FOLIA

PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

Vedecký časopis
UNIVERZITY VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA
A FARMÁCIE V KOŠICIACH

ISSN 2585-9609
ISSN 2729-790X

1

V • 2023

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA je vedecký časopis vydávaný Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. Časopis je vydávaný štvrťročne s príspevkami v slovenskom, českom alebo anglickom jazyku s abstraktom v angličtine.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA is a scientific journal issued by the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, the Slovak Republic. The journal is published quarterly with articles in English, or Slovak or Czech with English abstracts.

Šéfredaktorka/Editor-in-Chief: *Jozef Nagy*
Výkonná redaktorka/Deputy/Managing Editor: *Jana Koščová*
Redakčná rada/Editorial Board: *Abu-Darwish, M. S. (Shoubak, Jordan), Boknik, P. (Münster, Germany), Castejon, A. M. (Fort Lauderdale, Florida, USA), Csöllei, J. (Brno, Czech Republic), Deelman, L. E. (Groningen, Netherlands), Devinyak, O. (Uzhhorod, Ukraine, El Naggar, El M. B. A. (Damanhour, Egypt), Getova, D. (Plovdiv, Bulgaria), Kyselovič, J. (Košice, Slovak Republic), Leddy, J. J. (Ottawa, Canada), Mojžiš, J. (Košice, Slovak Republic), Klimas, J. (Bratislava, Slovak Republic), Mučaji, P. (Bratislava, Slovak Republic), Opatřilová, R. (Brno, Czech Republic), Pirník, Z. (Bratislava, Slovak Republic), Pistl, J. (Košice, Slovak Republic), Roh, J. (Hradec Králové, Czech Republic). Şekeroğlu, N., (Turkey, Kilis), Šimůnek, T. (Hradec Králové, Czech Republic), Zitterl, K. (Vienna, Austria)*

Vydavateľ/Publisher:
© Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2019
Adresa redakcie/Editor Address:
Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, e-mail: folia.pharma@uvlf.sk
Technická redaktorka/Technical Editor:
Holečková, Z., tel.: +421 917 729 873, e-mail: zuzana.holeckova@uvlf.sk
Grafická úprava/graphic design:
Báštiová, I.

ISSN: 2585-9609
EVČ: EV 5741/18
IČO: 00 397 474

On-line verzia časopisu sa nachádza na web sídle Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach:
http://www.uvlf.sk/univerzitne-casopisy/folia-pharmaceutica-cassoviensia-vytlacky.

Marec 2023

FOLIA
PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

VYDÁVA
UNIVERZITA VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA A FARMÁCIE V KOŠICIACH
SLOVAKIA

FOLIA
PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA
V., 1, 2023

PUBLISHED BY
THE UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE AND PHARMACY IN KOŠICE
2023

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1, 2023

O B S A H

Marcinčáková, Dana; Tkáč, Tomáš:
ANTIBIOTIKÁ PREDPISOVANÉ PRI LIEČBE LYMSKEJ BORELIÓZY A IMPLEMENTÁCIA ALTERNATÍVNYCH TERAPEUTICKÝCH POSTUPOV
ANTIBIOTICS PRESCRIBED FOR LYME DISEASE THERAPY AND IMPLEMENTATION OF ALTERNATIVE THERAPEUTIC APPROACHES 5

Šárošiová, Viera; Maková, Zuzana:
FARMAKOTERAPIA COVIDOVÝCH A POSTCOVIDOVÝCH PACIENTOV
PHARMACOTHERAPY OF COVID AND POST-COVID PATIENTS 15

Čitáková, Dominika; Čonková, Eva; Nemcová, Radomíra:
POROVNANIE INHIBIČNÉHO ÚČINKU BEZBUNKOVÝCH SUPERNATANTOV PROBIOTICKÝCH KULTÚR A ANTIMYKOTÍK VOČI *CANDIDA ALBICANS*
COMPARISON OF THE INHIBITION EFFECT OF CELL-FREE SUPERNATANTS OF PROBIOTIC CULTURES AND ANTIMYCOTICS AGAINST *CANDIDA ALBICANS* 24

Kasičová, Zuzana; Mochnáčová, Evelína; Bhide, Mangesh:
PREHĽAD SKUPÍN ANTIMIKROBIÁLNYCH TERAPEUTICKÝCH LÁTOK NA BÁZE PEPTIDOV A PROTEÍNOV A ICH VYUŽITIE V TERAPII INFEKČNÝCH OCHORENÍ (PREHĽADOVÝ ČLÁNOK)
OVERVIEW OF PEPTIDE- AND PROTEINS-BASED ANTIMICROBIAL THERAPEUTICS AND THEIR USE IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASES (REVIEW ARTICLE) 33

Pristášová, Veronika; Bedlovičová, Zdenka:
STANOVENIE ANTIOXIDAČNEJ AKTIVITY STRIEBORNÝCH NANOČASTÍC PRIPRAVENÝCH ZELENOU SYNTÉZOU
DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES PREPARED BY GREEN SYNTHESIS 52

Popovičová, Lucia; Váczi, Peter:
TRENDY V TERAPII A PREVENCII ROTAVÍRUSOVEJ INFEKCIE V PEDIATRICKEJ PRAXI
TRENDS IN THERAPY AND PREVENTION OF ROTAVIRUS INFECTION IN PEDIATRIC PRACTICE 62

Kseňáková, Alena; Bačkorová, Miriam:
HORMONÁLNA A NEHORMONÁLNA LIEČBA ŽIEN V MENOPAUZE
HORMONAL AND NON-HORMONAL TREATMENT OF WOMEN IN MENOPAUSE 71

Šufliarska, Renáta; Takáč, Peter; Hroncová, Silvia:
KOMBINOVANÁ FARMAKOTERAPIA *DIABETES MELLITUS* (KAZUISTIKA)
COMBINED PHARMACOTHERAPY OF *DIABETES MELLITUS* (CASE REPORT) 81

Koľová, Martina; Piešová, Elena:
DYSLIPOPROTEINÉMIA A JEJ FARMAKOTERAPIA V SÚČASNOSTI
DYSLIPOPROTEINEMIA AND ITS PHARMACOTHERAPY IN THE PRESENT 96

Rozman Antoliková, Natália:
INTERVENCIA FARMACEUTA V LIEČBE DEPRESÍVNEJ PORUCHY (KAZUISTIKA)
PHARMACIST INTERVENTION IN THE TREATMENT OF DEPRESSIVE DISORDER (CASE STUDY) 102

Pokyny pre autorov 114

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 5 – 14, 2023

ANTIBIOTIKÁ PREDPISOVANÉ PRI LIEČBE LYMSKEJ BORELIÓZY A IMPLEMENTÁCIA ALTERNATÍVNYCH TERAPEUTICKÝCH POSTUPOV

ANTIBIOTICS PRESCRIBED FOR LYME DISEASE THERAPY AND IMPLEMENTATION OF ALTERNATIVE THERAPEUTIC APPROACHES

Marcinčáková, Dana; Tkáč, Tomáš

Katedra farmakológie a toxikológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

dana.marcincakova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Cieľom štúdie bolo poukázať na využitie antibiotík a alternatívnych terapeutických postupov pri liečbe lymskej boreliózy, celkový efekt pri liečbe s ohľadom na pohlavie a vek pacientov a dobu terapie. Výsledok štúdie sme zhodnotili na základe získaných preskripčných záznamov (n = 5569), kde z celkového počtu pacientov (n = 3450) bolo 45 % mužov a 55 % žien. Najrizikovejšou skupinou boli pacienti vo veku do 70 rokov, ktorí predstavovali 26 % a pacienti do 60 rokov (25 %). Pri liečbe bolo najčastejšie predpisované antibiotikum doxycyklín, ktoré malo z celkového počtu preskripčných záznamov zastúpenie 32 %. Dôležitým aspektom bolo aj určenie samotnej terapie, kde u 40 % pacientov bola indikovaná monoterapia (najviac antibiotikom doxycyklín – 32 %) a u zvyšných 60 % pacientov z dôvodu neúčinnosti monoterapie alebo relapsu ochorenia bola indikovaná vhodná kombinovaná terapia (najčastejšie kombináciou doxycyklín a klaritromycín – 28 %). Pri terapii je potrebná maximálna spolupráca medzi pacientom a lekárom. Využívanie alternatívnych terapeutických postupov (napr. potravinové doplnky, procesy detoxikácie a alkalizácie organizmu) sa odporúča iba v prípade, ak prínos prevyšuje riziko.

Kľúčové slová: antibiotiká; kliešť; lymská choroba; účinnosť liečby

ABSTRACT

The aim of the study was to point out the use of antibiotics and alternative therapeutic approaches in the treatment of Lyme disease, to evaluate the overall effect in the treatment with the respect to gender and age of patients and treatment duration. We compared the obtained data. Using case reports, we evaluated the treatment and subse-

quent use of alternative therapeutic procedures. We evaluated the result of the study on the basis of the obtained prescription records (n = 5569), where 45 % of the total number of patients (n = 3450) were men and 55 % were women. The most at-risk group were patients under the age of 70, representing 26 %, and patients under the age of 60 (25 %). During treatment, the most commonly prescribed antibiotic was doxycycline, which accounted for 32 % of the total prescribing records. An important aspect was also the determination of the therapy itself where 40 % of patients indicated monotherapy (mostly antibiotic doxycycline – 32 %) and the remaining 60 % of patients due to ineffectiveness of monotherapy or disease relapse indicated appropriate combination therapy (most often a combination of doxycycline and clarithromycin – 28 %). Maximum cooperation between the patient and the doctor is required during the therapy. The use of alternative therapeutic approaches (food supplements, detoxification and alkalization processes) is only recommended if the benefits outweigh the risks.

Key words: antibiotics; effectiveness of treatment; Lyme disease; ticks

ÚVOD

Lymská borelióza je multisystémové ochorenie so širokým spektrom symptómov, ktoré môžu spôsobiť poškodenie rôznych vnútorných orgánov. Mnohokrát sa prejavuje nešpecifickými príznakmi a klinicky napodobňuje celý rad ochorení (chronická únava, autoimunitné ochorenie, sarkoidóza). Pôvodcom ochorenia je *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*Borrelia* spp.), ktorá zahŕňa tri rôzne typy, ktoré sú patogénne pre človeka: *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (pôvodca lymskej boreliózy v USA), *Borrelia garinii* (pôvodca neuroboreliózy v Európe) a *Borrelia afzelii* (spojená s diagnózou *acrodermatitis chronica*). Prenášačom na zvieratá a človeka je kliešť rodu *Ixodes*. Pre stanovenie samotného ochorenia sú okrem základného klinického obrazu dôležité laboratórne testy, ktoré sú založené na stanovení špecifických protilátok.

Terapia je založená na liečbe antibiotikami, kde okrem správneho výberu antibiotika je dôležitá aj dostatočne dlhá doba užívania. Napriek rôznym pokrokom vo výskume zameranom na prevenciu ochorenia nie je doposiaľ registrovaná vakcína. Základom prevencie je obmedzenie kontaktu s vektorom ochorenia, včasné odstránenie kliešťa a dodržiavanie opatrení, ktoré obmedzujú prisatie. Použitie antibiotík je pri liečbe lymskej boreliózy rozhodujúce. Antibiotiká prechádzajú do baktérií prednostne a zastavujú ich množenie (doxycyklín), alebo narušajú bunkovú stenu a baktérie usmrtia (penicilíny). Zastavením rastu alebo usmrtením baktérií sa imunitná odpoveď hostiteľa zvýši a napomáha pri odstránení infekcie. Bez antibiotík môže infekcia ľahšie a dlhšie pretrvávať.

Dĺžka liečby by mala byť založená na individuálnom prípade každého pacienta. Mala by sa zvážiť prítomnosť koinfekcií. Riešenie všetkých infekcií prenášaných kliešťom je rozhodujúce pre úspešné zotavenie (Barthold a kol., 2010). Medzi ďalšie faktory, ktoré je potrebné vziať do úvahy pri príprave liečebného plánu patrí to, či boli pacientovi predpísané kortikosteroidy, pretože môžu potlačiť funkciu imunitného systému; ako dlho boli chorí, celkové zdravie a odpoveď na predchádzajúcu liečbu (Johnson, 2010).

Užívanie antibiotík 14 – 30 dní je vhodné, *Borrelia burgdorferi* nepretrváva u pacienta po tomto časovom období a pretrvávajúce príznaky sú výsledkom prebiehajúcej imunitnej odpovede a nie aktívnej infekcie. Liečba by sa mala ukončiť po 30 dňoch aj v prípade, ak príznaky naďalej pretrvávajú, pretože liečba je už neúčinná, dokonca nebezpečná (Donta a kol., 2012).

V odborných vedeckých štúdiách sa taktiež uvádza dlhodobé užívanie antibiotík, ktoré je účinné pri liečbe pretrvávajúcich príznakov, nakoľko je potrebný dlhší čas na eradikáciu baktérií. Mesiac liečby môže byť dostatočný pre pacientov v akútnom štádiu boreliózy, ale v prípadoch, keď sa spirochéta rozšírila a choroba pokročila, je 30-dňový liečebný režim nedostatočný, preto sa odporúča podávanie ďalších dá-

Tab. 1: Antibiotická liečba I. štádia

Liečivo	Dávkovanie	Typ antibiotika
benzylpenicilín	3 x 1000 mg – 21 dní	betalaktámové antibiotikum
amoxicilín	3 x 500 mg – 2 x 1000 mg – 21 dní	betalaktámové antibiotikum
cefuroxim axetil	2 x 500 mg – 21 dní	betalaktámové antibiotikum
doxycyklín	2 x 100 mg (resp. 1 x 200 mg) – 21 dní	tetracyklíny
azitromycín	úhrnná dávka 3 g/5 dní (1. deň 1000 g, 2. – 5. deň 500 mg)	makrolidy

Tab. 2: Príklady alternatívnych liečebných postupov pri liečbe lymskej boreliózy

Terapia	Možnosti terapie
Kyslík	Hyperbarický kyslík Peroxid vodíka Ozón
Energia, žiarenie	Ultrafialové svetlo Fotónová terapia Sauny a parné miestnosti
Kovy/chelácia	Chelatácia a odstránenie ortuti Kyselina dimerkaptojantárová (DMSA) Kyselina 2,3-dimerkapto-1-propánsulfónová (DMPS) Kyselina alfa-lipoová (ALA)

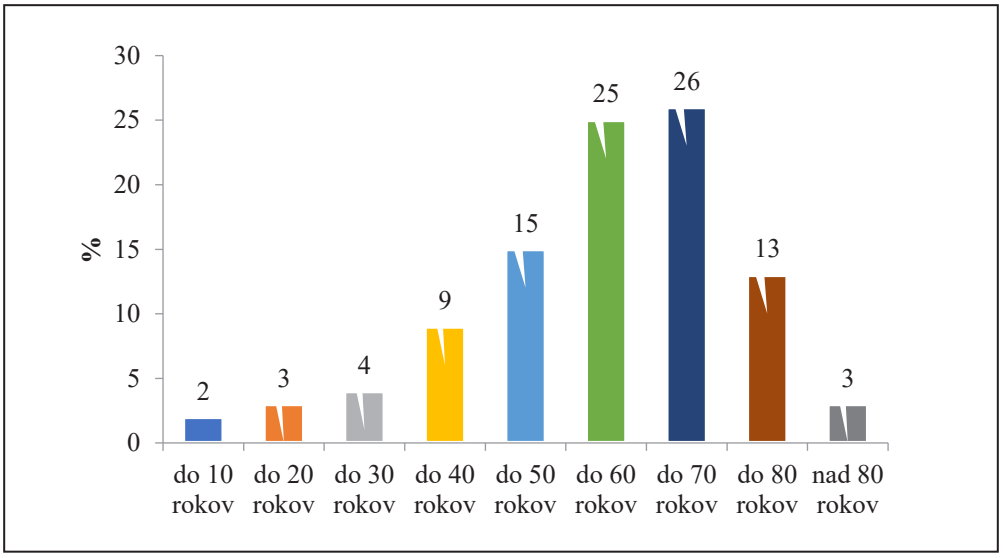
Zdroj: upravené podľa Horowitz, 2018

vok antibiotík a pokračovanie v liečbe, kým príznaky nevymiznú. Schéma antibiotickej terapie sa riadi štádiom ochorenia a typom postihnutého orgánu. Včasné štádium lymskej boreliózy je častokrát liečené krátkodobo podávanými perorálnymi antibiotikami ako je doxycyklín alebo amoxicilín. Pri komplikovanejších prípadoch je zvyčajne úspešná antibiotická liečba v období troch až štyroch týždňov (Arvikar a kol., 2016). Prehľad antibiotík predpisovaných v prvom štádiu liečby lymskej boreliózy zobrazuje tabuľka 1.

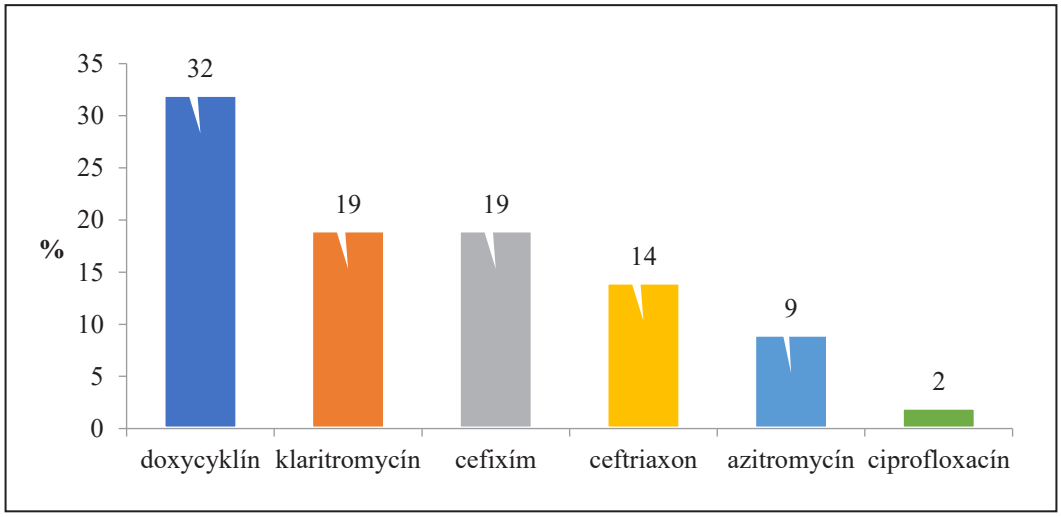
Množstvo informačných zdrojov poskytuje informácie o využití alternatívnych terapeutických postupov. Najčastejšie ide o potravinové doplnky (spirulina, chlorella, betaglukány, výťažky z cesnaku, vitamíny, homeopatiká), taktiež zahŕňajú procesy detoxikácie a alkalizácie organizmu. Proces detoxikácie pri lymskej borelióze je opisovaný ako proces vylučovania mŕtvych baktérií z tela (Hassett a kol., 2009). Keď telo nedokáže dostatočne rýchlo vyčistiť toxíny z krvi, dochádza k nerovnováhe kyselín, k narušeniu enzýmov potrebných na udržanie normálneho pH. Nie vždy teda majú overenú účinnosť a potrebný efekt pri liečbe, preto je dôležité postavenie lekára a farmaceuta pri prevencii a liečbe lymskej boreliózy. Je potrebné pacienta dostatočne informovať, že tieto doplnky nenahrádzajú antibiotickú liečbu a predstavujú iba doplnok liečby. Prehľad možných alternatívnych liečebných postupov využívaných pri liečbe uvádza tabuľka 2.

Alternatívne terapeutické postupy uvedené v tabuľke neboli validované a okrem priamych nepriaznivých účinkov môžu oddialiť identifikáciu a liečbu ďalších dôležitých diagnóz. Pacienti využívajú tieto liečebné postupy pri pretrvávajúcich problémoch po počiatočnej antibiotickej liečbe, alebo ak existuje po-

Graf 1: Vek pacientov (n = 3450)



Graf 2: Najčastejšie predpisované antibiotiká podľa preskripčných záznamov (n = 5569)



dozrenie na prítomnosť pôvodcu ochorenia. Dôležitým aspektom využitia alternatívnych terapeutických postupov pri lymskej borelióze je správna informovanosť pacienta lekárom v súvislosti s rizikami a nákladmi na nekonvenčnú terapiu (Chalder, 2014).

Cieľom štúdie bolo priblížiť prínos antibiotickej liečby, správny postup pri výbere vhodného antibiotika a vhodnej dĺžky liečby u vybraného súboru pacientov s ohľadom na ich vek a samotnú terapiu.

MATERIÁL A METÓDY

Súbor pacientov

Údaje použité v štúdii boli získané z Fakultnej nemocnice v Trenčíne počas obdobia piatich rokov od 2015 do 2020 pri dodržaní zákona o ochrane osobných údajov. Výsledky z predpísaných liečiv, ktoré boli indikované pri lymskej borelióze, boli vyhodnocované z 5569 preskripčných záznamov, ktoré boli

predpísané 3450 pacientom za sledované obdobie.

Pacienti boli rozdelení na základe veku, pohlavia a samotnej terapie, pričom boli zohľadnené aj špecifické skupiny pacientov. Na základe získaných údajov sme mohli posúdiť prínosy a riziká súčasnej terapie využívanej pri lymskej borelióze. Výsledky boli spracované v programe Microsoft Excel do grafov a následne boli percentuálne vyjadrené jednotlivé hodnoty.

VÝSLEDKY

Výsledky boli spracované na základe štatistického súboru, ktorý obsahoval 5569 preskripčných záznamov od 3450 pacientov, kde z celkového počtu bolo 45 % mužov a 55 % žien. Pre vyhodnotenie a porovnanie bola zohľadnená veková kategória pacientov, typ predpísaného antibiotika, kombinovaná liečba antibiotikami a odporúčané dávkovanie pre jednotlivé skupiny antibiotík. Na základe získaných dát bol vyhodnotený a porovnaný priebeh antibiotickej liečby.

1. Rozdelenie pacientov podľa veku

Graf 1 znázorňuje pacientov, ktorým bola diagnostikovaná lymská borelióza, rozdelených podľa veku. Vek patrí ku kritériám, ktoré je potrebné zohľadniť pri správnom posúdení liečby. Z grafu vyplýva, že najčastejšou skupinou, ktorej bola diagnostikovaná lymská borelióza, sú pacienti vo veku do 70 rokov, čo predstavuje 26 %, a vek do 60 rokov, čo je 25 % z celkového počtu pacientov. Medzi rizikové skupiny patria aj pacienti do 50 rokov, čo predstavuje 15 % a vek do 80 rokov, čo je 13 %. Vek do 40 rokov predstavuje 9 % z celkového počtu pacientov. Graf znázorňuje aj pacientov patriacich do skupiny do 20 rokov a nad 80 rokov, čo sú 3 %; 2 % predstavovali pacienti do 10 rokov.

