. doi: 10.1002/jcb.27681.
- 33. Ricard-Blum S.:** The Collagen family. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011; 3 (1). doi: 10.1101/cshperspect.a004978.
- 34. Ruan P., Gu Y., Zhou H. et al. (2020):** Expression and clinical significance of CD74 and MMP-9 in colon adenocarcinomas. *J Boun*.;25(2):927-932.
- 35. Shi M., Yu B., Gao H. et al. (2013):** Matrix metalloproteinase 2 overexpression and prognosis in colorectal cancer: a meta – analysis. *Mol Biol Rep*.; 40: 617-623. doi: 10.1007/s11033-012-2100-3.
- 36. Svagzdys S., Lesauskaite V., Pangonyte D. et al. (2011):** Matrix metalloproteinase-9 is a prognostic marker to predict survival of patients who underwent surgery due to rectal carcinoma. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 223(1):67-73. doi: 10.1620/tjem.223.67.
- 37. Tallant C., Marrero A., Gomas-Rüf. X. (2010):** Matrix metalloproteinases: fold and function of their catalytic domains. *Biochemica et Biophysica Acta*.; 1083 (1): 20-28. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.04.003.
- 38. Urban O. (2008):** Diagnostika kolorektálneho karcinómu. *Onkologie*. 2 (1): 9-11.
- 39. Urushibara F., Shiozawa E., Miyachi H. et al. (2018):** Expression of matrix metalloproteinase – 7 correlates with the invasion of T1 colorectal carcinoma. *Oncology Letters*.; 15: 3614-3620. doi: 10.3892/ol.2018.7746.
- 40. Vargová V., Pytliak M., Mechírová V. (2012):** Matrix Metalloproteinases; 103: 1 – 33. doi: 10.1007/978-3-0348-0364-9_1.
- 41. Zhu J., Hoop C.L., Case A.A. et al. (2018):** Cryptic binding sites become accessible through surface reconstruction of the type I collagen fibril. *Scientific Report*.8: 16646. doi: 10.1038/s41598-018-34616-z.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 129–131

BIOCHEMICKÉ ZÁPALOVÉ MARKERY – CESTA K EFEKTÍVNEJ ANTIBIOTICKEJ LIEČBE U KRITICKY CHORÉHO? BIOCHEMICAL INFLAMMATION MARKERS – THE WAY TOWARDS EFFECTIVE ANTIBIOTIC TREATMENT OF A CRITICAL PATIENT?

Palenčíková Erika, Pivovarníková Hedviga, Romanová Ľubomíra
Oddelenie anesteziológie a intenzívnej medicíny FNŠP J.A. Reimana, Prešov.

palencikova.erika@gmail.com

SÚHRN

Infekcia, sepsa a septický šok sú jedným z najčastejších dôvodov morbiditu a mortality u kriticky chorých pacientov na jednotkách intenzívnej starostlivosti. Kľúčovým momentom je včasná diagnostika a neodkladné zahájenie liečby. Určenie správnej diagnózy sa opiera o 3 piliere: a./ klinický obraz, b./ laboratórna diagnostika: mikrobiologický nález/ biochemické vyšetrenie, c./ zobrazovacie metódy. Biomarkery sa čoraz častejšie používajú u pacientov so závažnými infekciami v prostredí intenzívnej medicíny na doplnenie klinického hodnotenia a interpretácie iných diagnostických a prognostických testov. Hlavným cieľom vyšetovania takýchto krvných markerov je (1) zlepšiť diagnostiku infekcií (t. j. rozlíšenie medzi bakteriálnou vs. vírusovou vs. mykotickou vs. neinfekčnou príčinou), (2) pomôcť pri včasnej stratifikácii rizika a poskytnúť tak prognostické informácie o riziku mortality a iných nepriaznivých výsledkov a (3) optimalizovať podávanie antibiotík individuálnym potrebám pacientov („antibiotic stewardship“).

Kľúčové slová: sepsa; infekcia; antibiotická liečba; CRP; prokalcitonín; biomarkery

ABSTRACT

Infection, sepsis, septic shock are one of the most common reasons for morbidity and mortality of critical-

ly ill patients in intensive care units. The key moment is early diagnosis and immediate initiation of treatment. Determining the correct diagnosis is based on 3 pillars: a./ clinical picture, b./ laboratory diagnostics: microbiological findings/ biochemical examination, c./ radiological finding. Biomarkers are increasingly used in patients with serious infections in the critical care setting to complement clinical judgment and interpretation of other diagnostic and prognostic tests. The main purposes of such blood markers are (1) to improve infection diagnosis (i.e., differentiation between bacterial vs. viral vs. fungal vs. non-infectious), (2) to help in the early risk stratification and thus provide prognostic information regarding the risk for mortality and other adverse outcomes, and (3) to optimize antibiotic tailoring to individual needs of patients (“antibiotic stewardship”).

Key words: sepsis; infection; antibiotic treatment; CRP; procalcitonin; biomarkers

ÚVOD

Sepsa je hlavnou príčinou úmrtnosti a kritických ochorení na celom svete. Včasná a presná diagnostika sepsy a odlíšenie od neinfekčných príčin sú rozhodujúce pre rýchle zahájenie tekutinovej resuscitácie a antibiotickej liečby. Sepsa je charakterizovaná ako dysregulovaná re-

akcia hostiteľa na infikujúci patogén. Diagnostický algoritmus vo včasnej fáze rozvoja sepsy pozostáva zo 4 pilierov:

1. klinická diagnostika (4 SIRS kritéria, prítomnosť infekcie, prítomnosť MODS)
2. laboratórna diagnostika (využitie a význam setu biomarkerov zápalu a sepsy)
3. mikrobiologická diagnostika (prítomnosť patogénov , toxínov, bakteriálnej DNA)
4. zobrazovacie metódy (využitie USG, CT, NMR na diagnostiku ložiska infekcie)