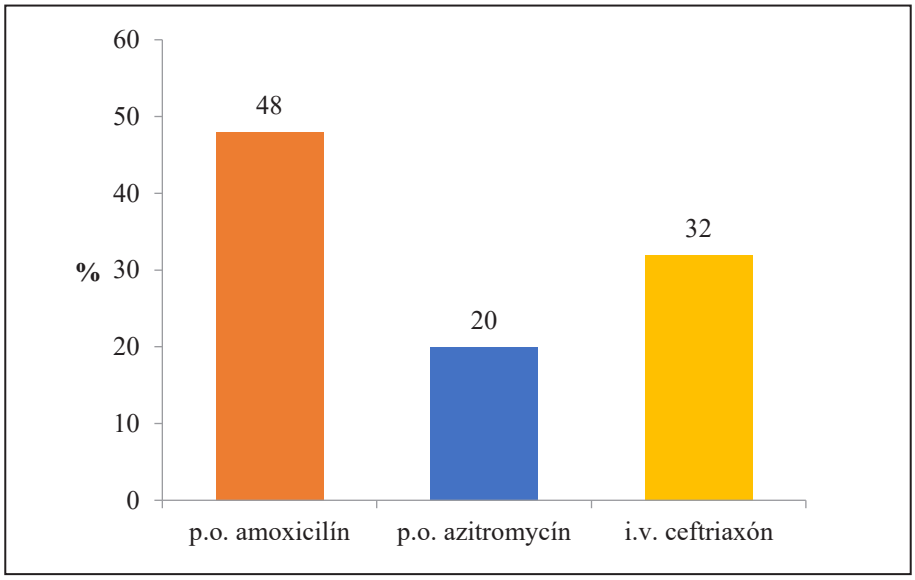
2. Najčastejšie predpisované antibiotiká

Pre dobré zvládnutie priebehu ochorenia je dôležitý výber vhodného antibiotika. Z grafického vyhodnotenia (viď graf 2) vyplýva, že najčastejším predpisovaných antibiotikom bol doxycyklín, ktorý predstavoval 32 % z celkového počtu preskripčných záznamov predpísaných lekárom. Ďalšou voľbou boli antibiotiká klaritromycín a cefixím, ktoré predstavovali 19 %. Z výsledkov je zrejmé, že ďalšou voľbou pri liečbe lymskej boreliózy je ceftriaxón (14 %), azitromycín (9 %) a taktiež ciprofloxacín, ktorý predstavoval 2 % predpisovaných antibiotík.

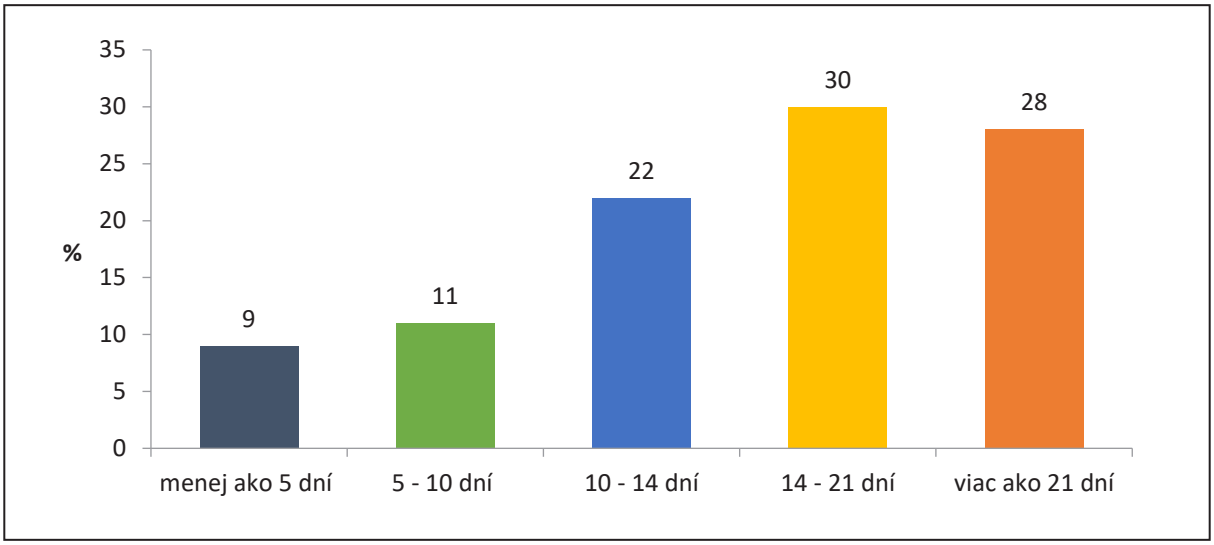
3. Najčastejšie alternatívy antibiotík

Pri neúspešnej liečbe z dôvodu relapsu ochorenia

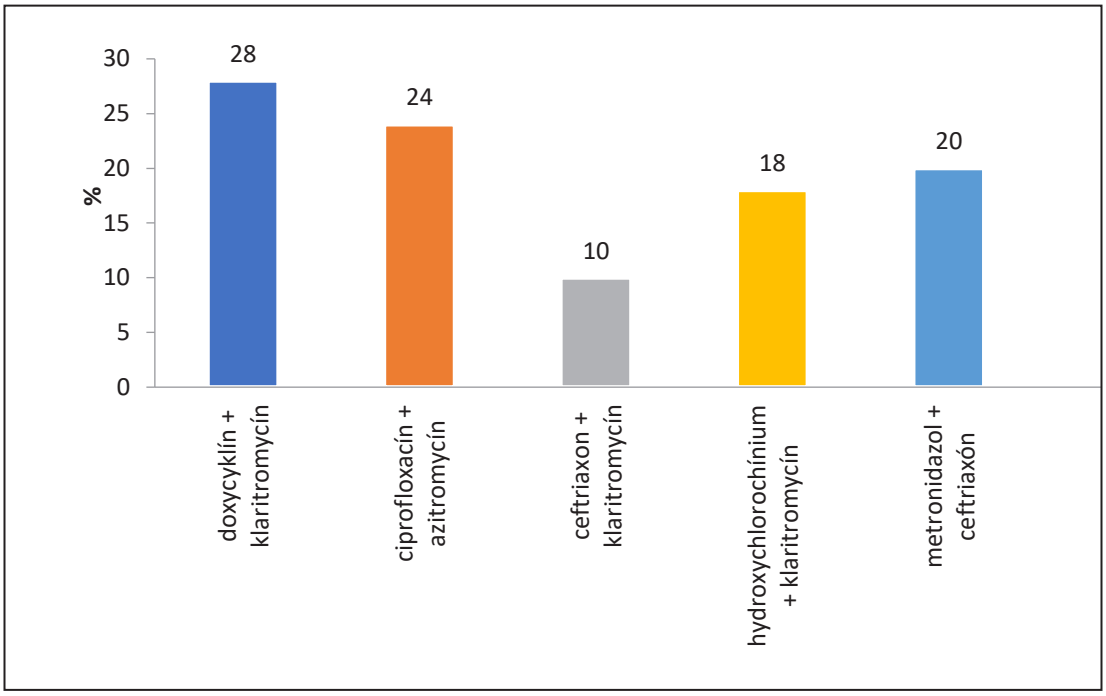
Graf 3: Antibiotiká 2. voľby (n = 3450)



Graf 4: Trvanie liečby antibiotikami (n = 3450)



Graf 5: Najčastejšie možnosti kombinovanej terapie (n = 3450)



alebo zhoršenia príznakov sa antibiotiká nahrádzajú za iné. Z celkového počtu pacientov nebola prvá liečba úspešná až u 55 %. Porovnanie zastúpenia antibiotík druhej voľby sumarizuje graf 3. Najčastejšie antibiotikum druhej voľby je perorálne podávaný amoxicilín (48 %), prípadne azitromycín (20 %). Pri závažnejších stavoch sa odporúča intravenózne podanie antibiotík. Najčastejšie bol intravenózne podávaný ceftriaxón (32 % pacientov).

4. Porovnanie doby liečby antibiotikami

Graf 4 poskytuje prehľad o dĺžke liečby, ktorá je individuálna a nie vždy je možné dopredu určiť ako dlho sa antibiotiká budú užívať. Z grafu vyplýva, že

najčastejšie je dĺžka doby liečby antibiotikami 14 – 21 dní, čo predstavuje 30 % z celkového počtu. Počas daného obdobia buď odznejú symptómy alebo dôjde k zhoršeniu, vtedy je potrebné cyklus liečby opakovať. Dĺžka liečby viac ako 21 dní bola zaznamenaná u 28 % sledovaných pacientov. Optimálna dĺžka liečby je aj 10 – 14 dní a bola zaznamenaná u 22 % pacientov. Pri menej závažných prejavoch ochorenia postačuje obdobie 5 – 10 dní (11 %), prípadne 5 dní – 9 % z celkového počtu sledovaných pacientov.

5. Analýza kombinovanej terapie

Správne začatie terapie je dôležité pre celkový priebeh ochorenia. Pri porovnávaní liečby za obdobie piatich rokov sa zistilo, že z celkového počtu pacientov bola postačujúca monoterapia u 40 % sledovaných pacientov. Pri zhoršení príznakov alebo pri neúspešnej liečbe bolo potrebné upraviť dávkovanie, zmeniť skupinu antibiotík alebo zvoliť vhodnú kombináciu liečiv, čo predstavovalo 60 % z celkového počtu pacientov, ktorým bola diagnostikovaná lymská borelióza. Z grafu 5 vyplýva, že najčastejšia vhodná kombinácia je doxycyklín a klaritromycín, čo predstavuje 28 % z počtu pacientov, u ktorých pôvodná monoterapia nebola dostatočná. Ďalšia vhodná kombinácia antibiotík pri lymskej borelióze je ciprofloxacín a azitromycín (24 %), a tiež intravenózny ceftriaxón a perorálne podávaný klaritromycín (10 %). Graf uvádza aj vhodnú kombináciu ceftriaxónu a metronidazolu, čo predstavuje 20 %, a liečivo zo skupiny aminochinolínov hydroxychlorochín v kombinácii s klaritromycínom (18 %).

DISKUSIA

Lymská borelióza je definovaná ako multisystémové ochorenie, ktoré sa manifestuje v troch štádiách, pričom prvé dve štádiá sú dané priamou zápalovou odpoveďou organizmu a tretie štádium môže prebiehať niekoľko mesiacov až rokov po infikovaní pacienta (imunopatologický proces). Klinické prejavy sa pri opakovanej infekcii *Borrelia burgdorferi* často vzájomne prekrývajú. Samotné podozrenie na lymskú boreliózu treba hodnotiť individuálne a komplexne. Výskyt a priebeh ochorenia u ľudí v závislosti od veku záleží od zdravotného stavu, reakcie imunitného systému na ochorenie, pridružených ochorení a prítomnosti koinfekcií. Najrizikovejšiu skupinu podľa nami získanej štatistiky tvoria pacienti do 70 rokov, (predstavovali 26 % z celkového počtu) a vek do 60 rokov (25 % pacientov). Vývoj ochorenia je ťažko posúdiť v každom veku, ale predpokladá sa, že v staršom veku je priebeh vážnejší hlavne kvôli pridruženiu iných ochorení. Špecifickou skupinou pri liečbe sú aj deti. Klinické príznaky sa môžu u každého dieťaťa prejavovať inak. Skoré štádium lymskej boreliózy sa lieči antibiotikami ľahšie ako neskoré štádium. Väčšina prípadov neskorého štádia sa vyskytuje najmä vtedy, keď sa ochorenie v počiatočnom štádiu nelieči. V niektorých prípadoch sa vyskytuje postboreliózový syndróm s príznakmi, ktoré môžu zahŕňať pocit únavy, bolesti kĺbov, bolesti hlavy, problémy so spánkom a problémy so sústredením (Goodlet a Fairman, 2018).

Diagnostikovanie ochorenia je indikáciou na liečbu antibiotikami. Je potrebné dodržiavať základné podmienky užívania, ktoré sú dôležitou súčasťou správnej dispenzácie. Pri predpisovaní antibiotík je potrebné zvážiť, či sa jedná o dieťa, tehotnú ženu, prípadne inú skupinu pacientov, pretože niektoré liečivá sú pre dané skupiny kontraindikované. Zo získaných údajov sa zistilo, že najčastejšie antibiotikum, ktoré bolo predpisované pacientom za dané obdobie je doxycyklín, čo predstavuje 32 % z celkového počtu preskripčných záznamov. Odborná literatúra uvádza pre dospelých jednorazovú dávku doxycyklínu 200 mg na profylaxiu po prisatí kliešťa, na prevenciu lymskej boreliózy a pre deti vo veku osem rokov a staršie sa odporúča jednorazová dávka 4 $mg.kg^{-1}$ (Sutton a Spry, 2019). Doxycyklín je kontraindikovaný u tehotných a dojčiacich žien, ako aj u malých detí z dôvodu rizika možného ovplyvnenia tvorby kostí plodu a trvalého zafarbenia zubov.

Dlhodobé používanie antibiotík môže byť nebezpečné (narúšajú mikrobióm, spôsobujú hypersenzitivitu, poškodenie pečene). Antibiotiká nie sú správ-

nou voľbou na liečbu pretrvávajúcich symptómov spojených s lymskou boreliózou (Auwaerter, 2016). Samotný priebeh ochorenia je najdôležitejším kritériom pre určenie dĺžky liečby antibiotikami. Pri nedostatočnej účinnosti prvotnej liečby sa zvolí podávanie inej skupiny antibiotík, najčastejšie ide o perorálne podávanie amoxicilínu, čo potvrdzuje až 48 % z celkového počtu pacientov, pri ktorých prvotná liečba nepriniesla zlepšenie ochorenia. Opakovanie liečby v priebehu 3 mesiacov nie je indikované a liečba sa odporúča opakovať iba u pacientov, ktorí boli liečení kratšie ako 6 dní, pri reinfekcii alebo pri rozvoji diseminovaného štádia. *B. burgdorferi*, ktorý je citlivý na rôzne antibiotiká, vrátane penicilínov, tetracyklínov a makrolidov, existuje množstvo faktorov, ktoré ovplyvňujú klinickú účinnosť týchto. Zdá sa, že úspešná liečba lymskej boreliózy závisí od používania špecifických antibiotík počas dostatočne dlhého obdobia (Strizova a kol., 2019). Rizikovým faktorom je vek, hlavne kvôli polypragmázii, čo predstavuje zásadný problém v geriatrickej preskripcii. Pri voľbe je rozhodujúce okrem mikrobiologickej účinnosti antibiotík na spirochéty, farmakokinetiky antibiotík aj *compliance* pacienta a bezpečnosť liečby. Problém predstavuje chronická forma, ktorá nie je podložená dostatkom informácií, čo často vedie k chybným odporúčaniam o type a dĺžke liečby. Preto časté odporúčania o trvaní liečby, napr. že štyri týždne sú adekvátnou dobou liečby, nemajú žiadny faktický základ, čo často vedie k záveru, že pretrvávajúce symptómy majú iný, možno psychosomatický dôvod (Sutton a Spry, 2019). Zo spracovaných údajov sme zistili, že optimálna dĺžka pri liečbe antibiotikami je 14 – 21 dní, čo predstavuje 30 % z počtu získaných údajov o liečbe.

Dôležitým parametrom pre užívanie antibiotík je aj pohlavie. Ženy sú aj náchylnejšie na ochorenie lymská borelióza ako muži. Zo získaných údajov pacientov rozdelených podľa veku sa zistilo a následne potvrdilo, že najčastejšie predpisované antibiotikum bol doxycyklín, čo predstavuje u mužov 38 % a u žien 29 % z celkového počtu. Cefixím podľa preskripčných záznamov je predpisovaný častejšie u žien (22 %) v porovnaní s mužmi (19 %) a je považovaný za veľmi bezpečné antibiotikum aj pre tehotné ženy. Fyziologické zmeny v tehotenstve vedú k zvýšeniu rýchlosti glomerulárnej filtrácie, zvýšeniu celkového objemu tela a zvýšenému srdcovému výdaju. Tieto zmeny môžu viesť ku farmakokinetickým zmenám antibiotík, ktoré si vyžadujú úpravu dávky alebo starostlivé sledovanie a hodnotenie. Užívanie antibiotík v tehotenstve si preto vyžaduje starostlivé posúdenie rizika a prínosu pre matku a plod, a to z krátkodobého aj dlhodobého hľadiska (Hasset kol., 2009).

V súčasnosti odporúčaná antibiotická liečba lymskej boreliózy je založená na monoterapii jednou z troch hlavných skupín antibiotík: penicilíny, tetracyklíny a cefalosporíny. V odbornej literatúre sa uvádza, že liečba včasného lokalizovaného štádia lymskej boreliózy sa začína pri objavení *erythema migrans* bez čakania na výsledok sérologických vyšetrení (Sutton a Spry, 2019). Trendom v antimikrobiálnej liečbe chronických infekcií je použitie kombinovanej terapie. Preto je dôležité zhodnotiť celkový zdravotný stav pacienta z pohľadu štádia lymskej boreliózy. Najčastejšie je využívaná monoterapia, čo podľa získaných informácií predstavuje 40 % a napomáha k spomaleniu šírenia ochorenia v tele. Imunitný systém nie je vždy dostatočne silný na to, aby dokázal zabrániť ochoreniu, alebo ho nedokáže spozorovať v správnom čase, v dôsledku čoho môže dôjsť k zhoršeniu zdravotného stavu. Využitím kombinovanej terapie je možné predísť neúspešnej liečbe, ale častokrát to prináša množstvo rizík. Najčastejšia zvolená kombinácia antibiotík bola doxycyklín a klaritromycín (28 %), ktorá je účinná v prípade neúspešnej prvej voľby doxycyklínom. Zo skupiny iných látok používaných v rámci kombinovanej terapie bol ceftriaxón a metronidazol (20 %), ktorý sa používa na predchádzanie infekcie a na liečbu infekcií spôsobených určitými druhmi mikroorganizmov vrátane pôvodcu lymskej boreliózy. Ďalšou možnosťou je klaritromycín v kombinácii s hydroxychlorochinínom (18 %), ktorý znižuje zápal u pacientov pri autoimunitných ochoreniach, kedy vlastný imunitný systém vytvára protilátky proti vlastnému telu (Goodlet a Fairman, 2018).

Dôležitým aspektom pri liečbe je aj posilnenie imunitného systému, ktorý je pri ochorení oslabený. Využitím doplnkovej terapie pri liečbe sa dokáže napomôcť pri zmierňovaní ťažkostí ochorenia. Vyžívajú sa rozličné suplementy, ktoré sú dostupné v lekárni. Farmaceut v tomto prípade zastáva dôležitú úlohu pri informovaní pacienta o správnej kombinácii výživových doplnkov a ich užívaní. Najvhodnejšie je dlhodobejšie užívanie doplnkov, ale najlepším zdrojom základných vitamínov je aj strava, ktorá by mala byť upravená s ohľadom na prítomné ochorenie.

ZÁVER

Na základe získaných výsledkov sme posúdili prínos antibiotickej liečby pri lymskej borelióze. Štatistické spracovanie výsledkov za sledované obdobie potvrdilo základné postupy využívané pri liečbe v súvislosti s parametrami, ktoré je potrebné brať do úvahy (pohlavie, vek). Podľa rozdelenia pacientov na základe veku je zrejmé, že najčastejšou skupinou, ktorej bola diagnostikovaná lymská borelióza, boli pacienti vo veku nad 60 rokov. Z hľadiska preskripcie antibiotík bol najčastejšie predpisovaným antibiotikom doxycyklín (u 32 % sledovaných pacientov), a to v prípade prevencie aj terapie. V prípade, že pacient netoleruje alebo sú u neho kontraindikované antibiotiká prvej voľby, prechádza sa na alternatívne antibiotiká. Najčastejšie predpisované antibiotikum druhej voľby na základe získaných údajov je perorálne podávaný amoxicilín (48 %).

Pri posúdení terapie v závislosti od dĺžky trvania sme zistili, že optimálna doba liečby je 14 – 21 dní. Dlhodobá terapia (dlhšie ako 21 dní) je odporúčaná u pacientov s pretrvávajúcimi príznakmi. Pokiaľ bola podávaná dostatočná dávka antibiotika po dostatočne dlhú dobu, následné opakované podávanie, prípadne nasadenie ďalšieho antibiotika nemá pre pacienta výrazný prínos. Výsledky ukazujú, že za dané obdobie bola využitá monoterapia u 40 % pacientov, avšak pri nepriaznivom vývoji ochorenia sa následne prechádza na vhodnú kombinovanú terapiu, kde na základe výsledkov bola najčastejšia kombinácia doxycyklínu a klaritromycínu (28 %).

V súčasnosti sa diagnostika lymskej boreliózy opiera predovšetkým o klinický obraz. Najdôležitejšie je stanoviť, či ide o pokračujúcu infekciu, autoimunitu voči reziduálnym alebo perzistentným antigénom, prípadne je zodpovedný za symptómy a príznaky toxín alebo iný bakteriálny produkt. Dôležitou súčasťou liečby lymskej boreliózy je nevyhnutná informovanosť pacienta zo strany lekárov a farmaceutov o prínosoch a rizikách liečby tohto ochorenia, ako aj o správnej prevencii.

ZOZNAM LITERATÚRY

Arvikar, S., Crowley, J. T., Sulka, K. B., Steere, A. C.: Autoimmune arthritides, rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or peripheral spondyloarthropathy, following lyme disease. *Arthritis Rheumatol.*, 2016. [Epub ahead of print Sep. 16]. Doi: 10.1002/art.39866.

Auwaerter, P., Aucott, J., Dumler, J. S.: Lyme borreliosis (Lyme disease): molecular and cellular pathobiology and prospects for prevention, diagnosis and treatment. *Expert Rev. Mol. Med.*, 2004, 6 (2), 1 – 22.

Barthold, S., Hodzic, E., Imai, D. M., Feng, S., Yang, X., Luft, B. J.: Ineffectiveness of tigecycline against persistent *Borrelia burgdorferi*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2010, 54, 643 – 651.

Donta, S., Noto, R. B., Vento, J. A.: SPECT brain imaging in chronic Lyme disease. *Clin. Nuclear Med.*, 2012, 37 (9), 219 – 222.

Goodlet, K. J., Fairman, K. A.: Adverse events associated with antibiotics and intravenous therapies for post-Lyme disease syndrome in a commercially insured sample. *Clin. Infect. Dis.*, 2018, 67 (10), 1568 – 1574.

Hassett, A., Radvanski, D. C., Buyske, S., Savage, S. V., Sigal, S. H.: Psychiatric comorbidity and other psychological factors in patients with "chronic Lyme disease". *Am. J. Med.*, 2009, 122, 843 – 850.

Horowitz, R., Freeman, P. R.: Improvement of common variable immunodeficiency using embryonic stem cell therapy in a patient with lyme disease: a clinical case report. *Clin. Case Rep.*, 2018, 6 (6),1166 – 1171. Doi: 10.1002/ccr3.1556.

Chalder, T.: Prevalence and predictors of recovery from chronic fatigue syndrome in a routine clinical practice. *Behav. Res. Ther.*, 2014, 63, 1 – 8.

Johnson, M.: Chronic Lyme disease: a survey of Connecticut primary care physicians. *J. Pediatr.*, 2010, 157 (6), 1025 – 1029.

Lantos, P.: Chronic Lyme disease: the controversies and the science. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2011, 9, 787 – 797.

Murrel, D. et al .: Chronic lyme disease (post-treatment lyme disease syndrome). *Medically reviewed*, 2018, 98 (13), 324 – 333.

Strizova, Z., Patek, O., Vitova, L., Horackova, M., Bartunkova, J.: Internet-based self-diagnosis of Lyme disease caused death in a young woman with systemic lupus erythematosus. *Joint Bone Spine*, 2019, 86 (5), 650 – 651.

Sutton, D., Spry, C.: One dose of doxycycline for the prevention of lyme disease: A review of clinical effectiveness and quidelines. *CADTH Rapid Response Report: Summary with Critical Appraisal*. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2019. 56, 234 – 245.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 15 – 23, 2023

FARMAKOTERAPIA COVIDOVÝCH A POSTCOVIDOVÝCH PACIENTOV

PHARMACOTHERAPY OF COVID AND POST-COVID PATIENTS

Šárošiová, Viera; Maková, Zuzana

Katedra biológie a fyziológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

zuzana.makova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Vírus SARS-CoV-2 ako príčina novej pandémie šíriacej sa infekcie postihuje každý organizmus individuálne. Ochorenie COVID-19 môže prebiehať úplne bez príznakov, s miernymi zvládnuteľnými príznakmi alebo s ťažkým až kritickým priebehom vyžadujúcim si hospitalizáciu. Štúdia je zameraná na súčasné terapeutické možnosti, a to symptomatickú terapiu, špecifickú terapiu, ale aj podpornú liečbu vo forme nutraceutík a ich využitie na príklade desiatich klinických prípadov (päť pacientov hospitalizovaných a päť pacientov liečených ambulantne), získaných zo zdravotnej dokumentácie pacientov na základe spolupráce so všeobecnou ambulanciou v Rožňave skonzultovaných s Klinikou pneumológie a ftizeológie v Košiciach. V závere sú zhrnuté výsledky pozorovania, a to zhodnotenie vzhľadom na vek, pohlavie, najčastejšie príznaky ochorenia, hlavné príčiny závažného priebehu ochorenia, klinické ukazovatele potreby hospitalizácie a dĺžku terapie.

Kľúčové slová: COVID-19; kazuistika; postcovidový syndróm; terapia

ABSTRACT

The SARS-CoV-2 virus, as the cause of a new pandemic of spreading infection, affects each organism individually. The disease of COVID-19 can proceed completely without symptoms, with mild manageable symptoms or with a severe to critical course requiring hospitalization. The study is focused on current therapeutic options, namely symptomatic therapy, specific therapy, but also supportive treatment in the form of nutraceuticals and their use on the example of ten clinical cases (five patients hospitalized and five patients treated on an outpatient basis) obtained from the patients'

medical records based on cooperation with the general outpatient clinic in Rožňava and the Clinic of Pneumology and Phtiseology in Košice. In the conclusion, the results of the observation are summarized, namely the evaluation with regard to age, gender, the most common symptoms of the disease, the main causes of the severe course of the disease, clinical indicators of the need for hospitalization and the length of the therapy.

Key words: case report; COVID-19; postcovid syndrome; therapy

ÚVOD

V Číne, v meste Wu-chan bolo v decembri roku 2019 hlásené prepuknutie zápalu pľúc neznámeho pôvodu. V prvých dňoch boli prípady zápalu pľúc epidemiologicky spájané s veľkoobchodným trhom s morskými plodmi. Inokulácia vzoriek do ľudských epitelových buniek dýchacích ciest ukázala, že ide o nový koronavírus súvisiaci so SARS-CoV (**S**evere **A**cute **R**espiratory **S**yndrome – závažný akútny respiračný syndróm), preto bol nazvaný koronavírus ťažkého akútneho respiračného syndrómu, koronavírus 2 (SARS-CoV-2).

Od objavu nového koronavírusu vedci diskutujú o jeho pôvode. S rastúcimi infekciami, úmrtiami a ekonomickými stratami spôsobenými SARS-CoV-2 je preto v prvom rade nevyhnutné venovať sa vstupu vírusu do hostiteľskej bunky a následným zmenám v organizme.

Globálne šírenie a tisíce úmrtí spôsobených týmto ochorením viedli WHO k vyhláseniu pandémie dňa 12. marca 2020. Spolu s pandémiou ochorenia COVID-19 sa dramaticky objavila aj druhá pandémia, ktorú tvoria ľudia trpiaci symptómami po ochorení SARS-CoV-2. Hovoríme o takzvanom postcovidovom syndróme. Okrem toho však súčasné dôkazy v skutočnosti podporujú aj prítomnosť psychologických symptómov, ako sú úzkosť, depresia či poruchy spánku u ľudí, ktorí sa zaoberajú pacientmi s COVID-19. Ide nielen o zdravotníckych pracovníkov, ale aj o bežnú populáciu, ktorá trpí traumou spôsobenou nakazením sa potenciálne smrtiacou infekciou.

K dnešnému dňu zaplatil svet za túto pandémiu vysokú daň z hľadiska stratených ľudských životov, zníženia kvality života zapríčinenej priebehom, ale aj doznievaním tohto ochorenia v podobe postcovidového syndrómu či vyššie spomenutých skutočností, ekonomických dôsledkov a v neposlednom rade aj zvýšenej chudoby.

Cieľom štúdie bolo poskytnúť prehľad terapeutických postupov a poukázať na priebeh ochorenia podľa klinických príznakov, rizikových faktorov závažného priebehu, indikátorov hospitalizácie a dĺžky terapie u pacientov liečených ambulantne a u pacientov hospitalizovaných.

MATERIÁL A METÓDY

Štúdia bola vypracovaná pomocou domácej i zahraničnej odbornej literatúry vo forme kníh, časopisov a článkov elektronicky dostupných v internetových databázach. Pre spracovanie desiatich klinických prípadov boli použité údaje získané zo zdravotnej dokumentácie pacientov na základe spolupráce so všeobecnou ambulanciou v Rožňave skonzultované s Klinikou pneumológie a ftizeológie v Košiciach.

Porovnávali sme terapeutické postupy u pacientov liečených ambulantne (n = 5) a pacientov hospitalizovaných (n = 5). Všetky uvedené údaje boli získané v súlade s platnou legislatívou Slovenskej republiky a s dodržaním etických noriem a ochrany osobných údajov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Terapeutické alternatívy ochorenia COVID-19 spočívajú v aplikácii nutraceutík (vitamíny, minerálne látky, antioxidanty), symptomatickej liečby (antipyretiká, antitusiká, mukolytiká, analgetiká, bronchodilatanciá, dekongestíva) a špecifickej terapie (antivirotiká, antibiotiká, monoklonálne protilátky, imunomodulátory, antikoagulanciá).

Nutraceutiká zohrávajú dôležitú úlohu v zmiernení

dopadov pandémie. Ich najväčšou výhodou nie je len dostupnosť, ale aj relatívne nízka cena a pri správnom dávkovaní aj vysoká účinnosť a bezpečnosť (Varga, 2021).

Vo včasných štádiách infekcie sa terapeutická intervencia zameriava na zabránenie replikácie a neutralizáciu vírusu, teda na protivírusový účinok liečiv. Za účinné antivirotiká v liečbe ochorenia COVID-19 sa považujú perorálny molnupiravir, favipiravir, nirmatrelvir/ritonavir a parenterálne antivirotikum remdesivir (Štefan a kol., 2022).

Podanie antibiotík je indikované u pacientov s ochorením COVID-19 v prípade klinického podozrenia aj na bakteriálnu infekciu. Včasné zahájenie antibiotickej liečby je vhodné pri závažnej imunosupresii týkajúcej sa napríklad pacientov na chemoterapii či po transplantácii kostnej drene a orgánov, kedy v prípade bakteriálnej infekcie hrozí rýchly progres ochorenia. U ostatných pacientov sa odporúča počkať so zahájením antibiotickej liečby na výsledky z vyšetrenia spúta, stanovenia pneumokokového antigénu v moči alebo hemokultivácie.

Významný podiel pacientov s antibiotickou terapiou, najmä na jednotkách intenzívnej starostlivosti, je spojený s problémovým rozlíšením vírusovej pneumónie a pneumónie bakteriálneho pôvodu. Vylúčiť sa nedá ani podiel nozokomiálnych infekcií lokalizovaných mimo dýchacie cesty, či už ide o uroinfekcie alebo iné.

Výrazné percento v spotrebe antibiotík predstavuje aj prevencia pred komplikáciami, najmä u pacientov so závažným priebehom infekcie. Preventívne podávanie antibiotík v týchto situáciách je však príkladom ich nevhodného používania (Bakadia a kol., 2021).

Monoklonálne protilátky sú liečivá schopné pôsobiť na konkrétny antigén. Monoklonálne protilátky proti vírusu SARS-CoV-2 rozoznávajú jeho spike proteín a špecificky proti nemu účinkujú. Po rozpoznaní spike proteínu sa naň protilátky naviažu a znemožnia tak vstup vírusu do ľudského organizmu. Sú určené pre pacientov s najvyšším rizikom ťažkého priebehu ochorenia, ktorí nie sú hospitalizovaní, alebo sú hospitalizovaní z iného dôvodu, než je COVID-19.

Môže ísť o monoterapiu, ale aj kombináciu protilátok. Kontraindikáciami monoklonálnych protilátok sú všeobecne predošlé závažné hypersenzitívne reakcie na monoklonálne protilátky, vrátane anafylaxie, gravidity, laktácie a veku do 12 rokov. Nie sú známe klinicky významné liekové interakcie a pri ich aplikácii sa postupuje podľa SPC (Summary of Product Characteristics – súhrn charakteristických vlastností lieku) a pokynov výrobcu. Podávajú sa intravenózne spoločne v jednom vaku obvykle v 100 ml 0,9 % NaCl po dobu približne 30 – 60 minút (Štefan a kol., 2022; MZ SR, 2022).

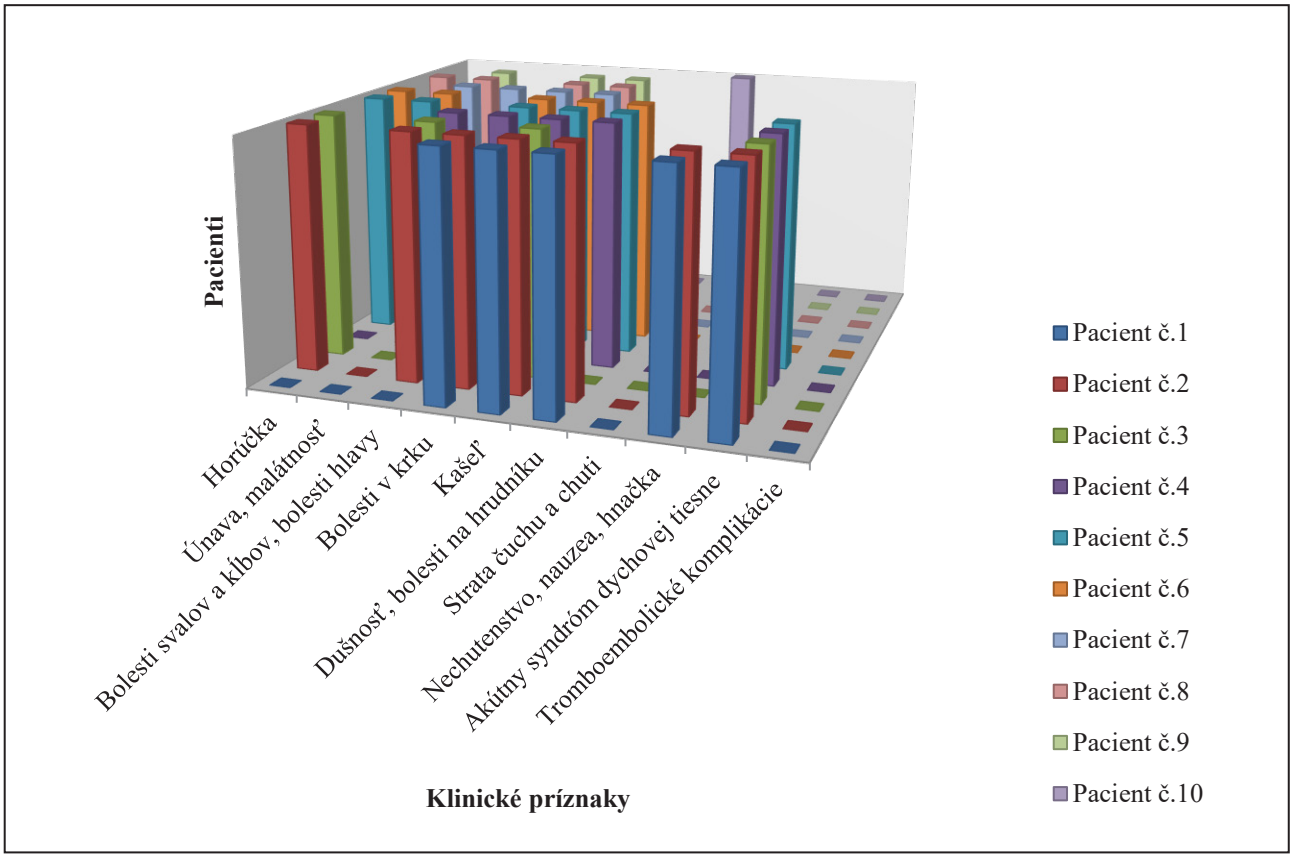
Imunomodulátory sú lieky, ktoré potláčajú prehnanú imunitnú odpoveď organizmu založenú na koncepte tzv. cytokínovej búrky. Klinické štúdie ukázali, že tieto lieky zlepšujú prognózu pacientov s diagnózou COVID-19 a znižujú riziko úmrtí. Podávajú sa po vylúčení prítomnosti bakteriálnej, mykotickej či vírusovej superinfekcie a v liečbe ochorenia COVID-19 sa nikdy nekombinujú, nepoužívajú sa súčasne a sú podávané iba hospitalizovaným pacientom. Nesmú sa podávať pacientom významne imunokompromitovaným so závažným primárnym či sekundárnym imunodeficientom a pacientom s absolútnym počtom neutrofilov nižším ako $1,5 \times 10^9.l^{-1}$ a absolútnym počtom lymfocytov nižším ako $0,8 \times 10^9.l^{-1}$ (Štefan a kol., 2022).

Pri pacientoch s ochorením COVID-19 sa pri telesnej teplote nad 38 °C odporúčajú podávať antipyretiká samostatne, či v kombinácii podľa štandardných pravidiel a s rešpektovaním kontraindikácií, v dostatočných dávkach. Väčšina z nich má tiež analgetické účinky, v prípade zvýšenej potreby analgetického účinku je možné ich tiež kombinovať s tramadolom či kodeínom.

Suchý dráždivý kašeľ býva veľmi vyčerpávajúcim symptómom, preto sa tlmí dostatočnými dávkami antitusík, prípadne aj ich kombináciou s mukolytikami. V prípade vlhkého produktívneho kašľa sú podávané mukolytiká zabezpečujúce rozpustenie hlienu a uľahčenie vykašliavania.

Pri nosnej obštrukcii je možné prechodne podávať

Graf 1: Klinické príznaky ochorenia COVID-19



dekongesčné nosné kvapky a iné nosné liečivá určené k lokálnej aplikácii. Aplikácia by mala trvať maximálne po dobu jedného týždňa.

Nakazeným vírusom SARS-CoV-2 so známkami bronchiálnej obštrukcie sú indikované bronchodilatanciá, najčastejšie salbutamol, či ipratropium v ručnom inhalátore.

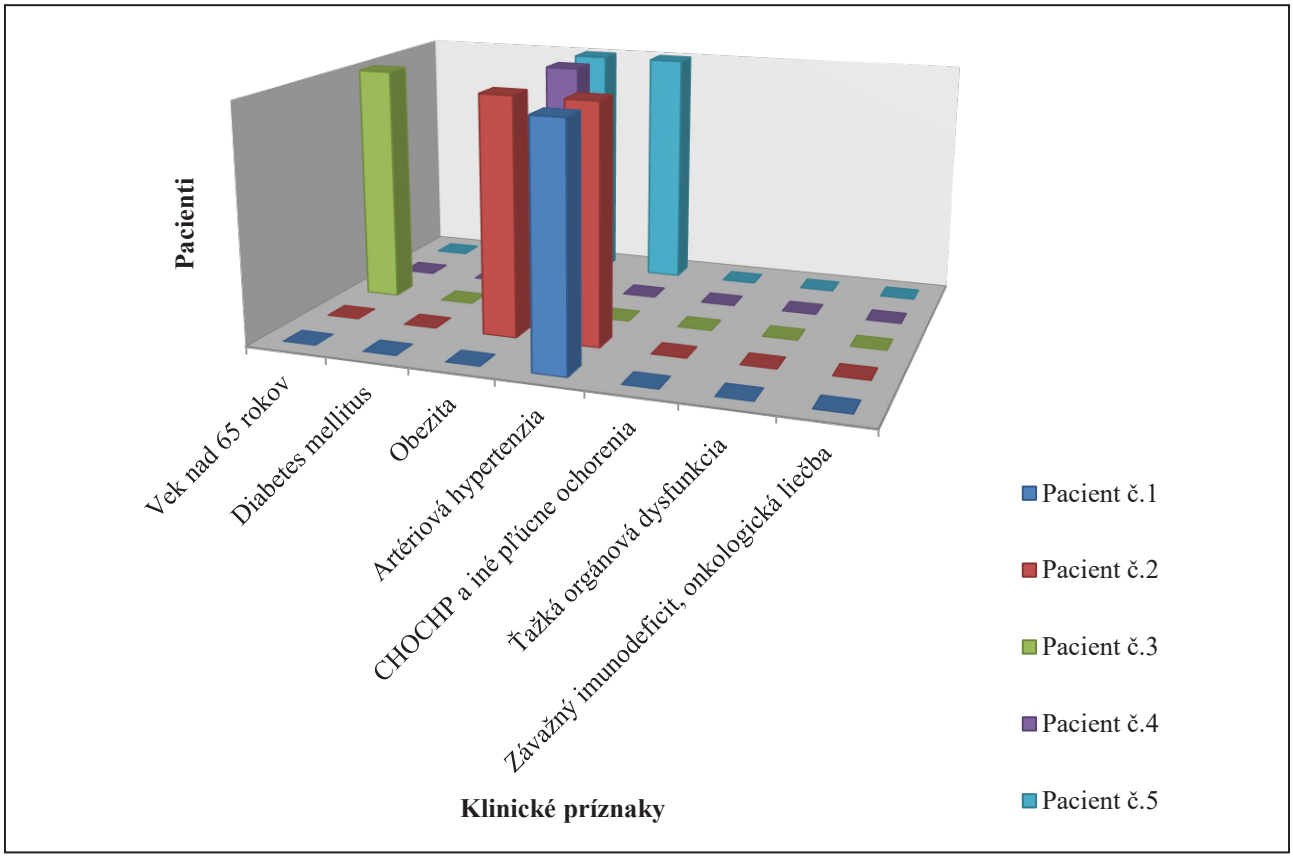
Pri pacientoch trpiacich hypoxiou býva zahájená oxygenoterapia nosnou kanylou alebo kyslíkovou maskou pri SpO2 < 93 %, s cieľovou hodnotou 93 – 97 %. U pacientov so známkami pneumónie a potrebou oxygenoterapie je nenákladnou možnosťou aj neinvazívna respiračná terapia aktívneho polohovania, ktorého princípom je polohovanie na boky, poloboky a brucho tak, aby pacienti strávili čo najmenej času v polohe ležmo na chrbte. Pravidelné polohovanie zabráni kumulácii zápalovej tekutiny v dorzálnych partiách pľúc.

Samozrejmosťou je liečba akútnych a chronických komorbidít (arteriálna hypertenzia, *diabetes mellitus* a ďalšie). Potrebné je brať ohľad na všetky interakcie a kontraindikácie počas symptomatickej terapie ochorenia COVID-19, dbať na adekvátnu výživu a včasnú rehabilitáciu (Štefan a kol., 2022).

Ochorenie COVID-19 môže indukovať rôzne ochorenia prostredníctvom nespočetných mechanizmov špecifických pre dané ochorenie, ale aj zhoršiť existujúce zdravotné stavy tých, ktorí infekciu prežili, čo vedie k zdravotným alebo klinickým následkom, ktoré vyžadujú zdravotnú starostlivosť aj po prekonaní infekcie.

Napriek tomu, že ide o respiračné ochorenie, COVID-19 môže ovplyvniť mimopľúcne orgánové systémy. Farmakoterapia je od pacienta k pacientovi rôzna a pozostáva väčšinou zo symptomatickej liečby vyžadujúcej personalizáciu. V súčasnej dobe totiž

Graf 2: Rizikové faktory závažnejšieho priebehu



neexistujú žiadne všeobecne akceptované farmaceutické odporúčania pre tieto multiorgánové následky. Uvádza sa však, že rôzne rehabilitačné programy (pľúcne, srdcové, muskuloskeletálne, neurologické, multidisciplinárne) prispôsobené individuálnym prípadom tieto symptómy môžu zlepšiť.

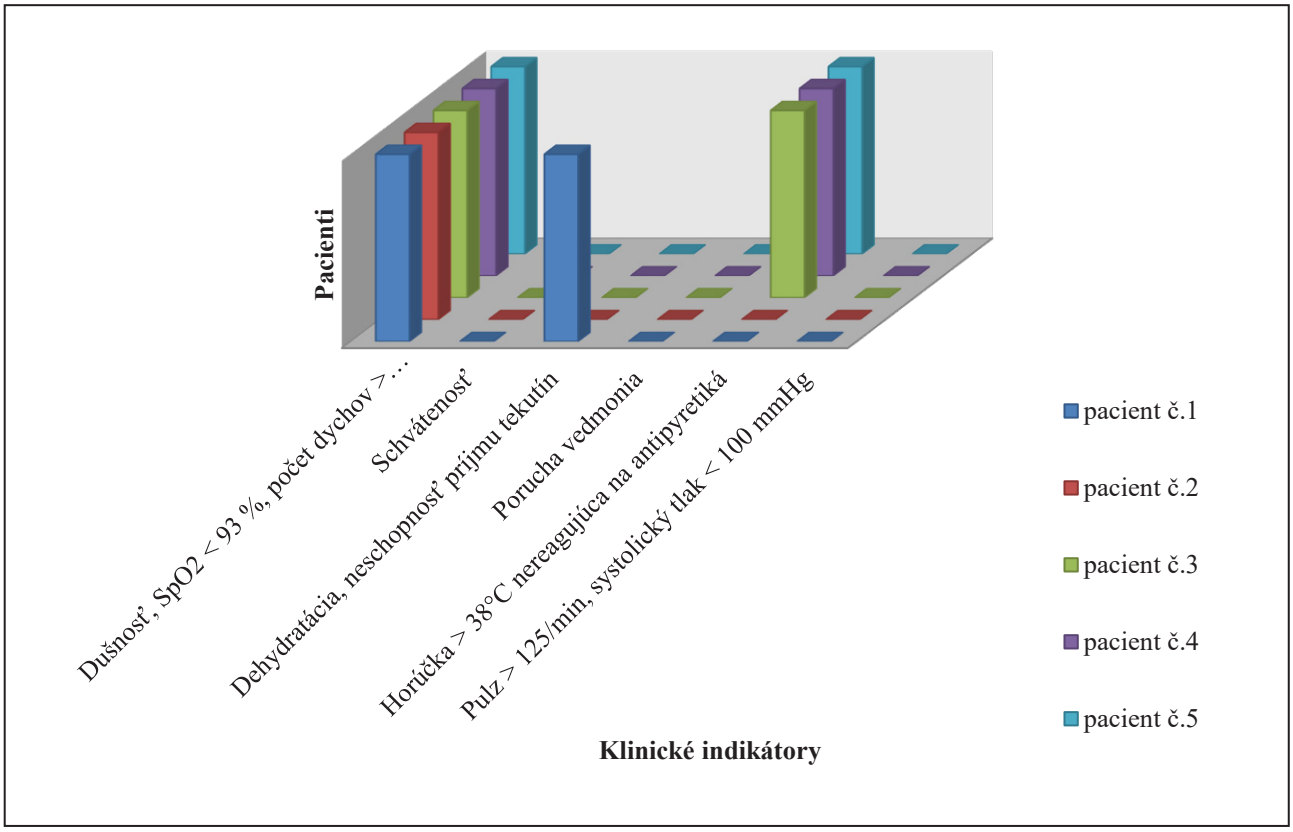
U pacientov, ktorí prežili infekciu s ťažkými respiračnými symptómami, ktoré si väčšinou vyžadovali hospitalizáciu, majú okrem iného aj dlhodobé pľúcne následky, ako pľúcnu fibrózu a lézie pľúcneho parenchýmu považované za postcovidový syndróm. Pri liečbe takýchto pacientov pomáha pľúcna rehabilitácia zahŕňajúca dýchacie a aeróbne cvičenia, techniky čistenia dýchacích ciest, kyslíkovú a nutričnú podporu.