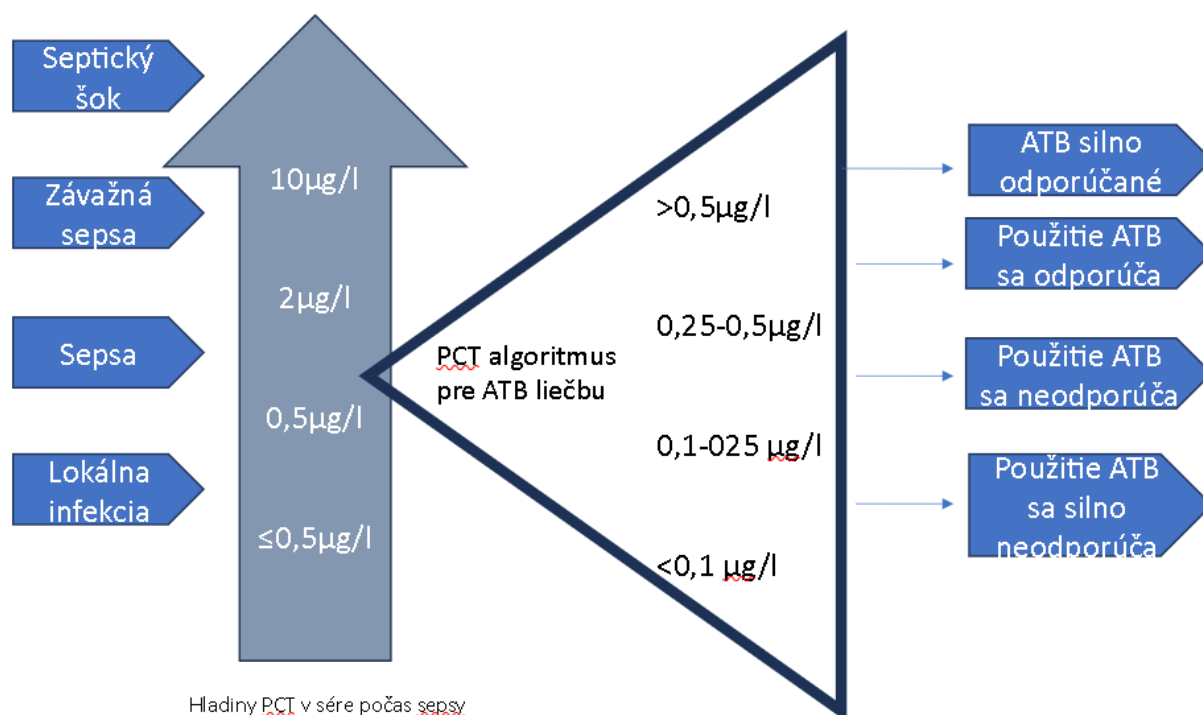
Klinicko-biochemická diagnostika sepsy

Klinicko-biochemická diagnostika sepsy využíva cirkulujúce bunky a endogénne látky (biomarkery), ktoré identifikujú systémový zápal, sepsu a SIRS, významne korelujú s patologickým procesom, kvantifikujú jeho závažnosť a majú prediktívnu a prognostickú hodnotu. Biomarkery systémového zápalu objektivizujú klinický stav a sú kľúčovým pilierom v diagnostike sepsy. U kriticky chorých pacientov so závažnými infekciami existujú tri hlavné oblasti, v ktorých môžu biomarkery zlepšiť klinický manažment : (1) zlepšiť diagnostiku infekcie (t. j. rozlíšenie medzi bakteriálnou vs. vírusovou vs. mykotickou infekciou vs. neinfekčné), čo sa môže premietnuť do lepšej empirickej

liečby pacienta, (2) pomôcť pri včasnej stratifikácii rizika a tým poskytnúť prognostické informácie, ktoré môžu zlepšiť rozhodnutia o mieste starostlivosti (napr. skoré prepustenie alebo eskalácia starostlivosti) a (3) optimalizovať terapeutické rozhodnutia (napr. pokiaľ ide o antibiotiká prispôbené individuálnym potrebám pacientov, termín nazývaný „antibiotic stewardship“)

Na laboratórnu diagnostiku sepsy a SIRS možno využiť niekoľko desiatok markerov, z ktorých prevažná časť nie je v rutinej klinickej praxi dostupná. Preto sa vyselektovalo 16 parametrov imunitne-zápalovej odpovede (IRS-16), z ktorých kľúčové postavenie má celkove 10 markerov: diferencovaný počet leukocytov (neutrofilov a lymfocytov), počet trombocytov a plazmatické hladiny prokalcitonínu, C-reaktívneho proteínu, albumínu, D-diméru, glukózy a celkového alebo HDL-cholesterolu.

Kinetika zápalových markerov sa vyznačuje značnou variabilitou, lebo je závislá od intenzity infekčného/neinfekčného inzultu, od získaných a vrodených predispozícií každého jedinca. Sepsa ako klinický syndróm sa vyznačuje tiež veľkou zápalovo-mediátorovou variabilitou v závislosti od infekčného agens (G+sepsa, G-sepsa, meningokoková sepsa, mykotická sepsa), od dispozície postihnutého jedinca. Panel zvolených zápalových markerov predstavuje kombináciu parametrov s rôznou kinetikou, rôznou



Obr. 1. PCT algoritmus pre ATB liečbu (zdroj Rhee, 2016)

senzitivitou a špecificitou pre systémový zápalu a sepsu.

V posledných rokoch sa využívanie biomarkerov zápalu na jednotkách intenzívnej starostlivosti exponenciálne zvýšilo. Najviac študovaným markerom je prokalcitonín (PCT) - hormón, ktorý sa uvoľňuje v rôznych tkanivách v tele ako odpoveď na sepsu spôsobenú bakteriálnymi infekciami prostredníctvom stimulácie cytokínov (napr. interleukín [IL]-1 β , faktor nekrózy nádorov [TNF]- α a IL-6). Zaujímavé je, že interferón-gama (INF- γ), cytokín uvoľňovaný ako odpoveď na vírusové infekcie, znižuje upreguláciu PCT. To vedie k vyššej špecificite PCT na rozlíšenie bakteriálnej od vírusovej infekcie. U zdravých osôb je PCT produkovaný C-bunkami štítnej žľazy. Je kódovaný génom CALC1 lokalizovaným na 11. chromozóme. Je syntetizovaný ako preprokalcitonín, z ktorého vzniká PCT, ktorý je zložený z 116 aminokyselín. Ten sa nakoniec štiepi na 3 molekuly: aktívny kalcitonín, katakalcin a N-prokalcitonín. Takmer celý PCT vytvorený v C- bunkách je konvertovaný na kalcitonín. PCT sa do cirkulácie za normálnych okolností neuvolňuje a jeho hladina u zdravých jedincov je nízka (0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). V priebehu zápalu je PCT produkovaný dvoma mechanizmami: priamou cestou indukovanou lipopolysacharidmi a ďalšími toxickými metabolitmi mikrobov a nepriamou cestou, ktorá je indukovaná mediátormi zápalu ako sú IL-6, TNF- α ... Viaceré práce ukazujú, že hladiny PCT sa medzi 2. a 6. hodinou od začiatku bakteriálnej infekcie rýchlo zvyšujú a vrchol dosahujú za 6-24 hodín.

PCT je biomarker, ktorý umožňuje včasnú diagnostiku sepsy, ale tiež monitorovanie antimikrobiálnej liečby (Obr. 1). Je užitočným nástrojom antibiotickej politiky a jeho využitie môže výrazne redukovať zbytočné podávanie antibiotík (ATB).

ZÁVER

Pri posudzovaní významu biomarkerov v diagnostike a monitorovaní septických stavov je dôležité, že:

- markery systémového zápalu sú neoddeliteľnou súčasťou diagnostického procesu a objektivizujú intenzitu zápalového procesu. Pomáhajú pri klinickom rozhodovaní.
- optimálne vyšetrujeme panel markerov – 10-16 parametrov z 5 kľúčových skupín.
- parametre vyšetrujeme z krvi pacienta v stanovených časových intervaloch (optimum 5x za 48 hodín). Zdôrazňujeme pritom dynamiku zmien hodnôt markera.
- Intenzitu zápalovej odpovede zaraďujeme do 4 stupňov/pásiem. Kombinácie týchto parametrov s rôznou kinetikou objektivizujú zápalový stav v čase a umožňujú predchádzať chybným hodnoteniam pre značnú laboratórnu variabilitu septických stavov.

LITERATÚRA

1. Zhang, T. et al. (2017) Procalcitonin-guided antibiotic therapy in critically ill adults: a meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 17, 514 (2017). doi: 10.1186/s12879-017-2622-3.
2. Vijayan A. L. et al. (2017) Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *J Intensive Care* 2017; 5: 51, doi: 10.1186/s40560-017-0246-8.
3. Rhee C. (2016) Using Procalcitonin to Guide Antibiotic Therapy. *Open Forum Infect Dis.* 2016 Dec 7;4(1):ofw249. doi: 10.1093/ofid/ofw249.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 132–136

BIOCHEMICKÉ STANOVENIE BIOMARKEROV ISCHÉMIE A ZÁPALU AKO SKORÁ DIAGNOSTIKA ROZPADU ČREVNEJ ANASTOMÓZY BIOCHEMIC EVALUATION OF BIOMARKER OF ISCHEMIA AND INFLAMMATION AS EARLY DETECTION OF ANASTOMOTIC LEAK

Sukovský Lukáš¹, Tomečková Vladimíra², Sukovská Lakyová Lucia¹,
Chandoga Ján³, Radoňak Jozef¹

¹ I. chirurgická klinika, UPJŠ LF, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

² Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

³ Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky, Ústav lekárskej biológie,
genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Nemocnica Staré Mesto

lukas.sukovsky@seznam.cz

SÚHRN

Chirurgická liečba kolorektálneho karcinómu prináša komplikácie ako je rozpad črevnej anastomózy. V súčasnosti okrem klinického vyšetrenia a zobrazovacích metód bolo navrhnutých aj viacero prediktorov, akými sú biomarkery ischémie, zápalu, či tkanivovej reparácie. Do klinickej prospektívnej štúdie bolo zaradených 54 pacientov, ktorí boli operovaní pre kolorektálny karcinóm. Pacienti boli rozdelení do troch skupín: skupina B – pacienti bez dehiscencie anastomózy, skupina D pacienti s dehiscenciou anastomózy a skupina C – pacienti po operácii, ale bez resekcijného výkonu. Z peritoneálnej tekutiny bola vyšetovaná glukóza, a pomer laktát/pyruvát, a z krvného séra sodík. Pomerom laktát/pyruvát a glukóza/laktát môžeme identifikovať pacientov so zvýšeným rizikom dehiscencie anastomózy. Stanovenie sodíka v krvnom sére nevykazoval žiaden rozdiel medzi sledovanými skupinami.