V prípade pacientov s prítomným chronickým zápalom, trombózou alebo fibrózou môžu pomôcť antagonisty týchto patologických procesov zahŕňajúce napríklad statíny, inhibítory renín-angiotenzín-aldosterónového systému, blokátory β-adrenergného receptora a podobne. Ani jedno liečivo z týchto skupín však doposiaľ nebolo testované v klinických štúdiách zahŕňajúcich pacientov s postcovidovým syndrómom (Yong a kol., 2022).

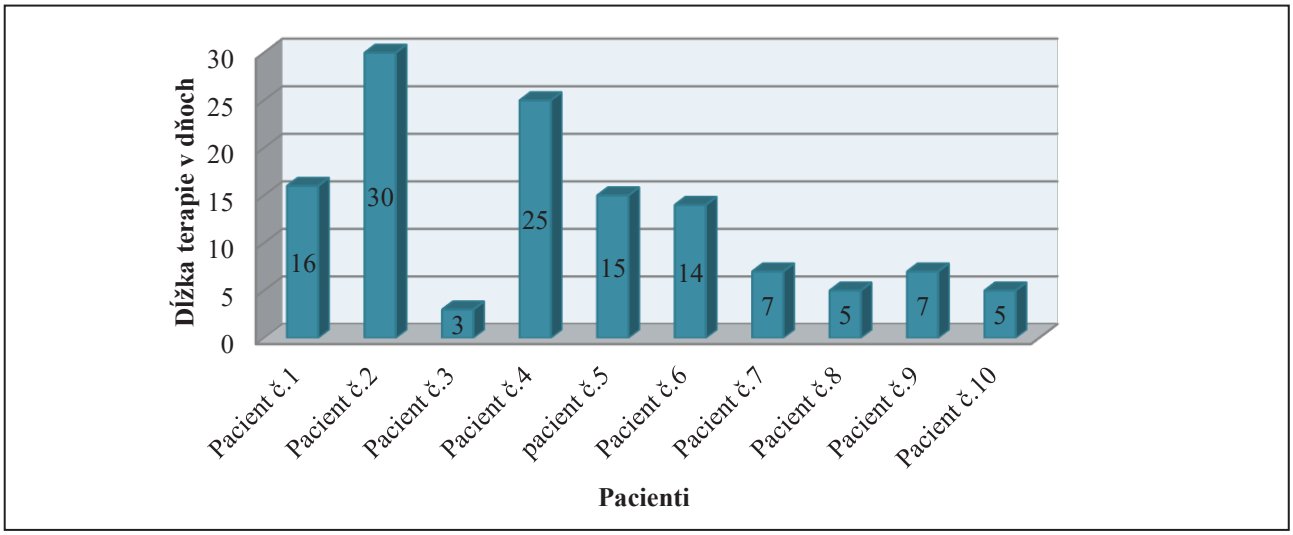
Priemerný vek nami pozorovanej skupiny (n = 10) pacientov bol 55 rokov, 70 % z nich boli muži a 30 % ženy. Len 40 % zo skupiny pacientov podľa epidemiologickej anamnézy bolo plne očkovaných proti ochoreniu COVID-19 a 60 % neočkovaných, z ktorých väčšina bola pre zhoršenie príznakov hospitalizovaná (n = 5).

Graf 1 znázorňuje najbežnejšie klinické príznaky ochorenia COVID-19 v pozorovanej skupine hospitalizovaných pacientov (pacient 1 – 5) a ambulantne liečených pacientov (pacient 6 – 10). Klinické príznaky sú uvedené spoločne v jednom grafe, avšak

Graf 3: Klinické indikátory potrebnosti hospitalizácie



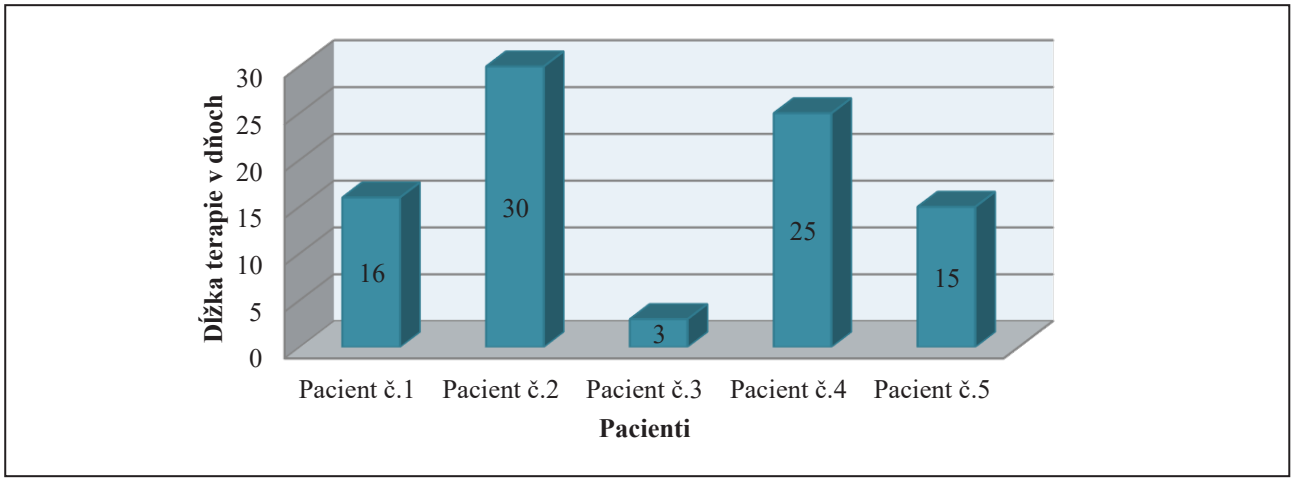
Graf 4: Dĺžka terapie pozorovanej skupiny



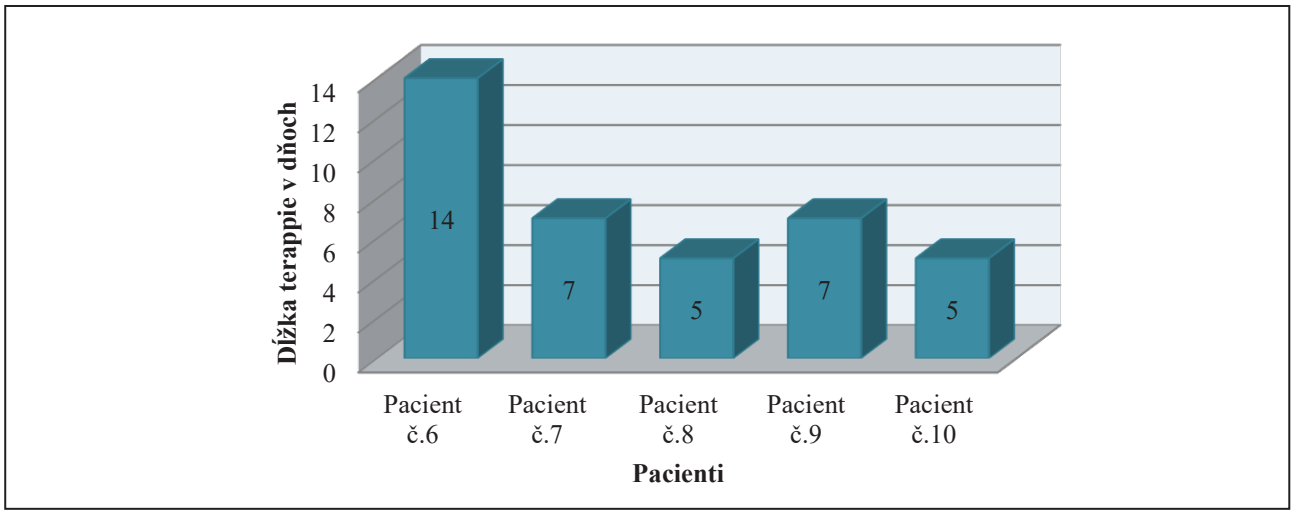
ich intenzita a dĺžka pretrvávania bola v jednotlivých skupinách pacientov značne odlišná.

Ako vyplýva z grafu, najčastejšími príznakmi v pozorovanej skupine pacientov boli bolesti v krku, kašeľ, celková únava, horúčka a naopak, strata čuchu a chuti sa pre prevládajúci variant *omikron* vyskytovala najmenej. Akútne tromboembolické komplikácie sa nevyskytli u žiadneho z pacientov aj vďaka podávaniu preventívnych dávok antikoagulancií vo všetkých z pozorovaných prípadov.

Graf 5: Dĺžka terapie hospitalizovaných pacientov



Graf 6: Dĺžka terapie ambulantne liečených pacientov



Vo všeobecnosti je jedným z hlavných dôvodov hospitalizácie okrem zhoršenia a pretrvávania príznakov, potreby oxygenoterapie a vyčerpania z dehydratácie aj dekompenzácia chronického ochorenia. Pri zvažovaní indikácií k prijatiu do nemocnice sa okrem toho posudzujú aj rizikové faktory závažnejšieho priebehu a klinické indikátory potrebnosti hospitalizácie (Ciotti a kol., 2020; Lauer a kol., 2020; Kirtipal a kol., 2020).

V nasledujúcich grafoch sú znázornené základné rizikové faktory závažnejšieho priebehu ochorenia a klinické indikátory potrebnosti hospitalizácie a ich výskyt v pozorovanej skupine pacientov.

Z grafu 2 vyplýva, že všetci hospitalizovaní pacienti spĺňajú aspoň jeden z rizikových faktorov závažnejšieho priebehu ochorenia COVID-19 a takmer polovica z nich aspoň dva rizikové faktory, pričom najčastejším je práve artériová hypertenzia a obezita.

Graf 3 zobrazuje prítomnosť *dyspnoe*, resp. nižšej saturácie krvi kyslíkom a počtu dychov nad 25 za minútu u všetkých hospitalizovaných pacientov. V pozorovanej skupine pacientov sa práve tieto klinické indikátory považujú za dôvod hospitalizácie. K jednému z pacientov sa ako klinický indikátor potrebnosti hospitalizácie pridala aj dehydratácia a neschopnosť perorálneho príjmu tekutín, a u viac ako

polovice pozorovanej skupiny pacientov to bola aj horúčka nereagujúca na perorálne antipyretiká.

Okrem rizikových faktorov závažnejšieho priebehu ochorenia COVID-19 a klinických indikátorov potreby hospitalizácie sú dôležité aj odchýlky v niektorých z laboratórnych parametrov, ktoré sa považujú za smerodajné nielen v určení závažnosti ochorenia, ale aj v rozhodnutí o indikácii imunomodulačnej terapie.

Z laboratórnych parametrov sú za rizikové považované hlavne odchýlky od referenčných hodnôt absolútneho počtu lymfocytov, CRP, feritínu a D-diméru. Až v 100 % prípadov z pozorovanej skupiny hospitalizovaných pacientov malo tieto hodnoty výrazne zmenené, a preto im bola nasadená komplexná terapia zahŕňajúca imunomodulanciá, antibiotiká, antivirotiká, a tiež preventívna antikoagulačná terapia. Konkrétne dávkovacie schémy boli určené aj na základe ostatných parametrov.

Dĺžku terapie od prvého príznaku až po úplné vymiznutie príznakov v pozorovanej skupine pacientov nie je možné stanoviť, keďže viac ako 50 % z nich je liečených dlhodobo aj po prepustení z hospitalizácie na pretrvávajúci postcovidový syndróm. Nasledujúce grafy však znázorňujú časový úsek terapie medzi prvým pozitívnym a najbližším negatívnym PCR alebo antigénovým testom.

Graf 4 znázorňuje počet dní terapie medzi prvým pozitívnym a najbližším negatívnym PCR alebo antigénovým testom v celej pozorovanej skupine ľudí, graf 5 sa zameriava na hospitalizovaných pacientov a graf 6 na ambulantne liečených pacientov.

Z grafov vyplýva, že dĺžka terapie hospitalizovaných pacientov je pre závažnejšie klinické príznaky a nutnosť komplexnejšej terapie jednoznačne dlhšia. Je to konkrétne 17,8 dní v pozorovanej skupine hospitalizovaných pacientov. Dĺžka terapie ambulantne liečených pacientov je 7,6 dní; a teda priemer dĺžky terapie z celej pozorovanej skupiny pacientov je 12,7 dňa.

ZÁVER

Vírus SARS-CoV-2, ako pôvodca novej pandemicky sa šíriacej infekcie, pôsobí na každý organizmus individuálne. Ochorenie COVID-19 môže prebiehať úplne bez príznakov, s miernymi zvládnuteľnými príznakmi, alebo s ťažkým až kritickým priebehom vyžadujúcim hospitalizáciu.

Starší a chorí ľudia sú síce najviac ohrozenými skupinami, ale ani mladí a zdatní jedinci pred infekciou nie sú chránení. Z našich pozorovaní vyplynulo, že priemerný vek pozorovanej skupiny pacientov bol 50 rokov, 70 % z nich boli muži a 30 % ženy. Mladší pacienti s ochorením COVID-19 majú menej symptómov a miernejší priebeh ako starší, keďže sa predpokladá, že ľudské pľúcne a epiteliálne bunky sa po narodení ďalej vyvíjajú a expresia ACE2 je v mladšej populácii nižšia. Okrem toho, pohlavie tiež môže ovplyvniť expresiu ACE2. Tiež sa predpokladá, že starnutie je spojené s nárastom prozápalových cytokínov, ktoré riadia funkcie neutrofilov a korelujú so závažnosťou ochorenia.

Z pozorovaní vyplynul fakt, že najčastejšími príznakmi ochorenia COVID-19 sú bolesti v krku, kašeľ, celková únava, horúčka a naopak, strata čuchu a chuti sa pre prevládajúci variant *omikron* v čase nášho pozorovania vyskytovala najmenej.

Jedným z hlavných dôvodov závažnejšieho priebehu ochorenia okrem zhoršenia a pretrvávania príznakov, potreby oxygenoterapie a vyčerpania z dehydratácie je aj samotná dekompenzácia chronického ochorenia. Až 100 % hospitalizovaných pacientov z pozorovanej skupiny spĺňa aspoň jeden z rizikových faktorov závažnejšieho priebehu ochorenia COVID-19 a takmer polovica z nich aspoň dva rizikové faktory, pričom najčastejším je práve artériová hypertenzia a obezita.

Z našich pozorovaní vyplynulo, že *dyspnoe*, nižšia saturácia krvi kyslíkom a počet dychov nad 25 za minútu sa považujú za najčastejšie klinické indikátory dôvodu hospitalizácie, pričom u viac ako 50 % pozorovaných pacientov sa k nim pridružila aj horúčka nereagujúca na perorálne antipyretiká. Okrem rizi-

kových faktorov závažnejšieho priebehu ochorenia COVID-19 a klinických indikátorov potreby hospitalizácie sú dôležité aj odchýlky od referenčných hodnôt absolútneho počtu lymfocytov, CRP, feritínu a D-diméru. Až 100 % prípadov z pozorovanej skupiny hospitalizovaných pacientov malo tieto hodnoty výrazne zmenené, a preto im bola nasadená komplexná terapia.

Intenzita, ale aj dĺžka priebehu ochorenia je u každého pacienta odlišná, čo vyplýva aj z výsledkov pozorovanej skupiny pacientov, kde priemerná dĺžka terapie hospitalizovaných pacientov je jednoznačne dlhšia, a to konkrétne 17,8 dní. Dĺžka terapie ambulantne liečených pacientov je 7,6 dní; a teda priemer dĺžky terapie z celej pozorovanej skupiny pacientov je 12,7 dňa.

Tak, ako je odlišná dĺžka terapie a intenzita ochorenia, aj v terapii je potrebné k pacientom pristupovať individuálne. Pre vysokú variabilitu a tiež individualitu príznakov nie je možné nastaviť jednotnú liečbu a predpokladať jednoznačný priebeh ochorenia, avšak rovnako, ako rýchlo pribúdajú nové prípady nakazenia týmto ochorením, tak stúpajú aj možnosti terapie a hlavne percento ich úspešnosti. Od konca roka 2019 až po súčasnosť totiž celý svet pohltila explózia nielen obáv a strachu, ale aj výskumov a súdržnosti zdravotníckeho personálu, vedcov a samotnej spoločnosti.

ZOZNAM LITERATÚRY

Bakadia, B., He, F., Souho, T., Lamboni, L., Ullah, M., W., Boni, B. O., Ahmed, A. A. O., Mukole, B. M., Yang, G.: Prevention and treatment of COVID-19: Focus on interferons, chloroquine/hydroxychloroquine, azithromycin, and vaccine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 133, 111 008.

Ciotti, M., Alessandro, C., We-Can, T., Cheng-Bin Wang, J., Bernardini, S.: COVID-19 pandemic and the critical role of the clinical laboratory. *Clinical Laboratory Sciences*, 2020, 57 (6), 365 − 388.

Kirtipal, N., Bharadwaj, S., Kang, S. G.: From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and imunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 2020, 85, 104 502.

Lauer, S. A., Grantz, K. H., Bi, O., Jones, F. K., Zheng, O., Meredith, H. R., Azman, A. S., Reich, N. G., Lessler, J.: The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19). From publicly reported confirmed cases: Estimation and application. *Ann. Intern. Med.*, 2020, 172 (9), 577 − 582.

MZ SR. Liečba monoklonálnymi protilátkami [Treatment with monoclonal antibodies]. Bratislava, 2022. <https://www.health.gov.sk/?monoklonalne-protilatky>. [cit. 2022-07-20].

Štefan, M., Chrdle, A., Husa, P., Beneš, J., Dlouhý, P.: *Covid-19: diagnostika a léčba* [Covid-19: diagnosis and treatment]. Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP. Praha, 2022. <https://www.infekce.cz/DPCovid21/DP5-covid--DP-podrobny-05-22.pdf>. [cit. 2022-07-20].

Varga, I.: Prevencia a podporná liečba COVID-19 pomocou nutraceutík v ambulantnej praxi [Prevention and supportive treatment of COVID-19 using nutraceuticals in outpatient practice]. *Via practica*, 2021, 18 (1), 13 − 17.

Yong, S. J., Liu, S.: Proposed subtypes of post-COVID-19 syndrome (or long-COVID) and their respective potential therapies. *Medical Virology*, 2022, 32 (4), 2252.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 24 – 32, 2023

POROVNANIE INHIBIČNÉHO ÚČINKU BEZBUNKOVÝCH SUPERNATANTOV PROBIOTICKÝCH KULTÚR A ANTIMYKOTÍK VOČI *CANDIDA ALBICANS*

COMPARISON OF THE INHIBITION EFFECT OF CELL-FREE SUPERNATANTS OF PROBIOTIC CULTURES AND ANTIMYCOTICS AGAINST *CANDIDA ALBICANS*

Čitáková, Dominika[1]; Čonková, Eva[1]; Nemcová, Radomíra[2]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
[2]Katedra mikrobiológie a imunológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

dominika.citakova@student.uvlf.sk

ABSTRAKT

***Candida albicans* je druh jednobunkového organizmu – kvasinky, ktorá je prirodzenou súčasťou črevnej mikroflóry človeka. Jej premnoženie môže byť príčinou nepríjemných kvasinkových infekcií, tzv. kandidóz. Cieľom tejto štúdie bolo porovnať inhibičný účinok bezbunkových supernatantov probiotických kultúr a antimykotík voči *C. albicans*. Na 23 klinických izolátoch *C. albicans* bol otestovaný účinok piatich azolových antimykotík (klotrimazol, mikonazol, itrakonazol, posakonazol a vorikonazol) a piatich vzoriek bezbunkových supernatantov získaných z laktobacilov rôzneho pôvodu a z referenčného kmeňa *Lactobacillus plantarum* CCM 1904. Pri antimykotikách bola po 24-h inkubácii zaznamenaná najvyššia citlivosť izolátov na klotrimazol (65,2 %) a vorikonazol (47,8 %). Mikonazol a posakonazol boli menej účinné (21,7 % a 13 %). Takmer všetky izoláty boli rezistentné na itrakonazol (95,7 %). Všetky izoláty bezbunkových supernatantov laktobacilov boli citlivé na vzorku L26 (MIC 10,05 µg.ml^{-1}). Pri ostatných vzorkách bezbunkových supernatantov laktobacilov bola zistená vyššia účinnosť, aj v porovnaní s testovanými antimykotikami.**

Kľúčové slová: antimykotiká; *Candida albicans*; probiotické baktérie; účinnosť

ABSTRACT

***Candida albicans* is a species of single-celled organism – yeast, which is a natural part of the human intestinal microflora. Its overgrowth can be the cause of unpleasant yeast infections, the so-called candidiasis. The aim of this experiment was to compare the inhibitory effect of cell-free supernatants of probiotic cultures and antifungals against *C. albicans*. The effect of five azole antifungals (clotrimazole, miconazole, itraconazole, posaconazole and voriconazole) and five samples of cell-free supernatants obtained from lactobacilli of different origins and from the reference strain *Lactobacillus plantarum* CCM 1904 were tested on 23 clinical isolates of *C. albicans*. For antifungals, the highest sensitivity of isolates to clotrimazole (65.2 %) and voriconazole (47.8 %) was recorded after 24-hour incubation. Miconazole and posaconazole were less effective (21.7 % and 13 %). Almost all isolates were resistant to itraconazole (95.7 %). All isolates of lactobacilli cell-free supernatants were sensitive to sample L26 (MIC 10,05 µg.ml^{-1}). In other samples of cell-free supernatants of lactobacilli, a higher efficiency was found, even in comparison with the tested antifungals.**

Key words: antifungals; *Candida albicans*; efficiency; probiotic bacteria

ÚVOD

Rod *Candida* zahŕňa oportúnne kvasinky, ktoré sa v prípade zlyhania imunitného systému hostiteľa môžu stať patogénnymi. Ochorenia spôsobené kandidami sa nazývajú kandidózy a môžu byť povrchové alebo invazívne. Povrchové infekcie postihujú kožu alebo sliznice a možno ich úspešne liečiť lokálnymi antimykotikami. Invazívne mykotické infekcie sú však často život ohrozujúce, pravdepodobne v dôsledku neefektívnych diagnostických metód a nevhodnej počiatočnej antimykotickej liečbe (Brito a kol., 2021).