Kľúčové slová: dehiscencia črevnej anastomózy; pomer laktát/pyruvát; skorá diagnostika; peritoneálna tekutina

ABSTRACT

Surgical treatment of colorectal carcinoma faces complications like a dehiscence of intestinal anastomosis. At present, in addition to clinical and imaging methods, are tested few predictors as biomarkers of ischemia, inflammation biomarkers, or tissue repair biomarkers, 54 adult patients were collected in clinical prospective study, all of them underwent surgery because of colorectal carcinoma. The patients were divided into three groups: group B – patients without anastomotic leak, group D with anastomotic leak and control group C – patients after surgery without resection. We measured concentration of glucose and counted ratio lactate/pyruvate and glucose/lactate of peritoneal fluid, and measured sodium, from blood serum. Determination of lactate and ratio lactate/pyruvate and glucose/lactate allows early identification of patients with anastomotic leak. Sodium didn't show significant difference between groups.

Key words: dehiscence of intestinal anastomosis; ratio lactate/pyruvate; early diagnosis; peritoneal fluid

ÚVOD

Biomarkery môžu sledovať hojenie anastomóz, identifikovať vysoko rizikových pacientov pre vznik dehiscencií a poskytnúť včasnú diagnostiku dehiscencií. Hoci predklinický a klinický výskum v identifikácii nových biomarkerov naďalej pokračuje, žiaden z nich sa zatiaľ nedostal do používania v klinickej praxi. Uvedenie týchto metód do praxe je zložité, závisí od použiteľnosti samotnej metódy. Priame porovnanie jednotlivých biomarkerov je ťažké, nie len preto, že v štúdiách sú použité heterogénne populácie pacientov, veľa štúdií je retrospektívnych, čo znamená, že v priebehu štúdie sa môže meniť chirurgický tím, chirurgické postupy a pooperačný manažment pacientov. Štúdie sa líšia aj v načasovaní odberov krvných vzoriek alebo tekutiny z dutiny brušnej, tiež umiestnenie anastomózy môže byť rôzne. Štúdie neberú do úvahy liečbu, ktorá môže ovplyvniť zápalovú odpoveď ako sú užívanie statínov, steroidov, chemo alebo rádioterapiu. To všetko treba brať do úvahy hlavne pri stanovení hraničných hodnôt. Tieto rozdiely nepochybne prispeli k významným odchýlkam v hraničných hodnotách biomarkerov pre dehiscenciu v jednotlivých štúdiách. Viacero štúdií poukazuje na to, že vzorky peritoneálnej tekutiny odobraté z brušných drénov poskytujú lepšie informácie o hojení anastomóz ako vzorky z krvi. Jednotlivé štúdie však neudávajú typ a umiestnenie drénu, čo spôsobuje značné problémy pri porovnávaní výsledkov. Tiež umiestnenie drénu môže ovplyvniť zloženie tekutiny (Jansson et al., 2004). Pohyby tela ako napríklad kašeľ môžu ovplyvniť polohu drénov, to znamená že zmeny v hladine biomarkerov v tekutine z drénov môžu súvisieť so zmenou polohy drénu skôr ako so zmenou stavu pacienta. Klinické využitie peritoneálnej tekutiny z poistných drénov po resekciách preto ostáva sporné. Pokiaľ ide o vývoj klinicky použiteľného testu, konkrétne biomarkery majú svoje obmedzenia. Biomarkery ako sú cytokíny alebo MMP sú nestále, znamená to, že vyšetrenie peritoneálnej tekutiny sa musí uskutočniť ihneď. Vyšetrenia ako ELISA alebo PCR sú drahé a aj keď sú v nemocnici dostupné ich laboratórne spracovanie vyžaduje dlhší čas.

METÓDA

Do štúdie bolo zaradených 54 dospelých pacientov ($n = 54$), ktorí boli hospitalizovaní a operovaní na I. chirurgic-

kej klinike UNLP a LF UPJŠ pre kolorektálny karcinóm v období od 01.03.2022 do 31.05.2023. Pacienti boli rozdelení do troch skupín: 1. V skupine pacientov bez dehiscencie anastomózy bolo 34 pacientov (skupina B). 2. Do druhej skupiny boli zaradení operovaní pacienti, u ktorých nebol realizovaný žiaden resekčný výkon na gastrointestinálnom trakte v počte 12 pacientov (skupina C). 3. V skupine pacientov s dehiscenciou anastomózy bolo 8 pacientov (skupina D).

Tekutinu z peritoneálnej dutiny sme odoberali z poistného (PVC) drénu zavedeného počas operácie do malej panvy (cavum Douglasi). Vzorky boli vyhodnocované prvých sedem pooperačných dní, čiže 24, 48, 72, 96, 120, 144 a 168 hodín od operačného výkonu. V týchto vzorkách sme stanovovali koncentráciu laktátu, pyruvátu a glukózy. Na simultánne meranie metabolitov (laktát, pyruvát) sa používa vzorka deproteinizovaná kyselinou choristou.

Vzorky tekutiny z dutiny brušnej sa ihneď po odbere z poistného drénu zmiešali s kyselinou chloristou HClO_4 za účelom deproteinizácie v pomere 1:2 (1 ml tekutiny a 2 ml kyseliny chloristej). Deproteinizácia použitím kyseliny chloristej zabráni glykolýze a musí byť vykonaná čo najskôr po odbere vzorky (do 5 minút). Vzorku kyseliny sme počas trvania experimentu skladovali v chladničke pri teplote 4°C . Zmes 1 ml tekutiny z dutiny brušnej a 2 ml kyseliny chloristej sme dôkladne pretrepali vortexom, aby sme získali hneď koagulát, ktorý sme následne centrifugovali 10 minút pri 3000 otáčkach za minútu pri teplote 4°C . Supernatant sme siahli do eppendorfy a zmrazili na teplotu -20°C . V týchto vzorkách bola stanovená koncentrácia laktátu a pyruvátu v spolupráci s Ústavom lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB na Oddelení molekulevej a biochemickej genetiky Nemocnica Staré mesto, Bratislava.

Koncentráciu laktátu a pyruvátu sme stanovovali na spektrofotometrickom prístroji Agilent CARY 60 UV-Vis.

Na štatistické výpočty bol použitý počítačový program IBM® SPSS® Statistics v.27. Aritmetickým priemerom a smerodajnou odchýlkou sú spracované priemerné hodnoty. Na porovnanie rozdielov medzi skupinami bol použitý nepárový Kruskal-Wallis test a Mann-Whitney U test. Za štatisticky významnú bola považovaná vypočítaná hodnota p menšia ako 0.05 ($p < 0.05$).

Stanovenie sodíka prebiehalo z krvného séra a bolo vykonávané štandardným spôsobom v laboratóriu UNLP.

VÝSLEDKY

Pomer laktát/pyruvát (L/P ratio)

Po stanovení koncentrácií laktátu a pyruvátu sme následne vypočítali pomer laktát/pyruvát (L/P ratio) vo všetkých troch skupinách. Medián pomeru laktát/pyruvát bol pre celé sledované obdobie v skupine B 41.59, v skupine C 32.33 a v skupine D 88.90 ($p < 0.001$).