Candida albicans je najdôležitejším a najrozšírenejším druhom kvasiniek. V terapii kandidóz sa ako bežne dostupné antifungálne liečivá používajú najmä polyény, echinokandíny a azoly. V poslednej dobe je zisťovaná čoraz častejšia rekurencia mykotických infekcií v dôsledku rozvoja fenoménu antimykotickej rezistencie. Prítomnosť rezistencie voči azolovým antimykotikám je značne zdokumentovaná pri niektorých druhoch rodu *Candida*. Preto sa v súčasnosti stáva hlavnou výzvou vývoj novej uspokojivej antimykotickej terapie. Naliehavá potreba zahŕňa použitie alternatívnych liečiv, ktoré sú účinnejšie a viac tolerované ako konvenčné liečivá (Costa-de-Oliveira a Rodrigues, 2020).

Vzhľadom na uvedené fakty boli probiotiká navrhnuté ako užitočná alternatíva pri liečbe kandidózy. Ukázalo sa, že niekoľko druhov rodu *Lactobacillus* vykazuje antifungálnu aktivitu proti viacerým druhom kandíd, pravdepodobne priamou inhibíciou, prostredníctvom kompetície o miesta adhézie alebo produkcie sekundárnych metabolitov a nepriamou inhibíciou prostredníctvom stimulácie imunitného systému ich hostiteľa. Inhibičný účinok probiotík voči kandidám nie je však ešte úplne objasnený, nakoľko súvisí s viac ako jednou inhibičnou dráhou (Han a Ren, 2021). Hlavným cieľom našej štúdie bolo otestovať a porovnať citlivosti kmeňov *C. albicans* voči azolovým antimykotikám a bezbunkovým supernatantom probiotických kultúr.

MATERIÁL A METÓDY

V experimente bolo použitých päť vzoriek bezbunkových supernatantov (BS) získaných z laktobacilov rôzneho pôvodu, ktoré nám poskytla Katedra mikrobiológie a imunológie (Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika) a z referenčného kmeňa *Lactobacillus plantarum* CCM 1904 (Česká sbírka mikroorganizmů, Brno, Česká republika) (viď tab. 1).

Tab. 1: Označenie a pôvod testovaných laktobacilov

Označenie/kmeň	Pôvod
LP – *L. plantarum* CCM 1904	CCM
LGG – *L. rhamnosus*	humánny
L26 – *L. reuteri*	prasa – črevo
LA3 – *L. acidophilus*	jogurt
2I3 – *L. fermentum*	kurací – črevo
L81 – *L. plantarum*	prasa – črevo

Tab. 2: Interpretačné kritériá pre hodnotenie citlivosti kvasiniek voči antimykotikám

Antimykotikum	S (µg.ml^{-1})	S-DD (µg.ml^{-1})	R (µg.ml^{-1})
Klotrimazol	< 0,5	–	> 0,5
Mikonazol	< 0,5	–	> 0,5
Itrakonazol	≤ 0.125	0.25 – 0.5	≥ 1
Vorikonazol	≤ 1	2	≥ 4
Posakonazol	≤ 1	2	≥ 4

S – citlivý, S-DD – citlivý v závislosti od dávky, R – rezistentný
Zdroj: M27-A3 (CLSI, 2008); Muturi a kol. (2013)

Vzorky *Candida albicans* boli dodané Ústavom lekárskej a klinickej mikrobiológie Lekárskej fakulty v Košiciach (Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Slovenská republika.). Testovanie bolo vykonané na 23 izolátoch a referenčnom kmeni *Candida albicans* CCM 8320 (Česká sbírka mikroorganizmů, Brno, Česká republika), ktorý slúžil na validáciu kvality testovania. Testovanie citlivosti kvasiniek *C. albicans* voči azolovým antimykotikám bolo uskutočnené použitím štandardnej mikrodilučnej metódy M27-A2 (CLSI, 2002); ktorá bola čiastočne modifikovaná, rovnako ako aj metodika Almaniho a Salariho (2020), pomocou ktorej bola otestovaná citlivosť *C. albicans* voči bezbunkovým supernatantom laktobacilov.

Azolové antimykotiká v práškovej forme boli rozpustené pomocou dimetyl sulfoxidu (DMSO) na základnú koncentráciu 1600 µg.l^{-1}. Vzniknuté roztoky boli nariedené v Sabouraudovom bujóne s prídavkom 2 % glukózy (SBG) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India) na východiskovú koncentráciu 32 µg.ml^{-1}. V sterilnej 96-jamkovej mikrotitračnej platničke boli dvojkovým riedením pripravené jednotlivé koncentrácie antimykotík v rozpätí 32 – 0,0625 µg.ml^{-1}, v jamkách 1 – 10. K nariedeným antimykotikám bolo pridaných 100 µl inokula, s obsahom 10^3 CFU.ml^{-1}, pripraveného z jednotlivých kmeňov kandíd nariedených v SBG, takže výsledné koncentrácie antimykotík predstavovali 16 – 0,0313 µg.ml^{-1}. Jamka 11 (negatívna kontrola) obsahovala iba médium, do jamky 12 (pozitívna kontrola) okrem média bolo pridané aj inokulum. Mikrodilučné platničky boli inkubované pri 35 °C po dobu 24 h. Po inkubácii bola odčítaná minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) jednotlivých antimykotík.

Laktobacily, z ktorých bol pripravený BS, boli najprv kultivované na De Man-Rogosa-Sharpe agare (MRS) pri 35 °C počas 48 h v anaeróbnych podmienkach. Následne boli inokulačnou kľučkou (1 µl) prenesené kolónie do Erlenmeyerovej kultivačnej banky obsahujúcej 100 ml MRS bujónu s prídavkom 0,5 % glukózy. Banky boli inkubované 48 h na orbitálnej

Tab. 3: Štatistické vyhodnotenie MIC (µg.ml^{-1}) antimykotík

Parameter	Klotrimazol	Mikonazol	Itrakonazol	Vorikonazol	Posakonazol
Izoláty					
min-max	0,06 – 4	0,03 – 16	0,25 – 16	0,0313 – 16	0,5 – 16
x	0,84	2,18	11,82	6,0	13,33
SD	0,97	3,24	6,19	6,58	5,45
Mo	0,5	2	16	16	16
Me	0,5	1	16	4	16
Referenčný kmeň					
x	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
SD	0	0	4,62	0	0
Mo	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Me	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03

max.-min. – minimálna a maximálna hodnota MIC, x – priemerná hodnota MIC, SD – smerodajná odchýlka, Mo – modus, Me – medián

Tab. 4: Štatistické vyhodnotenie MIC (µg.ml^{-1}) BS laktobacilov po 24 h

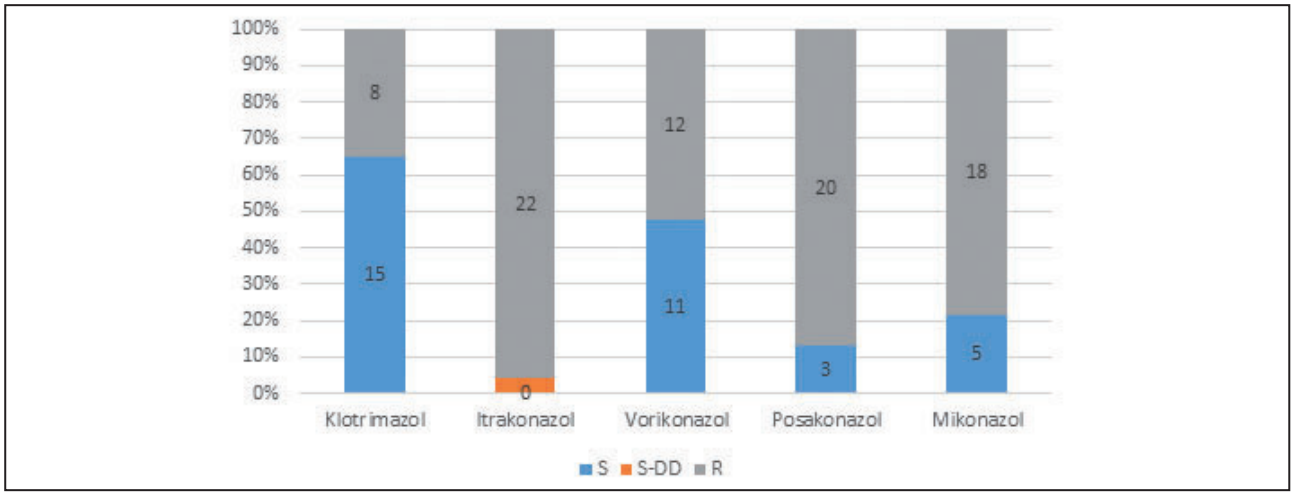
Parameter	LP	LGG	L26	LA3	2I3	L81
Izoláty						
min-max	3,13 – 12,5	3,13 – 25	6,25 – 12,5	3,13 – 25	12,5 – 50	12,5 – 25
x	8,29	10,46	10,05	10,46	24,46	16,30
SD	3,21	4,58	3,12	4,58	9,58	5,88
Mo	6,25	12,5	12,5	12,5	25	12,5
Me	6,25	12,5	12,5	12,5	25	12,5
Referenčný kmeň						
x	12,5	12,5	10,42	12,5	12,5	12,5
SD	0	0	3,61	0	0	0
Mo	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
Me	12,5	12,5	11,46	12,5	12,5	12,5

max.-min. – minimálna a maximálna hodnota MIC, x – priemerná hodnota MIC, SD – smerodajná odchýlka, Mo – modus, Me – medián

trepačke (170 rpm), pri teplote 35 °C. Po inkubácii bol MRS bujón s obsahom laktobacilov scentrifugovaný (20 min pri 6000 otáčkach). Centrifugácia bola zopakovaná dvakrát. Potom bol supernatant prefiltrovaný cez 0,22 µm sterilný filter. Pri testovaní antifungálnej účinnosti BS laktobacilov sa postupovalo obdobne ako v prípade antimykotík, pričom výsledné koncentrácie BS boli v rozpätí 50 – 0,1 µl.ml^{-1}. Mikroplatničky boli inkubované po dobu 24 h pri 35 °C. Kritériá, na základe ktorých bola vyhodnotená citlivosť kvasiniek voči antimykotikám, sú uvedené v tabuľke 2.

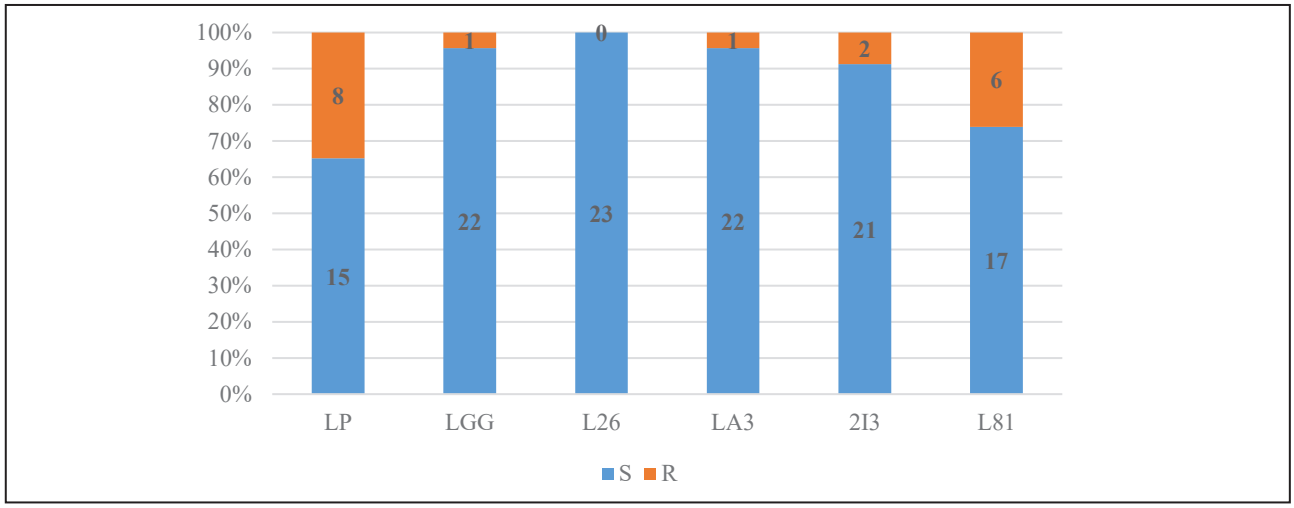
Účinnosť BS laktobacilov bola stanovená na základe hodnôt mediánu. Výsledky sme štatisticky spracovali v programe Excel Microsoft Office 2019, pričom boli stanovené nasledovné parametre: aritmetický priemer (x), smerodajná odchýlka (SD), modus (Mo) a medián (Me).

Graf 1: Citlivosť izolátov *C. albicans* na antimykotiká



S – citlivý, S-DD – citlivý v závislosti od dávky, R – rezistentný

Graf 2: Citlivosť izolátov *C. albicans* na BS laktobacilov



S – citlivý, R – rezistentný

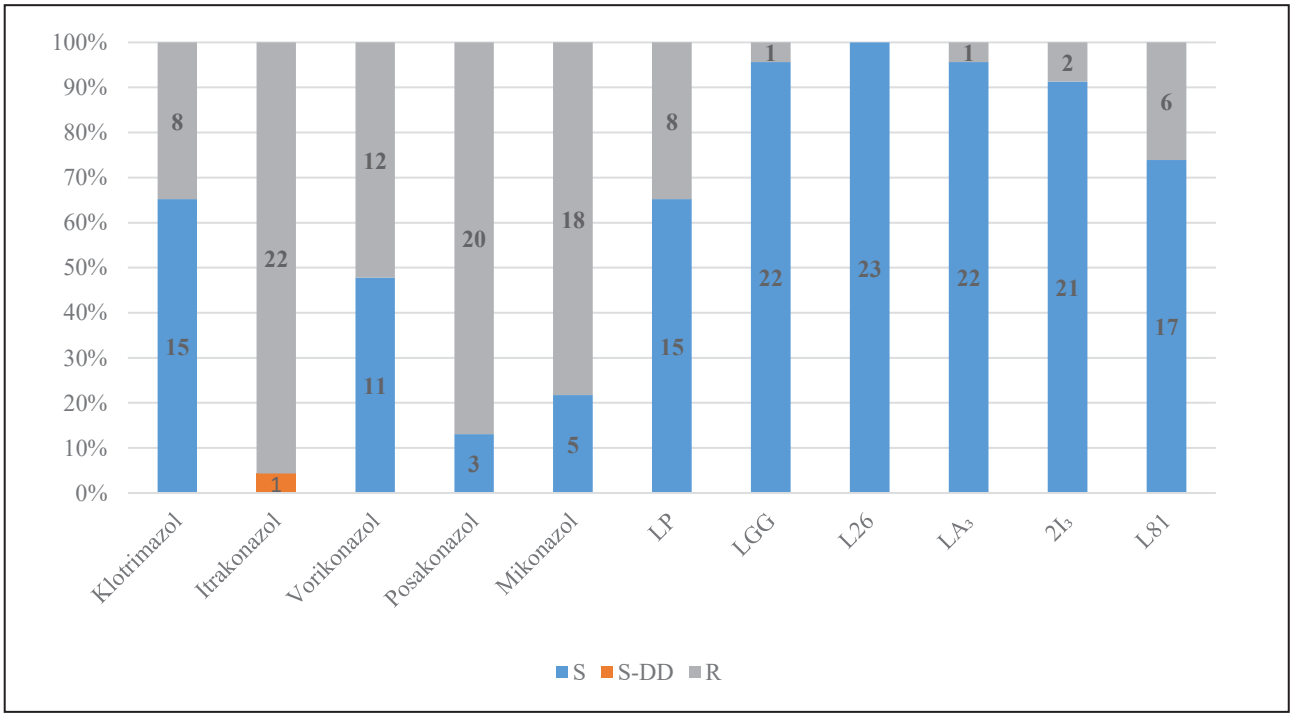
VÝSLEDKY

Štatistické údaje MIC (µg.ml^{-1}) testovaných antimykotík odčítané po 24 h prezentuje tabuľka 3. Najnižšie hodnoty MIC boli zaznamenané pri klotrimazole, s priemernou hodnotou 0,84 µg.ml^{-1}. Pri mikonazole priemerná hodnota MIC dosahovala 2,18 µg.ml^{-1} a pri vorikonazole 6,0 µg.ml^{-1}. Priemerné hodnoty MIC pri itrakonazole a posakonazole boli najvyššie a predstavovali 11,82 µg.ml^{-1}; resp. 13,33 µg.ml^{-1}.

Citlivosť izolátov *C. albicans* na testované antimykotiká znázorňuje graf 1.

Na základe interpretačných kritérií, najvyššiu citlivosť sme zaznamenali pri klotrimazole, na ktorý bolo citlivých až 15 izolátov (65,2 %). Takmer polovica izolátov (11 vzoriek; 47,8 %) bola citlivá na vorikonazol. Pomerne vysoká rezistencia izolátov bola zis-

Graf 3: Porovnanie inhibičného účinku ATM a bezbunkových supernatantov laktobacilov voči *C. albicans*



S – citlivý, S-DD – citlivý v závislosti od dávky, R – rezistentný

tená na mikonazol (78,3 %) a posakonazol (87 %). Najvyššiu rezistenciu sme evidovali pri itrakonazole (95,7 %). MIC všetkých antimykotík pri referenčnom kmeni *C. albicans* CCM 8320, použitého na kontrolu kvality testovania, bola 0,03 µg.ml^{-1}, čo je v súlade s interpretačnými kritériami metódy M27-A3 (CSLI, 2012).

Hodnoty MIC (µg.ml^{-1}) testovaných BS laktobacilov odčítané po 24 h a ich štatistické spracovanie sú uvedené v tabuľke 4.

Najnižšia priemerná MIC (8,29 µg.ml^{-1}) bola zaznamenaná pri vzorke *L. plantarum* (LP). Naopak, najvyššia priemerná MIC bola zistená pri vzorke 2I3 (24,46 µg.ml^{-1}). Približne rovnaké hodnoty MIC boli zaznamenané pri vzorkách LGG, L26 a LA3 (10,46 µg.ml^{-1}; 10,05 µg.ml^{-1} a 10,46 µg.ml^{-1}). Priemerná hodnota MIC pri L81 dosahovala 16,30 µg.ml^{-1}.

Graf 2 znázorňuje inhibičný účinok BS laktobacilov na izoláty *C. albicans*.

Na bezbunkový supernatant získaný z L26 boli citlivé všetky izoláty (100 %). Až 22 kmeňov *C. albicans* (95,7 %) vykazovalo citlivosť na BS z LGG a LA3. Pomerne vysoká citlivosť bola pozorovaná aj pri BS z 2I3 (91,3 %). Na BS L81 bolo citlivých 17 izolátov (73,9 %) a 6 kmeňov (26,1 %) bolo rezistentných. Pri vzorke LP sme zaznamenali citlivosť 15 izolátov (65,2 %); rezistentných bolo 8 kmeňov (34,8 %). Referenčný kmeň vykazoval citlivosť na BS všetkých laktobacilov (viď tab. 4).

Porovnanie inhibičného účinku bezbunkových supernatantov laktobacilov a antimykotík voči *C. albicans* znázorňuje graf 3.

Izoláty *C. albicans* boli viac citlivé na BS laktobacilov ako antimykotiká. Z pomedzi všetkých testovaných antimykotík bola najvyššia citlivosť zaznamenaná pri klotrimazole, avšak účinnosť takmer všetkých BS laktobacilov bola výrazne vyššia.

DISKUSIA

V posledných rokoch je všeobecne pozorovaná zvýšená incidencia kandidových infekcií a s tým

súvisiaca zvýšená miera úmrtnosti. *C. albicans* je najčastejšie izolovanou kvasinkou v biologických vzorkách pacientov (Costa-de-Oliveira a Rodrigues, 2020). V terapii kandidóz medzi liečivá prvej voľby patria azolové antimykotiká. Ich časté používanie však viedlo k rýchlemu rozvoju liekovej rezistencie, čo predstavuje veľkú prekážku v antifungálnej terapii (Bogdanova a kol., 2021).

V našom experimente sme otestovali citlivosť klinických izolátov a referenčnej vzorky *C. albicans* na vybrané azolové antimykotiká (klotrimazol, mikonazol, itrakonazol, posakonazol a vorikonazol). Výsledky ukázali, že najúčinnejším azolovým liečivom bol klotrimazol, s priemernou hodnotou MIC 0,84 µg. ml^{-1}; na ktorý bolo po 24 h citlivých 15 kmeňov (64,5 %).

Aghamirian a kol. (2014) porovnávali účinnosť klotrimazolu, mikonazolu a nystatínu voči *C. albicans*. Výsledky štúdie ukázali, že klotrimazol a nystatín vykazovali vyššiu účinnosť v porovnaní s mikonazolom. Výsledky nášho experimentu sú v súlade s výsledkami uvedených autorov, nakoľko aj v našom prípade bolo na mikonazol citlivých len 5 izolátov (21,7 %). Najnižší účinok sme zaznamenali pri itrakonazole, na ktorý bolo rezistentných až 22 izolátov (95,7 %); pričom len 1 vzorka vykazovala citlivosť v závislosti od dávky (4,3 %).

Espinel-Ingroff a kol. (2008) vo svojej štúdii stanovovali účinnosť vorikonazolu, itrakonazolu, flukonazolu a amfotericínu B voči izolátom *C. albicans*. Podobne ako v našom prípade, aj v tejto publikácii bol itrakonazol neúčinný, pretože izoláty boli voči nemu kompletne rezistentné.

Boyken a kol. (2004) testovali *in vitro* aktivitu vorikonazolu, posakonazolu a flukonazolu voči 3932 izolátom *Candida* spp. (*C. albicans*, *C. neoformans* a *C. glabrata*). Ich výsledky poukazujú na vysokú účinnosť posakonazolu a vorikonazolu (MIC v rozpätí 0,015 – 0,03 $\mu g.ml^{-1}$) na izoláty *C. albicans*, čo však nezodpovedá našim výsledkom. Nižšiu aktivitu týchto liečiv pozorovali pri izolátoch *C. glabrata* (MIC 1 – 2 $\mu g.ml^{-1}$). Z našich výsledkov vyplýva, že až 87 % testovaných kmeňov vykazovalo rezistenciu voči posakonazolu. Aj napriek tomu, že vorikonazol bol vyhodnotený ako druhé najúčinnejšie antimykotikum, bolo naň citlivých len 11 izolátov (47,8 %). Pomerne nízka účinnosť nami testovaných antimykotík môže byť výsledkom stúpajúcej rezistencie voči *C. albicans*.

Možnosti inhibície patogénnych mikroorganizmov baktériami mliečneho kvasenia sú dlhodobo predmetom výskumu vedcov. Medzi najbežnejšie probiotiká využívané v praxi patrí *L. acidophilus* a *L. plantarum*. Tieto druhy probiotických kultúr dokážu produkovať viaceré antimikrobiálne látky (peroxid vodíka, kyselina octová, mliečna atď.), vďaka ktorým sú považované za možných kandidátov v prevencii a terapii rôznych infekcií (Fijan, 2014).