Pri porovnaní medzi skupinami sme zaznamenali najväčšie štatisticky významné rozdiely medzi skupinami C – D ($p < 0.001$) a B – D ($p < 0.001$). Medzi skupinami B a C sme nezaznamenali počas celého sledovaného obdobia žiaden štatisticky významný rozdiel ($p = 0.098$).

Pri vzájomnom porovnaní medzi skupinami B – D a C – D sme nezaznamenali žiaden štatisticky významný rozdiel len na prvý pooperačný deň B–D ($p = 0.42$) a C–D ($p = 0.60$).

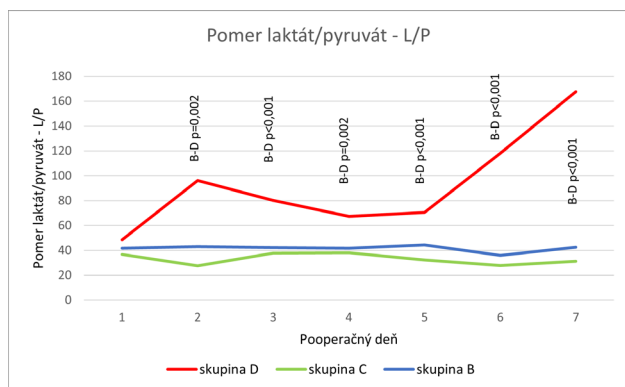
Naopak najväčší rozdiel sme zaznamenali na druhy pooperačný deň B–D ($p = 0.002$) a C–D ($p < 0.001$) a následne od piateho po siedmy pooperačný deň.

Glukóza/laktát

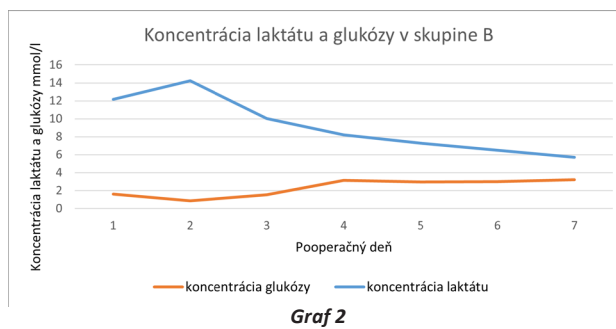
Sledovali sme koncentráciu laktátu a glukózy v skupinách B, C a D. Na jednotlivých grafoch je vidieť, že v skupine B a C pri súčasnom poklese koncentrácie laktátu dochádza k miernemu vzostupu koncentrácie glukózy (Graf 2, 3), zatiaľ čo v skupine pacientov s dehiscenciou pri vzostupe laktátu dochádza k poklesu koncentrácie glukózy (Graf 4).

Sodík

Koncentráciu sodíka z krvného séra sme stanovovali v skupinách B a D. Medián koncentrácie sodíka pre celé sledované obdobie v skupine B bol 138.7 mmol/l a v skupine D 137.1 mmol/l ($p = 0.02$). Štatisticky významný rozdiel v koncentrácii sodíka sme zaznamenali medzi skupinami B a D len na siedmy pooperačný deň (Graf 5).



Graf 1



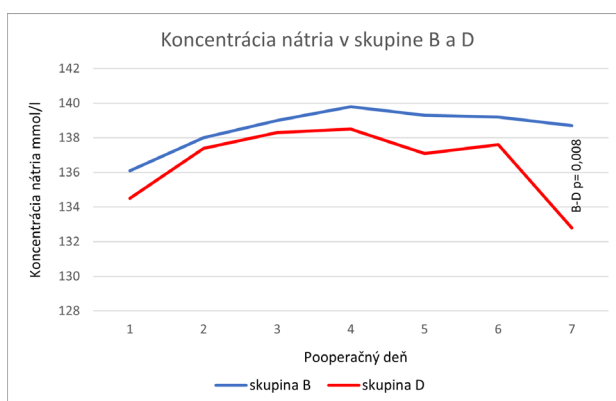
Graf 2



Graf 3



Graf 4



Graf 5

DISKUSIA

Najobávanejšou komplikáciou v kolorektálnej chirurgii je dehiscencia anastomózy. Jej vznik je ťažké predpovedať a nie je zriedkavá ani u pacientov bez zjavných rizikových faktorov. Aj napriek pooperačnému monitorovaniu týchto pacientov tímom chirurgov je dehiscencia anastomózy diagnostikovaná pomerne neskoro a to typicky na siedmy až jedenásty pooperačný deň. Skoršia diagnostika dehiscencie črevnej anastomózy by mala pre pacienta veľký prínos, pretože v procese ischémie, hypoxie, zápalu a dehiscencie anastomózy spojenej s rizikom infekcie dutiny brušnej by umožňovala prijať adekvátne klinické opatrenia skôr. To by viedlo k lepším výsledkom s nižšou morbiditou a mortalitou, ako aj lepšou onkologickou prognózou.

V našej štúdií sú laktát, pyruvát, vypočítaný pomer laktát/pyruvát – L/P ratio a glukóza biomarkermi intraperitoneálnej ischémie, hypoxie a zápalovej odpovede organizmu. V rámci metabolizmu sa glukóza premieňa na pyruvát, pri neprítomnosti kyslíka (anaerobný metabolizmus) je pyruvát premieňaný na laktát. Ak je dostatok kyslíka, pyruvát je spotrebovaný v Krebsovom cykle za tvorby energie. Preto pomer medzi laktátom a pyruvátom odzrkadľuje vzťah medzi aerobným a anaerobným metabolizmom. V prípade hojacej sa anastomózy v ischemickom teréne, dochádza k hypoxii tkaniva, čo spôsobuje prevahu anaerobného metabolizmu nad aerobným, a teda aj vyššej koncentrácie laktátu a zvýšeného pomeru laktát/pyruvát – L/P ratio. Protrahovaná ischémia v oblasti anastomózy vedie následne k nekróze črevnej steny a k dehiscencii anastomózy.

Po stanovení koncentrácie laktátu a pyruvátu sme následne vypočítali pomer laktát/pyruvát – L/P ratio. Medián pomeru laktát/pyruvát bol pre celé sledované obdobie v skupine B 41.59, v skupine C 32.33 a v skupine D 88.90 ($p < 0.001$). V skupine B a C sa tento pomer počas siedmich pooperačných dní výrazne nezvyšoval ani neznižoval. Naopak v skupine D môžeme pozorovať oproti skupine B vzostup pomeru L/P už na druhý pooperačný deň ($p = 0.002$) s jeho prechodným poklesom na tretí a štvrtý pooperačný deň a následným vzostupom od piateho ($p = 0.017$) po siedmy pooperačný deň ($p < 0.001$). Podobný priebeh krivky L/P pozoroval aj Oikonomakis. V štúdií publikovanej Janssonom bol štatisticky najvýznamnejší rozdiel L/P medzi skupinou pacientov bez dehiscencie a s dehiscenciou na piaty ($p = 0.029$) a šiesty ($p = 0.009$)

pooperačný deň. Najvyššia vypočítaná hodnota L/P - 198.0 v našej štúdií bola u pacienta s dehiscenciou anastomózy po resekcii rekta podľa Dixona na šiesty pooperačný deň. V štúdií publikovanej Janssonom boli najvyššie hodnoty L/P - 90 u pacienta taktiež s dehiscenciou na tretí pooperačný deň. Na základe výsledkov štúdie publikovanej Matthiesenom autori zistili, že pomer L/P nad 20 a absencia poklesu L/P počas prvých dvoch pooperačných dní je indikátorom dehiscencie anastomózy (M a t t h i e s s e n, 2006). V našej štúdií môžeme formulovať záver, že u pacientov s vysokým rizikom dehiscencie anastomózy, je pomer L/P vyšší ako 50 a taktiež je absencia poklesu hodnoty L/P počas prvých dvoch pooperačných dní.