Priaznivé účinky *L. plantarum* voči *C. albicans* potvrdzujú aj výsledky Boiangiua a kol. (2018), ktorí vo svojej štúdii zisťovali účinnosť perorálnych probiotík u žien s vulvovaginálnou kandidiózou v porovnaní s placebom. Výsledky štúdie ukázali, že príjem probiotík výrazne zlepšil kolonizáciu laktobacilov na vaginálnych epitelových bunkách až u 48,38 % žien, v dôsledku čoho došlo k výraznému zmierneniu klinických príznakov ochorenia, ako napr. začervenanie, opuch a výtok. Placebo nemalo žiadne účinky.

Han a kol. (2018) v *in vitro* štúdii skúmali potenciál probiotických kmeňov *L. fermentum* MG901 a *L. plantarum* MG989 voči *C. albicans*. Testy bunkovej životaschopnosti po spoločnej kultivácii ukázali, že kvasinkové bunky stratili metabolickú aktivitu a boli usmrtené. Testované probiotické kmene vykazovali koagregáciu s bunkami *C. albicans*, čo ovplyvnilo ich adhéziu a kolonizáciu na črevné epitelové bunky.

V našej štúdii sme pri všetkých testovaných vzorkách BS laktobacilov pozorovali pomerne vysokú účinnosť od 65,2 % do 100 %.

Pri vzájomnom porovnaní inhibičného účinku supernatantov laktobacilov a antimykotík sme zistili, že izoláty kandíd boli omnoho citlivejšie na supernatanty laktobacilov v porovnaní s antimykotikami. Vyššiu účinnosť laktobacilov oproti antimykotikám zaznamenali vo svojej štúdii aj Biyari a Fozouni (2018), ktorí vyhodnocovali antagonistické účinky probiotík

na orálnu kandidózu u starších ľudí (priemer 72 rokov). Účinky probiotík porovnávali s itrakonazolom a nystatínom, ktoré dosahovali vysokú rezistenciu (74,46 a 87,23 %). Probiotické baktérie boli schopné zabrániť rastu viacerým druhom *Candida*. Spomedzi všetkých testovaných probiotík bol najvyšší inhibičný účinok pozorovaný pri *Lactobacillus plantarum*.

Výsledky našich experimentov sú v zhode s *in vitro* štúdiou Almanima a Salariho (2020), ktorí testovali antifungálne účinky *L. acidophilus* a *L. plantarum* voči viacerým orálnym druhom *Candida* izolovaných od HIV pacientov. Účinky probiotických supernatantov následne porovnávali s účinnosťou flukonazolu (FLC). Výsledky štúdie ukázali, že *L. plantarum* významne inhiboval rast jednotlivých druhov *Candida* v poradí: *C. albicans* > *C. krusei* a *C. kefyr* > *C. glabrata* a *C. parapsilosis*. Fungicídne účinky *L. acidophilus* a *L. plantarum* boli vyššie ako FLC pre všetky testované druhy *Candida*. Pri *C. albicans* bol inhibičný účinok *L. plantarum* vyšší ako *L. acidophilus*. Zistený bol signifikantný rozdiel medzi inhibíciou rastu *C. albicans* pôsobením oboch laktobacilov v porovnaní s FLC.

ZÁVER

Mykotické infekcie spôsobené kvasinkou *C. albicans* predstavujú narastajúci medicínsky problém. Zvyšuje sa incidencia systémových mykóz, zväčšuje sa populácia imunokompromitovaných pacientov a dochádza k zmene citlivosti kvasiniek na azolové antimykotiká. Zvýšená rezistencia kandíd voči azolom ponúka nové možnosti v oblasti farmakoterapie systémových, ako aj lokálnych mykóz. Pri vzájomnom porovnaní antimykotík a bezbunkových supernatantov laktobacilov v tejto štúdii sme došli k záveru, že nami testované probiotické kmene laktobacilov vykazovali omnoho vyššiu antifungálnu účinnosť voči izolátom *C. albicans* ako azolové antimykotiká. Výsledky našich experimentov sú porovnateľné s viacerými štúdiami. Použitie probiotických kmeňov v terapii kandidóz prináša novšie inovácie liečebných postupov, vhodných pre zavedenie do klinickej praxe.

POĎAKOVANIE

„Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-15-0377.“

ZOZNAM LITERATÚRY

Aghamirian, M. R., Ameri, S., Bache, K. P., Falahati, M., Makhdoomi, A., Moghadam, A. S., Moghadam, P. R., Nozari, S., Shojaei, E. A., Zaini, F.: Effects of several common antifungal drugs (clotrimazole, miconazole, fluconazole) alone and in combination with amphotericin B on *Candida* species isolated from chronic candidal vulvovaginitis. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*, 2014, 4 (3), 327 – 334.

Almani, P. G. N., Salari, S.: Antifungal effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* against different oral *Candida* species isolated from HIV/AIDS patients: an *in vitro* study. *Journal of Oral Microbiology*, 2020, 12 (1), 1 – 9.

Biyari, S., Fozouni, L.: The inhibitory effect of probiotic bacteria against drug-resistant *Candida* species isolated from the oral cavity of the elderly. *Shiraz E. Medical Journal*, 2018, 19 (6), 1 – 6.

Bogdanova, A. A., Bren, A. B., Demin, K. A., Ermakov, A. M., Chikyndas, M. L., Chistyakov, V. A., Kutsevalova, O. Y., Popov, I. V., Prazdnova, E. V., Rudoy, D. V., Weeks, R.: Mechanisms of *Candida* resistance to antimycotics and promising ways to overcome it: the role of probiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2021, 13 (4), 926 – 948.

Boyken, L., Diekema, D. J., Hollis, R. J., Messer, S. A., Pfaller, M. A., Rice, C., Tendolkar, S.: *In vitro* activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2004, 48 (3), 201 – 205.

Boiangiu, A., Manolache, M., Mehedintu, C., Mihu, D., Mitran, M., Vladareanu, R., Vladare-

anu, S.: New evidence on oral *L. plantarum* P17630 product in women with history of recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC): a randomized double-blind placebo-controlled study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018, 22 (1), 262 – 267.

Brito, E. H. S., Fontenelle, R. O. S., Morais, S. M., Pereira, R.: Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 131 (1), 11 – 22.

CLSI. Clinical and laboratory standards institute. National comitee for clinical laboratory standards: M27-A2 reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard – second edition. *NCCLS*, 2002, 22 – 23.

CLSI. Clinical and laboratory standards institute. National comitee for clinical laboratory standards: M27-A3 reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard – third edition. *NCCLS*, 2008, 9 – 10.

Costa-De-Oliveira, S., Rodrigues, A. G.: *Candida albicans* antifungal resistance and tolerance in bloodstream infections: the triad yeast-host-antifungal. *Microorganisms*, 2020, 8 (2), 1 – 19.

Espinel-Ingroff, A., Hockey, H., Johnson, E., Szekely, A., Troke, P.: Activity of voriconazole, itraconazole, fluconazole and amphotericin B *in vitro* against 1763 yeasts from 472 patients in the voriconazole phase III clinical studies. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2008, 32 (6), 511 – 514.

Fijan. S.: Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2014, 11 (5), 4745 – 4767.

Han, S. H., Kang, CH.-H., Kim, J.-S., Kim, Y. G., Paek, N.-S., So, J.-S.: *In vitro* probiotic properties of vaginal *Lactobacillus fermentum* MG901 and *Lactobacillus plantarum* MG989 against *Candida albicans*. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2018, 228, 232 – 237.

Han, Y., Ren, Q.: Does probiotics work for bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *Current Opinion in Pharmacology*, 2021, 61, 83 – 90.

Muturi, M., Nelson, M. Wanjiru, W.: Identification and susceptibility profile of vaginal *Candida* species to antifungal agents among pregnant women attending the Antenatal Clinic of Thika District Hospital, Kenya. *Open Journal of Medical Microbiology*, 2013, 3 (4), 239 – 247.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 33 – 51, 2023

PREHĽAD SKUPÍN ANTIMIKROBIÁLNYCH TERAPEUTICKÝCH LÁTOK NA BÁZE PEPTIDOV A PROTEÍNOV A ICH VYUŽITIE V TERAPII INFEKČNÝCH OCHORENÍ (PREHĽADOVÝ ČLÁNOK)

OVERVIEW OF PEPTIDE- AND PROTEINS-BASED ANTIMICROBIAL THERAPEUTICS AND THEIR USE IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASES (REVIEW ARTICLE)

Kasičová, Zuzana[1]; Mochnáčová, Evelína[1]; Bhide, Mangesh[1,2]

[1] Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie UVLF, Komenského 73, 041 81 Košice
[2] Neuroimunologický ústav Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 10 Bratislava
Slovenská republika

evelina.mochnacova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Terapeutické látky na báze peptidov alebo proteínov pôsobia proti širokému spektru mikroorganizmov, a to najmä baktériám a vírusom. Medzi hlavné výhody terapeutických látok na báze peptidov patrí vysoká účinnosť, vysoká špecifickosť, menej časté liekové interakcie a nízka toxicita. Ich hlavným benefitom je to, že pri ich použití nedochádza k rezistencii v porovnaní s antibiotikami, ktoré sa najčastejšie využívajú na liečbu infekcií. Získavajú sa z prírodných zdrojov, ale častejšie sú produkované synteticky. Využitie týchto terapeutických látok nachádza svoje uplatnenie taktiež v boji proti vírusom. V tomto článku predstavujeme prehľad vybraných skupín terapeutických látok na báze peptidov a proteínov, ktoré postupne nachádzajú uplatnenie v terapii infekčných ochorení.

Kľúčové slová: antimikrobiálne peptidy; baktérie; monoklonálne/polyklonálne protilátky; náhodne kombinované peptidy; nanoprotilátky; vírusy

ABSTRACT

Peptide- and protein-based therapeutic substances have been shown to be effective against a wide range of microorganisms, particularly bacteria and viruses. The primary benefits of peptide-based therapeutic agents include high efficacy, high specificity, fewer drug interactions, and low toxicity. Their main advantage is that, unlike an-

tibiotics, they do not aggravate resistance. They are obtained from natural sources and could be produced synthetically in bulk. These therapeutic substances also find their application in the fight against viruses. This article provides an overview of selected groups of peptide- and protein based therapeutic substances that are gradually finding application in the treatment of infectious diseases.

Key words: antimicrobial peptides; bacteria; monoclonal and polyclonal antibodies; nanobodies; random peptide mixtures; viruses

ÚVOD

Objav a vývoj antibiotík bol jedným z najväčších úspechov medicíny v 20. storočí a umožnil liečbu mnohých infekčných chorôb. Nadužívanie antibiotík síce znížilo morbiditu a mortalitu ľudí a zvierat postihnutých bakteriálnymi agensami, ale na druhej strane viedlo k vzniku rôznych nežiaducich účinkov. Príkladom je pozorovaný nárast výskytu dysbiózy u novorodencov, vedúcej k vzniku alergických a autoimunitných porúch (Strzepa a kol., 2018). Nadmerné používanie antibiotík spojené s ich nevhodnou konzumáciou a aplikáciou spôsobilo nárast výskytu multirezistentných kmeňov baktérií (Medina a Pieper, 2016).

V súčasnej dobe narastá potreba identifikovať a vyvíjať nové liečivá schopné eliminovať patogény. Možnosti prináša výskum prírodných antibakteriálnych látok, ako aj synteticky pripravených antimikrobiálnych liečiv, u ktorých sa očakáva vysoký antimikrobiálny efekt v kombinácii s nízkym toxickým a alergénnym účinkom na organizmus pacienta. Príkladom prírodných antibakteriálnych látok môže byť výskum neuropeptidov produkovaných v exokrinných žľazách určitých druhov obojživelníkov, ako napríklad u žiab rodu *Anura*. Viaceré z týchto neuropeptidov vykazujú chemickú a biologickú podobnosť s látkami produkovanými v tkanivách mozgu cicavcov (Cantalamessa a kol., 1986). Je dokázané, že rôzne druhy obojživelníkov produkujú peptidy s rozdielnou primárnou štruktúrou aminokyselinovej sekvencie, a tým vytvárajú repertoár antimikrobiálnych peptidov s rozdielnou biologickou aktivitou na mikroorganizmy (Tennessen a kol., 2009). Takéto peptidy zohrávajú dôležitú úlohu v biologických procesoch prebiehajúcich počas infekcií. Ich výskum je dôležitý z dvoch dôvodov: 1) ich biologická aktivita je účinná a overená už milióny rokov; 2) tvoria kľúčové zložky vrodeného imunitného systému, ktoré sú vo všeobecnosti potrebné pre existenciu stavovcov a bezstavovcov (Wang, 2015). Prírodne sa vyskytujúce antimikrobiálne látky boli dlhé obdobie považované za adekvátnu alternatívu k antibiotikám. Až jedna tretina zo všetkých novoschválených liečiv FDA (Food and drug administration, Správa potravín a liečiv) bola registrovaná ako látky antimikrobiálneho charakteru (Patridge a kol., 2016; Rossiter a kol., 2017). Avšak vzhľadom na výskyt určitých komplikácií pri aplikácii týchto liečiv, akými sú možná toxicita pre pacientov a ich nízka stabilita, nastala potreba vyvíjať nové molekuly s čo najvyššou mierou antibakteriálneho účinku a nízkou mierou nežiaducich účinkov po ich aplikácii. V tomto kontexte sa syntetické antimikrobiálne peptidy javia ako sľubná alternatíva prírodných antimikrobiálnych látok.

Revolúcia v produkcii monoklonálnych protilátok (mAb) v súčasnosti poskytuje mnoho nových možností liečby infekčných ochorení, a to predovšetkým pri tlmení vírusových infekcií. Sérová terapia bola jednou z prvých účinných terapií mikrobiálnych ochorení a už mnoho desaťročí je známy fakt, že špecifické protilátky majú početné antimikrobiálne vlastnosti.

V rámci tohto prehľadového článku budeme prezentovať rôzne typy terapeutických látok založených na báze peptidov alebo proteínov, ktoré sú roky známe a konvenčné, ale aj novovytvorené a ich potenciál pre uplatnenie je v rovine výskumu.

I. Antimikrobiálne peptidy (AMP)

AMP sú génovo kódované malé proteíny, ktoré sa prirodzene nachádzajú vo väčšine organizmov ako súčasť ich imunitného systému (Maron a kol., 2022). Sú

štrukturálne rôznorodé, obsahujú vysoký podiel bázických aminokyselín a tvoria štruktúry alfa-helixu, prípadne beta-skladaného listu (Hancock a Diamond, 2000). Spoločnými znakmi AMP je počet aminokyselinových zvyškov medzi 10 a 60. Väčšina AMP má katiónový náboj (priemerný náboj: 3,32) (Malkoski a kol., 2001; Schittek a kol., 2001); avšak vyskytujú sa aj AMP aniónovej povahy obsahujúce kyslé aminokyseliny, akými sú kyselina asparágová a kyselina glutámová (Lai a kol., 2007). Katiónové AMP pozostávajú najčastejšie z 12 – 50 zvyškov aminokyselín s čisto kladným nábojom. Viac ako 50 % aminokyselín je hydrofóbnych, čo sa odráža v interakcii peptidov s bakteriálnymi membránami ako súčasť mechanizmu ich účinku (Hancock a Chapple, 1999). Vzhľadom na rýchlu dostupnosť AMP dôležitých najmä pre vrodený imunitný systém predstavujú prvú líniu obrany (Ganz, 2003). AMP sú schopné zabíjať celý rad mikróbov vrátane baktérií, húb a parazitov (Vizioli a Salzet, 2002). Zároveň sú schopné generovať sa počas digescie proteínov získaných z potravy v gastrointestinálnom trakte (Thammasirirak a kol., 2010). Najúčinnejšie katiónové peptidy sa spájajú do molekúl, ktoré majú nabité a oddelené hydrofilné časti od hydrofóbnych, buď ako amfifilné štruktúry, alebo ako katiónové dvojkrídlové štruktúry s hydrofóbnym jadrom oddeľujúcim dva nabité segmenty.

AMP boli detegované aj v mozgu, ktorý je zriedkavo terčom mikrobiálnych infekcií. Mozog je chránený hematoencefalickou bariérou (HEB) a mozgovými blanami (Nassif a kol., 2002). Baktericídne vlastnosti HEB a mozgových blán nie sú známe, preto sa predpokladá, že práve AMP zohrávajú dôležitú úlohu v týchto bariérach. Príkladom je výskum Bergmana a kol. (2006), v ktorom pozorovali zvýšenú expresiu a produkciu AMP CRAMP (cathelin-related antimicrobial peptide) v mozgu a bunkách HEB myší infikovaných neuroinvazívnou baktériou *N. meningitidis*. Z výsledkov vyplýva, že CRAMP aktívne znižuje mieru meningokokovej infekcie centrálnej nervovej sústavy.

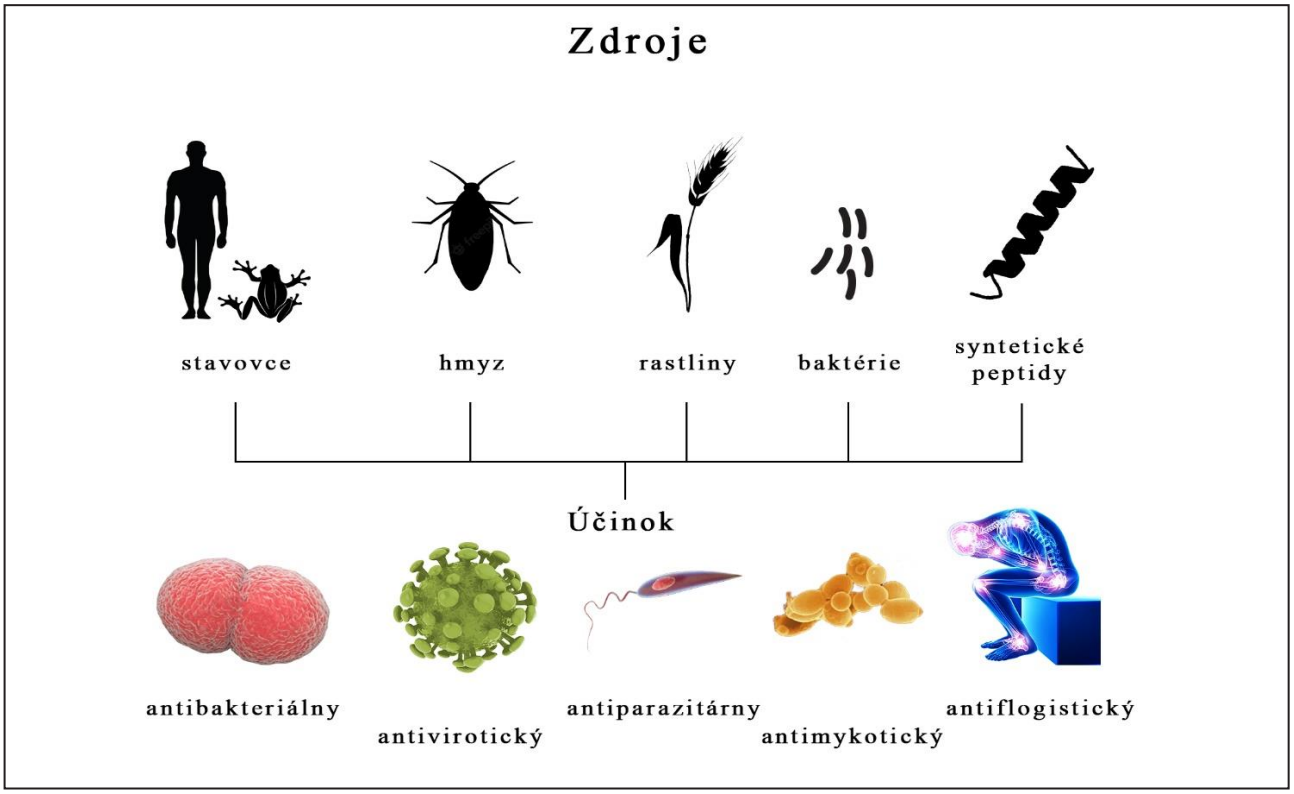
Prírodné AMP

AMP poskytujú obranu proti patogénom a škodcov v rôznych hostiteľských organizmoch, od mikróbov až po zvieratá (Egorov a kol., 2005). Prírodné AMP existujú v rôznych molekulárnych formách, avšak najčastejšie ako lineárne peptidy. Primárne sú tieto peptidy získavané z prírodných zdrojov, akými sú baktérie, prvoky, huby, rastliny, bezstavovce a stavovce (viď obr. 1). Baktérie sú taktiež producentmi polycyklických peptidov – lantibiotií (Wang a kol., 2009).

Stavovce: v značnej miere produkujú peptidy s antimikrobiálnym účinkom, akými sú defenzíny, katelicidíny, histatíny, protegríny atď. (Kavanagh a Dowd, 2004; Schneider a kol., 2005). V rámci skupiny prírodných antimikrobiálnych látok sú defenzíny hlavnou triedou obranných peptidov hostiteľa. Vykazujú imunomodulačné vlastnosti s antibakteriálnym, antivírusovým a antimykotickým účinkom (Sahl a kol., 2005; Wilson a kol., 2013; Cools a kol., 2017). Defenzíny majú veľkosť od 2 do 5 kDa a sú exprimované najmä neutrofilmi a epitelovými bunkami. Prvý cicavčí defenzín bol izolovaný z králičích makrofágov v roku 1980 (Patterson-Delafield a kol., 1981). U ľudí sa vyskytujú alfa a beta defenzíny, pričom bolo zistených 6 beta-defenzínov (štyri pochádzajú z granulocytov a lymfocytov) a sú známe ako ľudské neutrofilné peptidy (Lehrer, 2004). Defenzíny majú katiónovú povahu a ich štruktúra pozostáva z beta-skladaného listu, ktorý je stabilizovaný tromi konzervatívnymi intramolekulárnymi disulfidovými väzbami.