Hyponatrémia je bežne diagnostikovanou poruchou elektrolytov, ktorá bola navrhnutá aj ako biomarker zápalu a možný indikátor zápalu pobrušnice (K a s e r e t a l., 2013). Hladina sodíka je udržiavaná pomocou vazopresínu na základe intravaskulárneho objemu.

Hyponatrémia (<136 mmol/l) je prediktívny biomarker dehiscencie v kolorektálnej chirurgii (K a s e r e t a l., 2014). Štúdiá zahŕňajúca 1025 pacientov ukázala že u 23 % pacientov s dehiscenciou a u 15 % pacientov bez dehiscencie bola prítomná hyponatrémia. Leukocytózu malo 12 z 19 pacientov, ktorí mali hyponatrémiu a dehiscenciu. Hyponatrémia na piaty pooperačný deň má 23 % senzitivitu a 93 % špecificitu, 97 % negatívnu prediktívnu hodnotu a 5 % pozitívnu prediktívnu hodnotu pre diagnostiku dehiscencie. Hyponatrémia v kombinácii s leukocytózou má 68 % senzitivitu, 75 % špecificitu, pozitívnu prediktívnu hodnotu 18 % a negatívnu prediktívnu hodnotu 97 %. Kvôli nízkej senzitivite 23 %, neprítomnosť hyponatrémie nemôže vylúčiť prítomnosť dehiscencie. Špecificita hyponatrémie pre dehiscenciu je vysoká, hlavne ak je prítomná aj leukocytóza, to zvyšuje podozrenie na prítomnosť dehiscencie. Medián koncentrácie sodíka pre celé sledované obdobie v skupine B bol 138.7 mmol/l a v skupine D 137.1 mmol/l ($p = 0.02$). Štatisticky významný rozdiel v koncentrácii sodíka sme zaznamenali medzi skupinami B a D len na siedmy pooperačný deň ($p = 0.008$).

Medián koncentrácie glukózy z dutiny brušnej bol počas celého sledovaného obdobia v skupine B 2.55 mmol/l, v skupine C 3.45 mmol/l a v skupine D 0.04 mmol/l ($p < 0.001$).

Pri vzájomnom porovnaní medzi skupinami B a D bol zaznamenaný štatisticky významný rozdiel od štvrtého po siedmy pooperačný deň ($p < 0.001$). Naproti tomu

v štúdií publikovanej Oikonomakisom bol medián glukózy u pacientov bez dehiscencie 7.06 mmol/l a u pacientov s dehiscenciou 6.66 mmol/l, nezaznamenal teda žiadnu štatisticky významnú odchýlku u pacientov s dehiscenciou anastomózy a bez nej ($p = 0.56$), (O i k o n o m a k i s, J a n s s o n et al. 2019) . Naopak J a n s s o n vo svojej štúdií popisuje pri hypoxii pokles koncentrácie glukózy. V prípade ischémie a následnej dehiscencie anastomózy (skupina D), sme dospeli k rovnakému záveru, kedy sa hladina laktátu zvyšovali a koncentrácia glukózy klesala až k nulovým hodnotám. V prípade pacientov bez dehiscencie anastomózy (skupina B), alebo bez resekcijného výkonu (skupina C) mal vzťah koncentrácie laktátu a glukózy opačný priebeh. Zatiaľ čo sa koncentrácia laktátu od druhého až po siedmy pooperačný deň pozvoľna znižovala, koncentrácia glukózy stúpala.

ZÁVER

Výsledky našej prospektívnej štúdie dokazujú, že pomerom laktát/pyruvát a glukóza/laktát môžeme identifikovať pacientov so zvýšeným rizikom dehiscencie anastomózy. Stanovenie sodíka z krvného séra nevykazovali žiaden rozdiel medzi sledovanými skupinami.

LITERATÚRA

Jansson, K., et al. (2004) "Postoperative on-line monitoring with intraperitoneal microdialysis is a sensitive clinical method for measuring increased anaerobic metabolism that correlates to the cytokine response." *Scand J Gastroenterol* 39(5): 434-439.

Kaser, S. A., et al. (2014) "Could hyponatremia be a marker of anastomotic leakage after colorectal surgery? A single center analysis of 1,106 patients over 5 years." *Langenbecks Archives of Surgery* 399(6): 783-788.

Kaser, S. A., et al. (2013) "Hyponatremia is a specific marker of perforation in sigmoid diverticulitis or appendicitis in patients older than 50 years." *Gastroenterol Res Pract* 462891.

Matthiessen, P. (2006): "Risk factors for anastomotic leakage after anterior resection of the rectum." *Colorectal Dis* 8(4): 366.

Oikonomakis, I., et al. (2019) "Results of postoperative microdialysis intraperitoneal and at the anastomosis in patients developing anastomotic leakage after rectal cancer surgery." *Scand J Gastroenterol* 54(10): 1261-1268.



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 137–141

EXTRAKT Z LEVANDULE STIMULUJE HIPOKAMPÁLNU NEUROGENÉZU POČAS DEPRESII PODOBNÝCH STAVOV LABORATÓRNYCH ZVIERAT LAVENDER EXTRACT STIMULATES HIPPOCAMPAL NEUROGENESIS DURING DEPRESSION-LIKE STATE OF LABORATORY ANIMALS

Urbanská Nicol, Kukeľová Diana, Kisková Terézia

Ústav biologických a ekológických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach,
Košice

terezia.kiskova@upjs.sk

SÚHRN

Depresia je bežná neurologická porucha, ktorá postihuje takmer každého štvrtého človeka počas života. Liečba depresie je finančne náročná a sprevádzajú ju mnohé vedľajšie účinky antidepresív. Levanduľa sa v tradičnej medicíne používa pre svoje predpokladané antidepresívne vlastnosti ako aromaterapeutický prostriedok. Niektoré indicie poukazujú na to, že levanduľa by mohla pôsobiť i na úrovni hipokampu. Preto cieľom tejto štúdie bolo určiť účinky levanduľového extraktu na proliferáciu aktivitu hipokampálnych prekursorov počas stresom vyvolanej depresie potkanov kmeňa Wistar. Levanduľa spôsobila významné zvýšenie počtu mitoticky aktívnych buniek v hile hipokampu u samcov a samíc a v subgranulárnej zóne u samíc v porovnaní s depresívnymi zvieratami, pričom počet buniek dosiahol úroveň proliferácie prekursorov zdravých jedincov. Levanduľa teda môže byť schopná zvýšiť proliferáciu aktivitu hipokampálnych prekursorov počas depresie.

Kľúčové slová: depresia; levanduľový extrakt; neurogenéza; hipokampus

ABSTRACT

Depression is a common neurological disorder affecting almost every fourth person during the life. Natural

substances do not have side effects at a certain dose, and could potentially supplement the standard treatment. Lavender is used in traditional medicine because of its presumed antidepressant properties as an aromatherapeutic agent. There are some indices assuming that lavender may act at hippocampal level. Thus, this study aims to determine the effects of lavender extract on the proliferative activity of hippocampal precursors during stress-induced depression in Wistar rats. Lavender caused a significant increase in the number of mitotically active cells in hilus of hippocampus in males and females and subgranular zone in females when compared to depressive animals, with cell numbers reaching the precursor proliferation level of healthy subjects. Thus, lavender may be able to increase proliferative activity of hippocampal precursors during depression.

Key words: depression; lavender extract; neurogenesis; hippocampus;

ÚVOD

Depresívne ochorenia patria medzi neurologické ochorenia, ktoré okrem ťažkostí samotnému postihnutému človeku spôsobujú i ťažkosti celej spoločnosti. Depresívni pacienti pociťujú fyzické bolesti, nechúť k životu, čo vedie k dlhodobej práceneschopnosti a k ekonomickej

zaťaženosti (Greenberg et al., 2021). Je dlhšie známe, že depresia sa spája s morfológickými a funkčnými zmenami v mozgových štruktúrach, akými sú amygdala, prefrontálna kôra a hipokampus (Vaváková et al., 2015). Zistilo sa, že hipokampus je citlivý na účinky hormónov uvoľňovaných počas stresových zážitkov (Krishnan and Nestler, 2008). Depresia sa v súčasnosti lieči štandardne rôznymi triedami antidepresív. Liečba depresie je však finančne náročná, väčšinou nie je úspešná a sprevádzajú ju mnohé vedľajšie účinky, ako napríklad srdcová arytmia alebo poškodenie mozgu (Ramic et al., 2020). Naproti tomu prírodné látky pri určitom dávkovaní nemajú vedľajšie účinky a potenciálne by mohli dopĺňať štandardnú liečbu. Levanduľa (LAV) sa v tradičnej medicíne používa pre svoje predpokladané antidepresívne vlastnosti ako aromaterapeutický prostriedok. Nateraz bola publikovaná jediná štúdia, v ktorej bola dokázaná aktivita LAV i na hipokampálnej úrovni (Sánchez-Vidaña et al., 2019). Cieľom našej štúdie bolo teda zhodnotiť účinky alkoholového extraktu LAV podávaného denne *per os* na neurogéne oblasti hipokampu počas stresom-indukovaného depresívneho stavu laboratórnych potkanov.

METÓDA

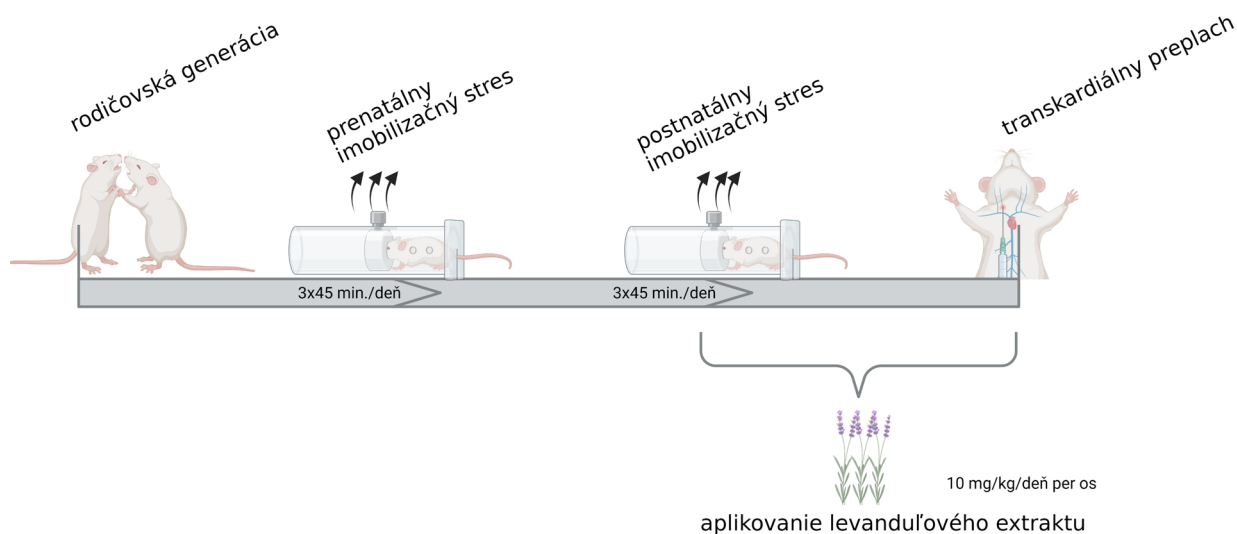
Experimentálny dizajn

V samotnom experimente sme pracovali s F1 generáciou samcov a samíc kmeňa Wistar podľa experimentálneho dizajnu (obrázok 1).

Rodičovská generácia potkanov kmeňa Wistar (Dobrá Voda, Slovenská republika) pozostávala zo štyroch samíc a štyroch samcov. Zvieratá boli adaptované na štandardné podmienky zvieratníka s teplotou 21–24 °C, relatívnou vlhkosťou 50–65 % a svetelným režimom 12/12 hodín (svetlo/tma). Zvieratá boli kŕmené štandardnou peletizovanou potravou (Peter Miško, Snina, Slovenská republika) a mali voľný prístup k pitnej vode. Samce so samicami sme pripustili a po preukázaní gravidity sme samice rozdelili na dve skupiny – kontrolné matky (CONT, n=2) a matky, ktorým sme neskôr aplikovali stres (DEP, n=2). Po pôrode bolo potomstvo 30 dní držané spolu s matkami a následne rozdelené podľa pohlavia do samostatných klieťok. Samce vytvorili nasledovné skupiny: Skupina CONT (n=7) ako potomstvo matky CONT a skupina DEP (n=7) a skupina LAV (n=5) ako potomstvo matky DEP. Samice vytvorili tri skupiny: Skupina CONT (n=7) ako potomstvo matky CONT a skupina DEP (n=8) a skupina LAV (n=5) ako potomstvo matky DEP. So zvieratami sa zaobchádzalo podľa usmerení stanovených zákonom NR SR č. 377 a 436/2012 Z. z. o starostlivosti o laboratórne zvieratá a ich používaní, a so schválením Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR (Ro-2866/16-221).

Indukovanie depresie imobilizačným stresom

Matky zo skupiny DEP boli v poslednom týždni gravidity vystavené znehybneniu v imobilizačných boxoch trikrát denne po dobu 45 minút, tri po sebe nasledujúce dni. Týmto spôsobom sme zabezpečili potomstvu tzv.



Obrázok 1: Experimentálny dizajn. Zvieratá z rodičovskej generácie boli pripustené a po potvrdení gravidity boli samice rozdelené do experimentálnych skupín. Potomstvo bolo podrobené prenatálnemu a postnatálnemu stresu. Následne boli samce a samice ovplyvňované levanduľovým extraktom po dobu 30 dní.

prenatálny stres, ktorým sme vulnabilizovali potomstvo na následný postnatálny stres. Potomstvo zo skupín DEP a LAV bolo stresované opakovane; vo veku 60 dní s použitím rovnakej schémy imobilizácie. Tento stres sa nazýva postnatálny stres.

Aplikovanie extraktu z levandule

11 g kvetov LAV (Košice, Slovensko) sme nechali macerovať v 100 ml 70%-ého roztoku etanolu počas dvoch týždňov v tme pri 4 °C. Po filtrácii sa čistý alkoholový extrakt uchovával pri teplote 4 °C. Zvieratám bol LAV roztok pripravovaný denne čerstvý v pitnej vode v pomere 1:10. Aplikovaný bol perorálne v dávke 100 µl po dobu 14 dní okamžite po postnatálnom strese.