Histatíny zahŕňajú skupinu AMP, ktoré sa nachádzajú v slinách človeka a niektorých vyšších primátov. Ich veľkosť sa pohybuje v rozmedzí od 7 do 38 aminokyselín. Sú vylučované slinnými žľazami (podsánkové a príušné) (Helmerhorst a kol., 1997). Majú antimykotický účinok. Ich mechanizmus účinku spočíva v naviazaní na receptor bunkovej membrány húb, kde následne vstupujú do cytoplazmy smerom k mitochondriám. Mykotické bunky, ktoré sa aktívne podieľajú na dýchaní strácajú adenozíntrifosfát, čo môže vyvolať bunkovú smrť a zároveň vedie k tvorbe reaktívneho kyslíka. Ich využitie je možné pri liečbe

Obr. 1: Zdroje antimikrobálnych peptidov a ich účinky



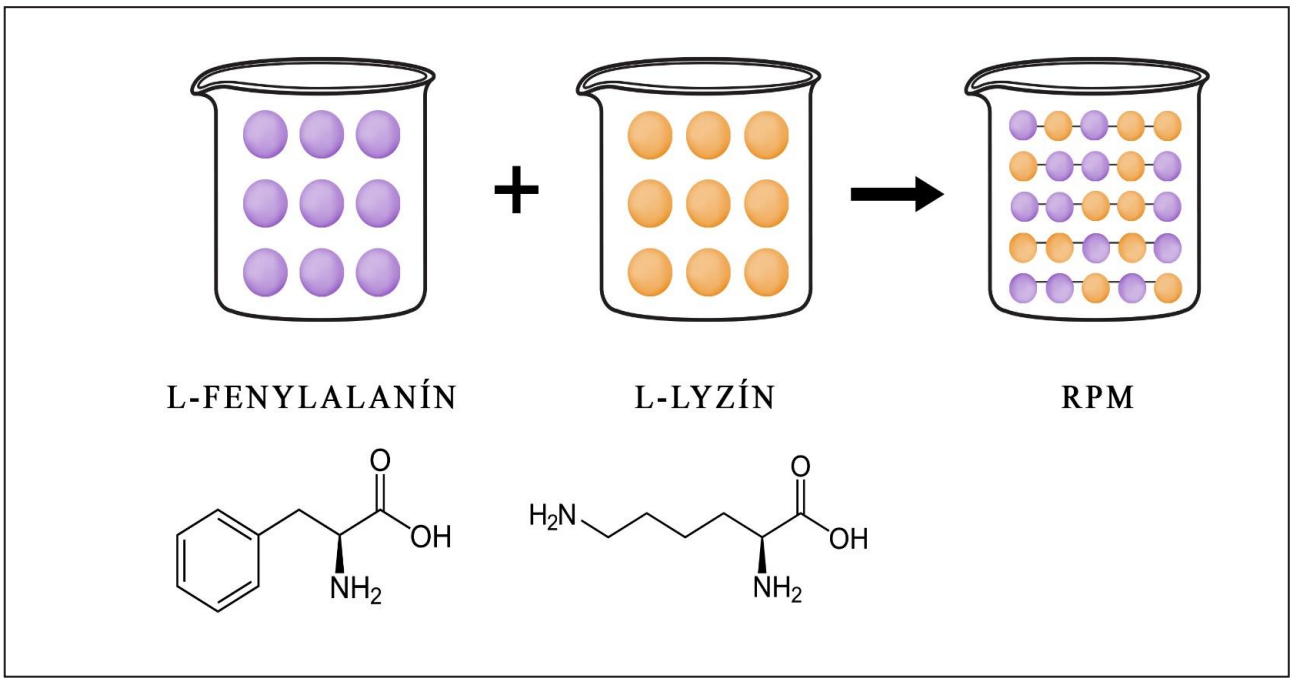
Prírodné a syntetické zdroje AMP a ich účinky. Klasifikácia vplyvu antibakteriálnych peptidov na rôzne typy organizmov.

orálnych mykotických infekcií (Kavanagh a Dowd, 2004).

Ďalším významným AMP cicavcov je laktoferín. Tento 80-kDa glykoproteín má významné uplatnenie v procesoch vrodenej imunity. V rámci svojej biologickej aktivity pôsobí ako antimikrobiálne a antivirálne činidlo, antioxidant, imunomodulátor, modulátor bunkovej proliferácie atď. (Lonnerdal a Iyer, 1995; Brock, 1995). Prirodzene sa vyskytuje ako hlavná zložka mlieka, ale je taktiež prítomný aj v granulách neutrofilov alebo sekrétoch exokrinných žliaz (slzy, sliny, hlien krčka maternice). Zaujímavosťou je, že pomocou proteolytického štiepenia laktoferínu pepsínom dochádza k vzniku laktofericínu B, ktorý inhibuje rast širokého spektra G+ (*Proteus vulgaris*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Corynebacterium perocytogenesis*) a G– baktérií (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*). Laktofericín pôsobí antimikrobiálne prostredníctvom narušenia integrity bakteriálnej bunkovej membrány, pričom pôsobí synergicky s inými antimikrobiálnymi činidlami (Wakabayashi a kol., 2003). Na dosiahnutie antibakteriálneho účinku laktofericínu B je potrebná koncentrácia od 0,3 do 150 $\mu g.ml^{-1}$, a to v závislosti od druhu baktérie a použitého média. Proti kmeňu *E. coli* O111:H18 bol účinný laktoferín v rozmedzí pH od 5,5 do 7,5. K inhibícii antibakteriálnej aktivity došlo v prítomnosti iónov Na^{+}, K^{+}, Mg^{2+} a Ca^{2+}. Medzi rezistentné druhy baktérií voči tomuto peptidu patria *Pseudomonas fluorescens*, *Enterococcus faecalis* a *Bifidobacterium bifidum* (Bellamy a kol., 1992).

Obojživelníky: v súčasnosti je všeobecne známe, že v rámci stavovcov práve pokožka obojživelníkov (predovšetkým žaby patriace do podčeľade *Phyllo-*

Obr. 2: Schematické znázornenie princípu syntézy náhodne kombinovanej zmesi peptidov



Reakciou náhodných kombinácií aminokyselín (L-FENYLALANÍN a L-LYZÍN) vznikajú náhodné zmesi peptidov (RPM).

medusinae) produkuje široký repertoár prirodzených AMP všeobecne známych ako dermaseptíny (Patocka a kol., 2019; Casciaro a kol., 2020). Okrem svojej primárnej úlohy pri ochrane hostiteľa pred inváziou infekčnými mikroorganizmami môžu tieto peptidy vykazovať funkcie súvisiace s moduláciou imunitného systému hostiteľa, ako napr. neutralizácia endotoxínu a chemotaxie a zvýšenie imunitnej aktivity počas hojenia rán (van Harten a kol., 2018; Patocka a kol., 2019). V posledných desaťročiach bolo z kožného sekrétu obojživelníkov získaných viac ako 1000 rôznych AMP. Žaby produkujú najčastejšie temporíny (Ladram a Nicolas, 2016); pričom každý druh žaby je schopný vyprodukovať 10 – 20 AMP s rôznymi sekvenciami, veľkosťou a spektrom účinku. Sú heterogénnou triedou peptidov, ktoré majú spoločné tri znaky, a to kladný náboj (prítomnosť bázických aminokyselín), minimálne 50 % zastúpenie hydrofóbnych aminokyselín a sklon k tvorbe štruktúry alfa-helixu alebo beta-skladaného listu pri interakcii s fosfolipidovou membránou cieľovej bunky (Ladram a Nicolas, 2016). Kožné AMP obojživelníkov sú vysoko účinné voči rezistentným baktériám, prvokom, kvasinkám, hubám. Ich nevýhodou je náročný a nákladný výskum a vývoj, prípadne cytotoxicita. V rámci čeľade *Phyllomedusinae* bolo izolovaných 74 odlišných AMP. Napriek tomu, že sa tieto AMP od seba navzájom líšia v aminokyselinovom zložení, dĺžke sekvencií, miery hydrofóbnosti a distribúcie náboja, ich spoločným znakom je prítomnosť tryptofánu v konzervatívnej časti peptidu. Členovia tejto skupiny AMP majú charakter katiónových peptidov, ktoré atakujú membránu po naviazaní na lipidy bunkovej steny a následne prechádzajú cez bunkovú stenu prostredníctvom prechodu tzv. coil-to-helix (Brand a kol., 2006). Väčšina AMP z tejto skupiny má baktériocídny účinok v mikromolárnych dávkach proti širokému spektru mikroorganizmov, a to pre G+ a G– baktérie, huby a kvasinky. Na druhej strane vykazuje každý peptid určité variácie vo svojej an-

Tab. 1: Príklady vybraných liečiv na báze polyklonálnych protilátok

Názov lieku na báze pAb	Infekcia vyvolaná	Indikácie
BIG (botulinum immune globulin)	botulotoxín	liečba dojčiat
CMV-IGIV (cytomegalovirus immune globulin)	cytomegalovírus (CMV)	prevencia pri transplantácii orgánov
HBIG (hepatitis B immune globulin)	vírus hepatitídy B	prevencia pri transplantácii orgánov
HRIG (human rabies immune globulin)	vírus besnoty	po expozícii
ISG (immune serum globulin)	– vírus hepatitídy A – vírus hepatitídy B – osýpky	prevencia pri cestovaní/ po expozícii prevencia pri cestovaní/ po expozícii po expozícii
RSV-IGIV (respiratory syncytial virus immune globulin)	respiračný syncyciálny vírus	prevencia u vysoko ohrozených dojčiat
TIG (tetanus immune globulin)	tetanotoxín	po expozícii a liečbe

Zdroj: upravené podľa Graham a Ambrosino, 2015

timikrobiálnej aktivite. Výhodou je, že všetky dermaseptíny, okrem DRS-S4, nie sú alebo sú len slabo toxické pre cicavčie bunky. Antivirálny účinok bol potvrdený u dermaseptínov S1 – S5, ktoré vykazovali aktivitu proti herpes simplex vírusu a HIV-1, pričom ich aktivita bola pozorovaná už v malých dávkach narušením viriónu (Lorin a kol., 2005).

Rastliny: AMP izolované z rastlín boli vyvinuté odlišne ako ostatné formy AMP. Rastlinné AMP sú bohaté najmä na cysteínové zvyšky, ktoré tvoria mnohopočetné disulfidy. Tie im poskytujú vysokú chemickú, proteolytickú a tepelnú stabilitu. Do skupín sa klasifikujú na základe sekvencie cysteínu, ktorá určuje charakteristické formy disulfidových väzieb a terciárnu štruktúru. Medzi rastlinné AMP bohaté na cysteín patria defenzíny, tioníny, peptidy podobné heveínu (hevein-like peptides), proteíny na prenos lipidov, snakíny a ďalšie (Tam a kol., 2015). Približne 2 – 3 % expimovaných peptidov na báze cysteínu bolo prítomných v ryži siatej (*Oryza sativa*) a arábovke Thalovej (*Arabidopsis thaliana*) (Silverstein a kol., 2007). Mechanizmus účinku AMP pochádzajúcich z rastlín je odlišný ako pri živočíšnych AMP. Napríklad peptidy podobné heveínu viažu chitíny. Tzv. knottins peptides (komplexné peptidy stabilizované cystinovým uzlom s rôznorodou funkciou) inhibujú proteázy a proteíny prenášajúce lipidy, čím zabraňujú prenikaniu mikroorganizmov cez membrány buniek (Tam a kol., 2015).

Syntetické antimikrobiálne peptidy (S-AMP)

Ďalšiu skupinu tvoria S-AMP (Wang a kol., 2009). Pre interakciu S-AMP je rozhodujúci kladný náboj peptidov s negatívnou časťou fosfolipidu. Hydrofóbna časť je nevyhnutná pre ich inkorporáciu do hydrofóbnej membrány. Helicita peptidu a nepolárna časť alfa-helixu sú dôležité pre úspešné včlenenie do membrány a následnú tvorbu pórov (Huang a kol., 2010). Objav fágového displeja Georgeom P. Smithom viedol k novej ére vo vývoji liečiv založených na báze peptidov (Smith, 1985). Vývoj kombinatoriálnej knižnice peptidov exprimovaných na povrchu bakteriofága otvoril nové možnosti vo výskume a vývoji antimikrobiálnych liečiv. Prostredníctvom technológie kombinatoriálneho fágového displeja bolo objavených mnoho AMP určených pre liečbu bakteriálnych a vírusových infekcií (Castel a kol., 2011; Flachbartova a kol., 2016; Mertinkova a kol., 2021). V súčasnosti komerčná spoločnosť New England Biolabs ponúka komerčne dostupné súpravy kombinatoriálnych peptidových knižníc, a to heptapeptidovú (Ph.D.™-7), dodekapeptidovú (Ph.D.™-12) a cyklickú heptapep-

tidovú knižnicu (Ph.D.™-C7C). Knižnice Ph.D.™-7 a Ph.D.™-12 obsahujú peptidy v lineárnej forme, zatiaľ čo knižnica Ph.D.™-C7C ponúka kombinácie 7-mérových peptidov usporiadaných do tvaru slučky (NEB). Výhodou nízkomolekulových peptidov je ich efektívna distribúcia do imunitne privilegovaných tkanív, ako sú centrálna nervová sústava, chrupavka, semenníky a iné. Tieto peptidy dokážu prechádzať cez prirodzené bariéry v tele a pôsobiť v mieste infekcie. V rámci vývoja antivirálnych peptidov sa kladie dôraz na efektívnu ligand-blokujúcu aktivitu. Peptid s vysokou špecifickou aktivitou k ligandu virálnej častice blokuje jeho adhéziu na receptory hostiteľských buniek, a tým zabraňuje penetrácii vírusu do bunky. V neposlednom rade S-AMP môžu mať navrhnuté vlastnosti, ktoré nie sú bežne prítomné v prírodných peptidoch (Oliveir a kol., 2019).

Nové možnosti terapie infekčných chorôb prinášajú aj tzv. náhodne kombinované zmesi peptidov (random peptide mixtures – RPM), u ktorých bola potvrdená antimikrobiálna aktivita (Topman a kol., 2018; Topman-Rakover a kol., 2020). Tieto RPM sú produkované synteticky, a to náhodnou kombináciou dvoch aminokyselín majúcich katiónovú a hydrofóbnu povahu (viď obr. 2). Ich podskupinou sú aj krátke lipo-RPM, ktoré sú obohatené o kyselinu palmitovú. Napríklad RPM s názvom p-FdK5 pozostávajú z L--fenylalanínu a D-lyzínu, ktoré vytvárajú 5-mérny lipo-RPM (Topman a kol., 2018). Tento lipoproteín má vysokú antibakteriálnu aktivitu proti niekoľkým bakteriálnym kmeňom. Okrem toho boli preštudované aj ďalšie možné kombinácie lipoproteínov zmesi p-FdK5. Zistilo sa, že ich antimikrobiálna aktivita je závislá od hydrofóbnej povahy peptidu a od umiestnenia hydrofóbnych aminokyselín vzhľadom na kyselinu palmitovú. Pozitívne interakcie medzi rôznymi sekvenčne špecifickými lipopeptidmi z hľadiska antimikrobiálnej aktivity potvrdili testy synergizmu (Zieleniewski a kol., 2020). V testoch *in vivo* na myšacích modeloch infikovaných *Staphyloccoccus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* bola sledovaná bakteriocídna aktivita RPM. Účinok bol pozorovaný pri bakteriémii (napr. akútna pneumónia). RPM môžu byť uplatnené ako širokospektrálne terapeutiká proti patogénom, ktoré sú rezistentné na antibiotiká (Bennett a kol., 2021).

II. Využitie protilátok v terapii vírusových ochorení

Monoklonálne protilátky (mAb)

Prvé ľudské monoklonálne protilátky (mAb) boli produkované pred viac ako 30 rokmi. Tvorba prebiehala dvomi možnými technológiami. Prvou technológiou bol fágový displej s možným výberom antigén--špecifických väzbových prvkov z knižníc krvných lymfocytov. Na druhú technológiu produkcie mAb sa používali transgénne myši s integrovanými ľudskými imunoglobulínovými lokusmi (Ig) (Brüggemann a kol., 1989; Brüggemann a kol., 2015). Napriek tomu, že mAb z myší sú ľahko produkované, ich imunogenicita u ľudí je vo veľkej miere obmedzená pre terapeutické účely (Co a kol., 1991). V praxi prvá mAb s myším fragmentom nebola účinná. Imunitný systém pacienta ju rozoznal totiž ako antigén. Následne došlo k tvorbe neutralizačných protilátok, ktoré limitovali účinnosť terapie.

Na produkciu transgénnych protilátok, ktoré sú príbuzné, prípadne rovnaké ako ľudské, je nevyhnutné rôznorodé preskupenie kombinované s vysokou expresiou variabilných (variable, V), rôznorodých (diversity, D) a spájajúcich (joining, J) segmentov génov ideálne z veľkého genofondu. Tieto vlastnosti boli použité vo vybraných líniách hlodavcov, avšak neboli totožné s ľudskými konštruktami (Kellermann a Green, 2002). V súčasnej praxi sú dostupné vhodné alternatívy, ktoré eliminujú používanie zvierat pri produkcii mAb. Príkladom je využitie knižníc prezentujúcich protilátky (antibody displayed libraries), ktoré umožňujú izolovať protilátky s vysokou afinitou k antigénu. Tieto protilátky môžu byť následne produkované v expresných systémoch, akými sú cicavčie bunky, prokaryorické organizmy alebo kvasinky (de Moraes a kol., 2020).

Využitie

Monoklonálne protilátky sa v súčasnosti uplatňujú pri terapii vírusových, bakteriálnych a onkologických ochorení. Okrem toho je možné ich využitie aj pri vakcinácii.

Špecifická liečba určitých vírusových infekcií je v súčasnosti zameraná prevažne na blokovanie väzbových ligandov. V tomto prípade sú často aplikované špecifické mAb. Je možné ich použiť ako neutralizačné protilátky, ktoré zabraňujú väzbe a vstupu vírusu do hostiteľskej bunky, vďaka čomu našli uplatnenie v liečbe akútnej fázy vírusových ochorení (Marasco a Sui, 2007). Avšak limitom môže byť vysoká špecifickosť mAb pre konkrétny kmeň, z čoho vyplýva zníženie neutralizačnej aktivity mAb pri mutáciách vírusu (Chao a kol., 2020).

Prehľad vírusov eliminovaných aplikáciou mAb

Respiračný syncyciálny vírus

Ľudský respiračný syncyciálny vírus (respiratory syncytial virus, RSV, *Paramyxoviridae*, *Pneumovirus*) spôsobuje problémy dolných častí respiračného traktu najmä u starších a imunodeficientných pacientov (Falsey a Walsh, 2000) a predčasne narodených detí (Ventre a Randolph, 2007). U detí je hlavnou príčinou akútnych respiratórnych infekcií, pričom môže viesť k chorobnosti a úmrtnosti detí (Andabaka a kol., 2013).

Z antivirotík sa na liečbu používa Ribavirín (Patterson a Fernandez-Larsson, 1990). K poklesu hospitalizácií malých detí v dôsledku RSV došlo vďaka terapii pomocou kombinácie purifikovaného IgG a palivizumabu (Fenton a kol., 2004). Palivizumab je humanizovaná mAb, ktorá sa využíva na prevenciu závažných ochorení dolných dýchacích ciest. Mechanizmus účinku je založený na blokovaní miesta na epitope antigénu. Vďaka tejto inhibícii dochádza k zastaveniu replikácie vírusu v nazálnej a tracheálnej časti dýchacieho traku u dojčiat (Scott a Lamb, 1999).

Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti

V minulosti sa na terapiu syndrómu získanej imunodeficiencie (acquired immune deficiency syndrome – AIDS) využívali mAb, ktoré boli účinné v terapii nádorových ochorení (Mitov a Terziiski, 1991). Protilátky uplatňujúce sa v liečbe infekcie spôsobenej vírusom ľudskej imunitnej nedostatočnosti (human immunodeficiency virus, HIV) majú viesť k neutralizácii vírusu alebo lýze infikovaných buniek, pričom by nemali zvyšovať infekciu (Forthal a kol., 1995). V rámci patogenézy vírusu sa obalový glykoproteín gp120 viaže na chemokínový receptor 5 (CCR5), čím dochádza k penetrácii HIV do CD4+ buniek (Lederman a kol., 2006). PRO 140 je ľudská mAb interagujúca s CCR5, ktorá pôsobí inhibične na vírus a blokuje jeho adhéziu (Murga a kol., 2006). V rámci terapie sa PRO 140 aplikuje pacientom subkutánne v týždňových až dvojtýždňových intervaloch. Vo všeobecnosti je liečba veľmi dobre tolerovaná (Jacobson a kol., 2010).

Trogarzo® je liek s účinnou mAb ibalizumab (Morrow, 2018). Bol navrhnutý tak, aby sa naviazal na CD4 receptor (cieľ), nachádzajúci sa na povrchu buniek T-lymfocytov. Spomaľuje šírenie HIV a odďaľuje poškodenie imunitného systému a vznik infekcie súvisiacej s chorobou AIDS. Jeho podávanie sa odporúča s antiretrovírusovými liekmi (Elliott a Chan, 2018).

Od HIV pozitívnych pacientov sa získavajú mAb GPL20 a GP41 (Banapour a kol., 1987) a polyklonálne lymfoblastoidné bunkové línie, pričom dochádza k vzniku mnohých anti-HIV pozitívnych klonov (Boyer a kol., 1991).

Akútny respiračný syndróm

Akútny respiračný syndróm (severe acute respiratory syndrome – SARS-CoV-2) sa stal hlavným predmetom výskumu pre mnohé liečebné postupy vrátane aplikácie terapeutických mAb, ktoré možno použiť ako typ pasívnej imunoterapie na minimalizáciu virulencie (Hu a kol., 2021). MAb sa ukázali ako vhodní kandidáti na terapiu SARS-CoV-2. Sú zamerané na spike glykoproteín nachádzajúci sa na povrchu vírusu, pričom blokujú interakciu s angiotenzín-konvertujúcim enzýmom 2 (angiotensin-converting enzyme 2 – ACE2), čím bránia vstupu víru-

su do bunky (Passariello a kol., 2021). Nakoľko je ACE2 prítomný na povrchu mnohých typov buniek, blokovaním vírusovej častice je zabezpečené efektívne zastavenie replikačného cyklu vírusu (Ju a kol., 2020). Použitie monoklonálnych protilátok indukuje u pacienta taktiež imunitné reakcie vedúce k aktivácii špecifickej imunity, čím sa prispieva nielen k eliminácii infekčného agensu, ale taktiež aj k profilaxii (Lu a kol., 2020). Výhodou mAb oproti vakcínam je terapia už aj koronavírusom infikovaných pacientov. Je to obzvlášť výhodné pre vysoko rizikové skupiny pacientov (Marovich a kol., 2020). Zaujímavosťou je, že anti-SARS-CoV-2 mAb sú najčastejšie izolované z B-lymfocytov pacientov, ktorí nedávno prekonali infekciu COVID-19. V prvotných fázach pandémie boli použité aj protilátky získané od ľudí infikovaných SARS-CoV počas roku 2003. Do skupiny mAb, ktoré pochádzajú z buniek od COVID-19 rekonvalescentných pacientov patria bamlanivimab (LY-CoV555, Eli Lilly and Company, USA); etesevimab (LY-CoV016, Eli Lilly and Company, USA) a casirivimab/imdevimab (REGNCOV2, Regeneron Pharmaceuticals, USA) (Jones a kol., 2020).

Vírus besnoty

Besnote (pôvodca *Lyssavirus)* je možné predísť dôkladným vyčistením rany a podaním profylaktickej kombinácie vakcíny proti besnote a imunoglobulínu proti besnote (rabies immunoglobulin, RIG) (Rupprecht a Gibbons, 2004). Aj keď bol RIG prvýkrát použitý už v roku 1974, stále prebieha inovácia jeho molekulovej štruktúry, ktorá je ovplyvnená progresom v biotechnologickom priemysle (Rupprecht a kol., 2002). Rozoznávame dva typy RIG, a to ľudský RIG (HRIG) a konský RIG (ERIG). Sú vytvorené zo zmiešaného séra ľudských, prípadne konských darcov očkovaných proti vírusu besnoty. V súčasnosti je dostupných viac ako 11 ERIG a 12 HRIG z ľudskej plazmy (Chao a kol., 2020). WHO navrhlo mAb proti besnote ako praktickú alternatívu k RIG najmä v rozvojových krajinách. Potenciálne mAb sa ukazujú tie, ktoré neutralizujú vírus besnoty (Bakker a kol., 2005).