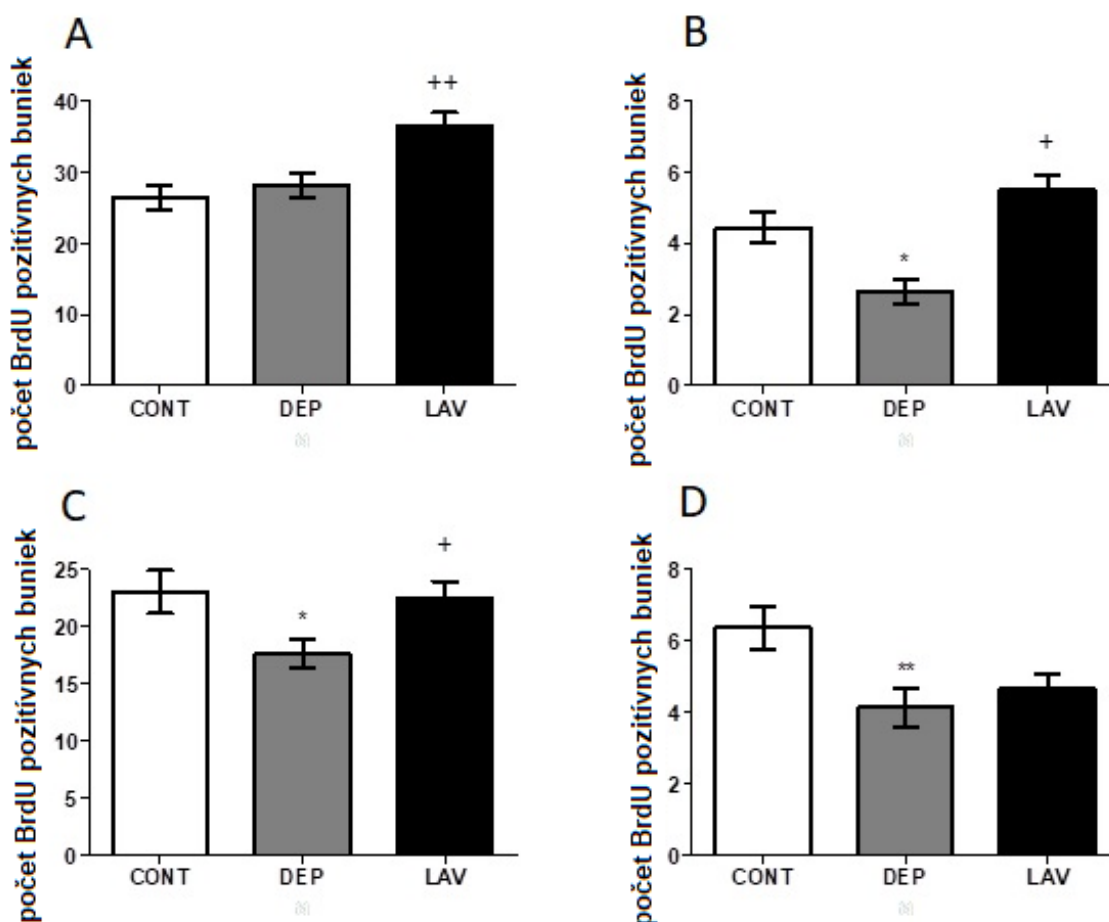
Fixácia mozgu, imunohistochemické farbenie proliferatívnych a zrelých buniek

Úroveň hipokampálnej neurogenézy sme zisťovali pomocou inkorporácie 5-bromo-2-deoxyuridínu (BrdU) do DNA mitoticky aktívnych buniek a ich následnom znače-

ní. Zvieratá dostávali intraperitoneálne injekcie 5-bromo-2-deoxyuridínu (BrdU, Sigma) v dávke 100 mg/kg denne po dobu troch po sebe idúcich dní. Po poslednom injektovaní boli zvieratá uspaté izofluránom a usmrtené transkardiálnym preplachom cez ľavú srdcovú komoru. Mozgy boli vyexcidované a po dobu 24 hodín fixované v 4%-nom roztoku paraformaldehydu. Následne sme ich presunuli do roztoku 30% sacharózy kvôli kryoprotekcii. Koronárne sekcie mozgu (30 µm) boli imunohistochemicky značené tak, ako už bolo popísané v publikácii (Pipová Kokošová et al., 2020).

Štatistická analýza

Na štatistickú analýzu sme použili softvérový balík GraphPad Prism 8.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Hodnoty sú vyjadrené ako priemer ± SD a na porovnanie rozdielov medzi kontrolnými a depresívnymi vzorkami a depresívnou a liečebnou skupinou sa použil Studentov t-test. Hladina štatistickej významnosti bola stanovená na $p < 0.05$.



Obrázok 2: Počet BrdU pozitívnych buniek v hipokampálnej štruktúre potkanov Wistar. Počet buniek v oblasti hilus hipokampu u samíc (A) a samcov (C), ako aj v subgranulárnej zóne u samíc (B) a samcov (D). Údaje sú vyjadrené ako aritmetický priemer ± smerodajná odchýlka. Signifikancia oproti CONT je pri * $p < 0.05$ a ** $p < 0.01$. Signifikancia oproti DEP je pri + $p < 0.05$ a ++ $p < 0.01$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Neustále narastajú dôkazy, že depresia je rizikovým faktorom a negatívnym prognostickým ukazovateľom mnohých ochorení, napr. srdcových chorôb, mŕtvice, rakoviny, HIV/AIDS, či cukrovky (Blume et al., 2011, Stefan et al., 2020, Thaipisuttikul et al., 2014). Obmedzenie mobility, alebo tzv. imobilizačný stres, je jedným z modelov stresu, ktorý v sebe spája fyzickú a psychickú záťaž organizmu, čo vedie k depresii či posttraumatickej stresovej poruche (Madrugal et al., 2003, Son et al., 2019). Postnatálna neurogenéza v hipokampe zohráva kľúčovú úlohu v patológii klinickej depresie, a preto sa predpokladá, že by mohla byť dôležitým bodom jej úspešnej liečby (Jacobs et al., 2000, Micheli et al., 2018). V súlade s touto teóriou sme zistili výraznú inhibíciu mitoticky aktívnych BrdU pozitívnych buniek v hipokampe počas depresie v DEP skupinách oproti CONT skupinám, a to aj v subgranulárnej zóne (SGZ), ako aj v oblasti hilus hipokampu (obrázok 2).

Na druhej strane ostal počet zrelých neurónov v oblasti hilus, a v CA1 a granulárnej vrstve nezmenený (Tabuľka 1). Stres teda nebol taký intenzívny, aby mohol zmeniť počet neurónov v hipokampe.

Tabuľka 1: Počet NeuN pozitívnych neurónov v hipokampe

		CONT	DEP	LAV
♀	hilus	82.1±14.1	86.6±16.9	71.80±19.47
	CA1 vrstva	118.9±20.25	115.4±31.55	112.8±16.14
	granulárna vrstva	238.2±46.00	214.0±54.54	209.2±52.12
♂	hilus	83.10±16.95	74.78±20.47	80.17±19.43
	CA1 vrstva	112.2±27.29	119.12±6.22	103.0±13.94
	granulárna vrstva	232.0±47.20	225.1±33.65	265.7±36.61

Údaje sú vyjadrené ako aritmetický priemer ± smerodajná odchýlka

LAV sa v herbálnej medicíne používa už desaťročia. Pozostáva z mnohých polyfenolov, ako sú terpény (napríklad linalool, eukalyptol alebo lavandulol) alebo ketóny (napríklad gáfor) (Prusinowska and Śmigielski, 2014). Existuje niekoľko ukazovateľov opisujúcich potenciálny účinok LAV počas inhalácie prostredníctvom limbického systému, čiastočne prostredníctvom amygdaly a hipokampu (Cavanagh and Wilkinson, 2002). Nateraz bola publikovaná jediná štúdia, v ktorej bola dokázaná aktivita LAV i na hipokampálnej úrovni. Extrakt z LAV bol pripravený ako 2,5% emulzia v Tween-20 a bol podávaný potkanom ako aromaterapeutikum po dobu 14 dní počas kortikosterónom vyvolanej depresie (Sánchez-Vidaña et al., 2019). V našej štúdii sme vytvorili extrakt LAV macerovaním a zriedením

alkoholu na minimum. Extrakt bol podobne ako v predchádzajúcej štúdii podávaný po dobu 14 dní. Zvolili sme inú cestu podania, pretože je dokázané, že iné cesty podávania látok majú iné účinky. Perorálne podávanie extraktu LAV spôsobilo zvýšenie počtu mitoticky aktívnych buniek v oblasti hilus hipokampu u oboch pohlaví a v SGZ samíc (obrázok 2). U samcov sme pozorovali mierny nárast, ktorý ostal nevýrazný. Tento účinok LAV môže byť spôsobený zmenou hladín faktora BDNF (brain-derived neurotrophic factor) v sére, ako popisujú autori (Sánchez-Vidaña et al., 2019).

ZÁVER

V súčasnosti sú zlatým štandardom v liečbe depresie antidepresíva rôznych typov. Napriek adekvátnej monoterapii antidepresívami väčšina pacientov s depresiou nedosahuje remisiu. Dokonca aj optimálna a agresívna liečba vedie k tomu, že značný počet pacientov vykazuje minimálne a často len prechodné zlepšenie (Rakofsky et al., 2009). Na druhej strane, antidepresíva majú mnoho vedľajších účinkov (Ferguson, 2001). Preto by sa mali viac uprednostňovať prírodné látky, ktoré pri určitých dávkach nemajú vedľajšie účinky a potenciálne by sa mohli používať ako doplnok štandardnej liečby. LAV by sa mohol stať úspešnou alternatívou či doplnením štandardnou liečbou.

LITERATÚRA

1. Blume, J., Douglas, S. D. and Evans, D. L. (2011) 'Immune suppression and immune activation in depression', *Brain, behavior, and immunity*, 25(2), pp. 221-229. doi: 10.1016/j.bbi.2010.10.008.
2. Cavanagh, H. and Wilkinson, J. (2002) 'Biological activities of lavender essential oil', *Phytotherapy research*, 16(4), pp. 301-308. doi: 10.1002/ptr.1103.
3. Ferguson, J. M. (2001) 'SSRI antidepressant medications: adverse effects and tolerability', *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry*, 3(1), pp. 22. doi: 10.4088/pcc.v03n0105.
4. Greenberg, P. E., Fournier, A.-A., Sisitsky, T., Simes, M., Berman, R., Koenigsberg, S. H. and Kessler, R. C. (2021) 'The economic burden of adults with major depressive disorder in the United States (2010 and 2018)', *Pharmacoeconomics*, 39(6), pp. 653-665. doi: 10.1007/s40273-021-01019-4.
5. Jacobs, B. L., Van Praag, H. and Gage, F. (2000) 'Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression', *Molecular psychiatry*, 5(3), pp. 262-269. doi: 10.1038/sj.mp.4000712.

6. **Krishnan, V. and Nestler, E. J. (2008)** 'The molecular neurobiology of depression', *Nature*, 455(7215), pp. 894-902. doi: 10.1038/sj.mp.4000712.
7. **Madrigal, J., Caso, J., De Cristobal, J., Cardenas, A., Leza, J., Lizasoain, I., Lorenzo, P. and Moro, M. (2003)** 'Effect of subacute and chronic immobilisation stress on the outcome of permanent focal cerebral ischaemia in rats', *Brain research*, 979(1-2), pp. 137-145. doi: 10.1016/s0006-8993(03)02892-0.
8. **Micheli, L., Ceccarelli, M., D'Andrea, G. and Tirone, F. (2018)** 'Depression and adult neurogenesis: Positive effects of the antidepressant fluoxetine and of physical exercise', *Brain research bulletin*, 143, pp. 181-193. doi: 10.1016/j.brainres-bull.2018.09.002.
9. **Pipová Kokošová, N., Kisková, T., Vilhanová, K., Štafuriková, A., Jendželovský, R., Račeková, E. and Šmajda, B. (2020)** 'Melatonin mitigates hippocampal and cognitive impairments caused by prenatal irradiation', *European Journal of Neuroscience*, 52(6), pp. 3575-3594. doi: 10.1111/ejn.14687.
10. **Prusinowska, R. and Śmigielski, K. B. (2014)** 'Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender L). A review', *Herba polonica*, 60(2), pp. 56-66. doi: 10.2478/hepo-2014-0010.
11. **Rakofsky, J. J., Holtzheimer, P. E. and Nemeroff, C. B. (2009)** 'Emerging targets for antidepressant therapies', *Current opinion in chemical biology*, 13(3), pp. 291-302. doi: 10.1016/j.cbpa.2009.04.617.
12. **Ramic, E., Prasko, S., Gavran, L. and Spahic, E. (2020)** 'Assessment of the antidepressant side effects occurrence in patients treated in primary care', *Materia socio-medica*, 32(2), pp. 131. doi: 10.5455/msm.2020.32.131-134.
13. **Sánchez-Vidaña, D. I., Po, K. K.-T., Fung, T. K.-H., Chow, J. K.-W., Lau, W. K.-W., So, P.-K., Lau, B. W.-M. and Tsang, H. W.-H. (2019)** 'Lavender essential oil ameliorates depression-like behavior and increases neurogenesis and dendritic complexity in rats', *Neuroscience letters*, 701, pp. 180-192. doi: 10.1016/j.neulet.2019.02.042.
14. **Son, H., Yang, J. H., Kim, H. J. and Lee, D. K. (2019)** 'A chronic immobilization stress protocol for inducing depression-like behavior in mice', *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (147), pp. e59546. doi: 10.3791/59546.
15. **Steffen, A., Nübel, J., Jacobi, F., Bätzing, J. and Holstiege, J. (2020)** 'Mental and somatic comorbidity of depression: a comprehensive cross-sectional analysis of 202 diagnosis groups using German nationwide ambulatory claims data', *BMC psychiatry*, 20(1), pp. 1-15. doi: 10.1186/s12888-020-02546-8.
16. **Thaipisuttikul, P., Ittasakul, P., Waleeprakhon, P., Wisajun, P. and Jullagate, S. (2014)** 'Psychiatric comorbidities in patients with major depressive disorder', *Neuropsychiatric disease and treatment*, pp. 2097-2103. doi: 10.2147/NDT.S72026.
17. **Vaváková, M., Ďuračková, Z. and Trebatická, J. (2015)** 'Markers of oxidative stress and neuroprogression in depression disorder', *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015. doi: 10.1155/2015/898393.



- to create guidelines, criteria, key recommendations, and checklists aimed to implement good environmental and **sustainable** practices in medical laboratories
- to guide EFLM National Societies and clinical laboratories in the transition to Green Labs
- to monitor the status of laboratories issued biennial Green Labs **certification** along the years allowing laboratories to improve their conditions through a continuous improvement process

The EFLM Task Force for **Green** and **Sustainable** Laboratories



Green Labs



EFLM guidelines for **Green** and **Sustainable** Medical Laboratories

ISBN 979-12-210-1814-1

24 National Experts

A group of National Green Lab Experts have been formed by the TF-GSL to promote and implement sustainable practices in laboratories within their National Societies and to act as mentors for those undergoing the EFLM certification process to become Green & Sustainable Labs



Contribution of Laboratory Medicine to sustainable healthcare system: ensure that resources are used efficiently from ecological, social and economical perspectives while providing high quality services to patients and clinicians

EFLM TF-GSL MISSION IS IMPLEMENTATION OF SUSTAINABLE PRACTICES IN MEDICAL LABORATORIES: SWITCHING CLINICAL LABORATORIES TO GREEN LABS!

The EFLM Green Labs certification programme!



A special issue of CCLM is dedicated to the lectures and contributions presented at the EFLM 3rd Strategic Conference 2022 "Implementing Emerging Technologies, IVDR, and Sustainable Practices in Smart and Green Medical Laboratories. Opportunities and Challenges



Pod'akovanie

SSKB ďakuje partnerom za podporu pri organizovaní 15. ročníka pravidelnej odbornej konferencie s medzinárodnou účasťou LABKVALITA 2023 pod záštitou EFLM

vystavovateľom

2P Servis
Amedis
BIO G
Biohem
BioVendor
Eurolab Lambda
MGP
Mild Blue
Randox
RONER
Sarstedt
Shimadzu
Stapro

konanej 8.–10. októbra 2023 v Starej Lesnej vo Vysokých Tatrách



In memoriam - Zuzana Smolíková

*S úctou spomíname a ďakujeme za všetku vykonanú prácu pri vytváraní grafickej podoby
Laboratórnej Diagnostiky, v prospech dobrého mena časopisu,
ako i Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie.*