Pod pojmom kokteil mAb rozumieme zmes niekoľkých mAb s požadovanými špecifikami v jednom liečivom produkte. Doposiaľ bolo vytvorených niekoľko protilátkových kokteilov, ktoré mali poskytnúť náhradu za ľudské polyklonálne protilátky. Kokteily mAb neutralizujúce vírus besnoty boli testované na *in vivo* modeloch (Morimoto a kol., 2001). Konkrétne kokteil CL184 pozostáva z dvoch mAb (CR57 – ľudský IgG1 lambda a CR4098 – ľudský IgG1 kappa). Pôsobia proti odlišným, neprekrývajúcim sa epitopom vírusu besnoty, vďaka čomu navzájom nesúťažia o väzbové miesto na glykoproteíne vírusu (Bakker a kol., 2005; Marissen a kol., 2005). Tolerancia u pacientov po podaní mAb kokteilu CL184 bola veľmi priaznivá v porovnaní s intramuskulárnym podaním HRIG a ERIG (Lang a kol., 1998). Menej ako 40 % pacientov v každej testovanej skupine uvádzalo iba bolesť v mieste vpichu. Iné nežiaduce účinky neboli pozorované. Ďalšou výhodou je účinok v terapeutickej dávke menšej v porovnaní s HRIG a ERIG, čo uľahčuje infiltráciu požadovaného liečiva priamo do rany. Zároveň dochádza aj k lepšej tolerancii a úspešnosti liečby (Wilde, 2007).

Ďalšie možnosti terapie predstavuje kokteil mAb SYN023. Je ekvimolárnou zmesou 2 humanizovaných monoklonálnych IgG1 kappa protilátok a CTB012.3 SYN023 komponentov. Tieto dve zložky sa nekompetitívne viažu na neprekrývajúce sa epitopy vo vysoko konzervovaných oblastiach glykoproteínu vírusu besnoty (McClain a kol., 2021).

Rýchly účinok sa dostaví aj po podaní kokteilu mAb RVC20 a RVC58. Je podávaný lokálne v mieste infekcie alebo priamo do CNS. Výhodou je to, že sa môže aplikovať aj po nástupe neurologických symptómov (de Melo a kol., 2022).

Polyklonálne protilátky (pAb)

Polyklonálne protilátky (polyclonal antibodies, pAb) sú heterogénne a viažu sa na vybrané epitopy. PAb sú zmesou protilátok, ktoré rozpoznávajú rôzne epitopy špecifického antigénu a môžu byť získané zo séra po umelej imunizácii hostiteľa. Majú schopnosť rozpoznať viacero epitopov, vyššiu citlivosť a afini-

tu v porovnaní s mAb. Sú tolerantnejšie voči malým zmenám antigénu (Ascoli a Aggeler, 2018). Nie sú špecifické v porovnaní s mAb (Stills, 2012). Polyklonálne imunoglobulíny, ktoré sa aplikujú intravenózne, pochádzajú od stoviek až tisícok ľudských darcov.

Prvé polyklonálne sérum bolo v imunoterapii použité v roku 1891 Emilom von Behringom a Shibasaburo Kitasom. Sérum bolo účinné pri liečbe záškrtu a pochádzalo z králikov, ktoré boli imunizované difterickým toxínom produkovaným baktériou *Corynebacterium diphtheriae* (Winau a Winau, 2002). Dodnes sa využíva v terapii mnohých ochorení, najmä tých, ktorých pôvodcami sú vírusy, bakteriálne toxíny a jedy. Séra svoje uplatnenie našli aj počas pandémie vtáčej chrípky v roku 1918. S objavom antibiotík záujem o terapiu bakteriálnych infekcií sérovou terapiou poklesol. Na druhej strane sa séra pAb využívali pri liečbe infekcií, proti ktorým dostupné antibiotiká neboli účinné. V tabuľke 1 sú zhrnuté použité liečivá na báze pAb proti vybraným infekčným agensom.

V súčasnosti sa na produkciu pAb najčastejšie využívajú stavovce, hlavne králiky (Caporale a kol., 2015). Ďalším spôsobom produkcie pAb je technológia TransChromo (TC). Princípom tejto metódy je zavedenie segmentov DNA vo väčšej veľkosti do buniek. TC Mouse™ je schopná exprimovať rozmanitý repertoár protilátok vrátane podtried IgG (IgG1 – IgG4) (Ishida a kol., 2002). Do tretej skupiny patrí transchromozomálny dobytok (TcB). Je upravený tak, aby došlo k vyradeniu lokusov hovädzieho ťažkého a ľahkého reťazca lambda a exprimovaniu nepreskupených lokusov ťažkého a ľahkého reťazca kappa ľudského imunoglobulínu z umelého ľudského chromozómu. Takýmto spôsobom dochádza k produkcii veľkého množstva plne humanizovaných antigén-špecifických pAb (Sano a kol., 2013; Hooper a kol., 2014).

Terapia pAb sa využíva v liečbe vírusových ochorení, proti ktorým nie sú účinné žiadne dostupné liečivá (Dixit a kol., 2016). Napríklad na terapiu akútnej hemoragickej horúčky (*Filoviridae*) sa v minulosti využívali séra od rekonvalescentných pacientov (Parren a kol., 2002). Nedávne štúdie zistili, že viacdávkový systém polyklonálneho IgG purifikovaného z rekonvalescentných sér je účinný pri podaní do 48 hodín po expozícii. Kokteil troch humanizovaných protilátok ZMapp bol účinný pri podaní do 5 dní (Dye a kol., 2012). Na tieto experimenty sa využíva TcB (Sano a kol., 2013; Hooper a kol., 2014).

Ebola

Výhodou pAb je, že poskytujú okamžitú ochranu po expozícii patogénom v neprítomnosti vakcíny, prípadne keď sú hladiny imunitnej odpovede nízke. V prípade sérových protilátok sa terapeutický účinok dostaví na 10. – 14. deň po primárnej imunizácii a účinná ochrana môže vyžadovať opakovanú imunizáciu na udržanie vysokých hladín neutralizujúcich protilátok. Pasívna imunizácia špecifickými pAb alebo fragmentami proti agensom ochorení má výhodu v tom, že ponúka klinickú ochranu ihneď po expozícii patogénmi (Newcombe a Newcombe, 2007).

Vtáčia chrípka

Vírusy vtáčej chrípky (*influenzavirus* kmene HPAI; H5N1 a H7N9) sú vysoko patogénne. Na ich liečbu sa využíval oseltamivir, avšak u HPAI a H5N1 došlo k rezistencii (Dixit a kol., 2013). V ohniskách výskytu bola úspešne aplikovaná liečba pomocou imúnnych sér (Wu a kol., 2010). V terapii sa využívajú aj pAb získané z oviec. Fragmenty ovčích pAb sa v súčasnosti uplatňujú v terapii ochorení spôsobenými influenza vírusmi. Sú vysoko účinné a finančne nenáročné pre produkciu v porovnaní s protilátkami získanými od koní a ostatných veľkých cicavcov. V tomto prípade predstavuje riziko kontaminácia spôsobená priónovými proteínmi. Z toho dôvodu sa využívajú najmä séra pochádzajúce z krajín ako je Austrália a Nový Zéland, ktoré sú bez výskytu priónových infekcií (Stevens a kol., 2016).

Zika vírus

V súčasnosti nie sú dostupné žiadne liečivá, ktoré by bolo možné použiť v terapii Zika vírusu (*Flaviviridae*). Z pAb prebieha testovanie humánnych ZIKV62-640 na myšiach. Pri týchto experimentoch

Tab. 2: Porovnanie vlastností monoklonálnych a polyklonálnych protilátok

	Monoklonálne protilátky	Polyklonálne protilátky
Zdroj	1 klon B-lymfocytov	zmes protilátok
Rozoznávanie epitopov	len 1 epitop	viacero epitopov
Špecifickosť	monošpecifické	polyšpecifické
Produkcia	v čase potreby (zložitá)	nie je obmedzená (jednoduchá)
Cena	finančne náročné	cenovo dostupné

je využívaný aj TcB. Zistilo sa, že terapeutická dávka 50 $mg.kg^{-1}$ ľudskej pAb podaná do 24 hodín po infekcii v myšacom modeli zabránila rozvoju ochorenia a úmrtnosti (Branche a kol., 2019).

Budúcnosť terapie pAb

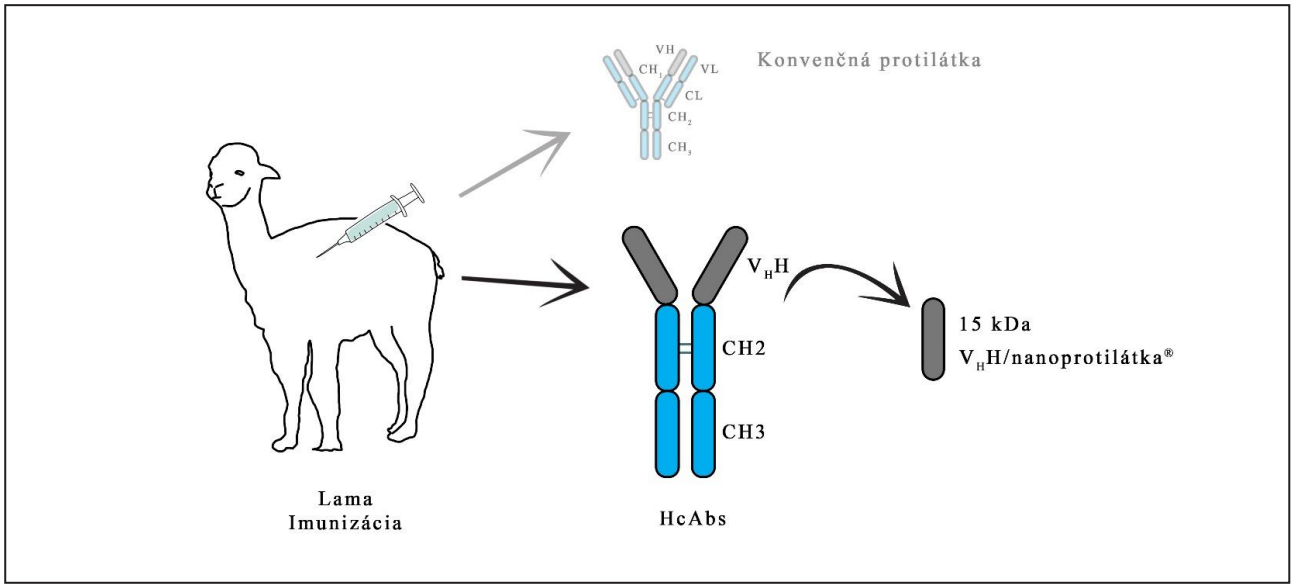
V ostatných rokoch dochádza k revolúcii v terapii liečivami na báze pAb (Saylor a kol., 2009). MAb majú výhodu v tom, že sú zamerané na jeden špecifický epitop patogéna, ktorý vyvoláva infekciu. Pri terapii pAb vznikajú polyvalentné interakcie, ktoré umožňujú aplikáciu liečebných postupov proti viacerým epitopom a antigénom (viď tab. 2). Ďalšou výhodou je to, že najviac imunogénne epitopy sú prirodzene vybrané hostiteľom. Vďaka tomu dochádza k vývoju a produkcii polyklonálnych produktov, ktoré sú zamerané na množstvo biochemických dráh (Bregenholt a Haurum, 2004). Farmaceutické spoločnosti sa sústreďujú na aktívnu imunoterapiu, vakcinačné stratégie využívajúce vírusové antigény, bakteriálne toxíny, prípadne bunkové faktory uvoľňujúce patogénne bunky, a to na vyvolanie vrodenej polyklonálnej protilátkovej odpovede v terapii mnohých ochorení, vrátane AIDS, rakoviny a alergií (Zagury a Gallo, 2004).

Nanoprotilátky (nAb)

Nanoprotilátky® (nAb), tiež známe aj ako monodoménové protilátky, sú triedou proteínov pozostávajúcich z variabilného úseku ťažkého reťazca protilátok (variable domains of heavy-chain of antibody, V_HH) odvodených z čeľade *Camelidae* (ťavovité). nAB viažu antigén a zároveň dosahujú porovnateľné vlastnosti väzbovej afinity a špecifickosti s klasickými protilátkami (Ruiz-López a Schuhmacher, 2021). Na ich produkciu je potrebná imunizácia ťavovitých zvierat, z ktorých sa následne izoluje špecifická väzbová oblasť (V_HH). Zaujímavosťou je, že sérum ťavovitých je zdrojom ako konvenčných protilátok (pozostávajúcich z dvoch ťažkých a dvoch ľahkých reťazcov), tak aj iného typu protilátok tvoreného iba dvoma ťažkými reťazcami (heavy chain antibodies, HcAbs). Aj keď HcAbs postrádajú konštantnú časť ťažkého reťazca (CH1 región), stále obsahujú región V_HH zodpovedný za špecifickú interakciu antigénu s protilátkou. Identifikáciou a produkciou týchto jedinečných, antigén-špecifických regiónov V_HH získavame V_HH protilátky, alebo ináč zvané nAb (Hamers-Casterman a kol., 1993) (viď obr. 3).

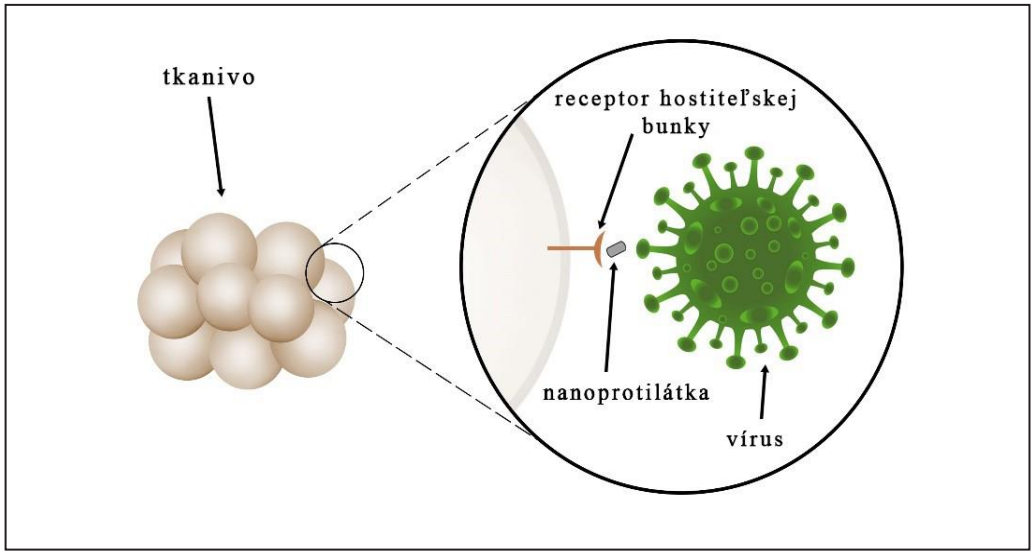
Oblasti V_HH môžu byť amplifikované pomocou PCR na tvorbu menších fragmentov protilátok s plnou väzbovou schopnosťou. V porovnaní s konvenčnými protilátkami sú výkonnejšie kvôli ich nízkej hmotnosti (15 kDa), stabilite v nepriaznivých podmienkach (vysoké teploty, extrémne vysoké pH) a možnosti rekombinantnej produkcie (Hamers-Casterman a kol., 1993). V slučke nAb, ktorá viaže antigén, dominuje vyčnievajúca CDR3 (complementarity-determining region 3), ktorá tvorí konvexný paratop (De Genst a kol., 2006). Mechanizmus účinku nAb je schematicky znázornený na obrázku 4. Benefitom nAb je to, že sú schopné dosiahnuť aj štrbiny receptorov, prípadne

Obr. 3: Izolácia nanoprotilátok®



Imunizáciou zvieraťa patriaceho do čeľade ťavovitých (*Camelidae*) sa získavajú HcAbs, z ktorých sa identifikujú antigén-špecifické regióny V_HH. Následne sa produkujú V_HH nAb.

Obr. 4: Mechanizmus účinku nanoprotilátky®



Zablokovanie interakcie medzi receptorom a ligandom vírusu pomocou nanoprotilátky®.

väzbové miesta, ktoré sú pre bežné protilátky nedostupné. Taktiež vďaka svojej malej veľkosti dokážu voľne prechádzať cez prirodzené telové bariéry. NAb majú schopnosť rozpoznať jedinečné epitopy, napr. konkávne, vďaka čomu je možné ich využitie v terapiách, kde konvenčné liečivá a protilátky zlyhávajú (Roovers a kol., 2007). Rovnaký stupeň identity V_HH izolovaných zo zvierat ťavovitých je pozorovaný aj

v porovnaní s ľudským VH úsekom (Muyldermans, 2013; Kulkarni a kol., 2020). Ďalšou výhodou nAb je ich možný perorálny spôsob podania v porovnaní s konvenčnými protilátkami, ktoré sa aplikujú injekčnou formou (*i.v.*, *s.c.*) (Harmsen a kol., 2006).

V rámci výskumu boli nanoprotilátky použité napríklad pre vývoj terapie proti HIV-1 (Bobkov a kol., 2018), RSV (Wang a kol., 2015) a SARS-CoV-2 (Esparza, Martin a kol., 2020).

ZÁVER

Nadmerné užívanie antibiotík v medicíne a poľnohospodárstve viedlo k tomu, že mikroorganizmy odolné voči antibiotikám sú rozšírené v klinickom a environmentálnom prostredí. Bakteriálne patogény predstavujú hlavnú hrozbu pre verejné zdravie. AMP sú sľubnou alternatívou k tradičným antibiotikám. Najmä kombinácia AMP zabraňuje nárastu rezistencií. Protilátky sú významnou farmakologickou skupinou dôležitou pre klinickú prax a laboratórny výskum. Dôležitú úlohu pri výbere správnej terapeutickej látky zohráva aj náhoda, či daná látka bude terapeuticky vhodná pre pacienta. Výhody a limity mAb, ako aj pAb sme popísali v tomto článku. NAb a RPM vďaka svojej malej veľkosti, vysokej stabilite, zvýšenej hydrofilnosti a ľahkej priechodnosti tkanivami predstavujú terapeutiká novej generácie.

POĎAKOVANIE

Autori sú podporovaní grantami DSV-ITMS2014+ kód projektu NFP313010V455, APVV-18-0259, VEGA 1/0348/22.

ZOZNAM LITERATÚRY

Andabaka, T., J. W., Nickerson, M. X., Rojas-Reyes, J. D., Rueda, V., Bacic Vrca, V., Barsic, B.: Monoclonal antibody for reducing the risk of respiratory syncytial virus infection in children. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2013, 30 (4), Cd006602.

Ascoli, C. A., Aggeler, B.: Overlooked benefits of using DONEclonal antibodies. *Biotechniques*, 2018, 65 (3), 127 – 136.

Bakker, A. B. H, Marissen, W. E., Kramer, R. A., Rice, A. B., Weldon, W. C., Niezgoda, M., Hanlon, C. A., Thijsse, S., Backus, H. H., Kruif, J., Dietzschold, B., Rupprecht, C. E., Goudsmit, J.: Novel human monoclonal antibody combination effectively neutralizing natural rabies virus variants and individual *in vitro* escape mutants. *J. Virol.*, 2005, 79 (14), 9062 – 9068.

Banapour, B., Rosenthal, K., Rabin, L., Sharma, V., Young, L., Fernandez, J., Engleman, E., McGrath, M., Reyes, G., Lifson, J.: Characterization and epitope mapping of a human monoclonal antibody reactive with the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus. *J. Immunol.*, 2018,139, 4027 – 4033.

Bellamy, W., Takase, M., Wakabayashi, H., Kawase, K., Tomita, M.: Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *J. Appl. Bacteriol.*, 1992, 73 (6), 472 – 479.

Bennett, R. C., Oh, M. W., Kuo, S. H., Belo, Y., Maron, B., Malach, E., Lin, J., Hayouka, Z., Lau, G. W.: Random peptide mixtures as safe and effective antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* and MRSA in mouse models of bacteremia and pneumonia. *ACS Infectious Diseases*, 2021, 7 (3), 672 – 680.

Bergman, P., Johansson, L., Wan, H., Jones, A., Gallo, R. L., Gudmundsson, G. H., Hökfelt, T., Jonsson, A. B., Agerberth, B.: Induction of the antimicrobial peptide CRAMP in the blood-brain barrier and meninges after meningococcal infection. *Infect. Immun.*, 2006, 74 (12), 6982 – 6991.

Bobkov, V., Zarca, A. M., Van Hout, A., Arimont, M., Doijen, J., Bialkowska, M., Toffoli, E., Klarenbeek, A., van der Woning, B., van der Vliet, H. J., Van Loy, T., de Haard, H., Schols, D., Heukers, R., M. J. Smit, M. J.: Nanobody-Fc constructs targeting chemokine receptor CXCR4 potently inhibit signaling and CXCR4-mediated HIV-entry and induce antibody effector functions. *Biochem. Pharmacol.*, 2018, 158, 413 – 424.

Boyer, V., Broly, H., Souche, S., Madaule, P., Rossier, J., Zagury, D., Desgranges, C.: Characterization and large production of human monoclonal antibodies against the HIV-1 envelope. *Clin. Exp. Immunol.*, 1991, 83 (3), 452 – 459.

Branche, E., Simon, A. Y., Sheets, N., Kim, K., Barker, D., Nguyen, A. T., Sahota, H., Young, M. P., Salgado, R., Mamidi, A., Viramontes, K. M., Carnelley, T., Qiu, H., Elong Ngono, A., Regla-Nava, J. A., Susantono, M. X., Valls Cuevas, J. M., Kennedy, K., Kodihalli, S., Shresta, S.: Human polyclonal antibodies prevent zethal zika virus infection in mice. *Sci. Rep.*, 2019, 9, 9857.

Brand, G. D., Leite, J. R., de Sá Mandel, S. M., Mesquita, D. A., Silva, L. P., Prates, M. V., Barbosa, E. A., Vinecky, F., Martins, G. R., Galasso, J. H., Kuckelhaus, S. A., Sampaio, R. N., Furtado, J. R. Jr., Andrade, A. C., Bloch, C. Jr.: Novel dermaseptins from *Phyllomedusa hypochondrialis* (Amphibia). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006, 347 (3), 739 – 746.

Bregenholt, S., Haurum, J.: Pathogen-specific recombinant human polyclonal antibodies: Biodefence applications. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2004, 4, 387 – 396.

Brock, J.: Lactoferrin: a multifunctional immunoregulatory protein? *Immunol. Today*, 1995, 16 (9), 417 – 419.

Brüggemann, M., Caskey, H. M., Teale, C., Waldmann, H., Williams, G. T., Surani, M. A., Neuberger, M. S.: A repertoire of monoclonal antibodies with human heavy chains from transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86 (17), 6709 – 6713.

Brüggemann, M., Osborn, M. J., Ma, B., Hayre, J., Avis, S., Lundstrom, B., Buelow, R.: Human antibody production in transgenic animals. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, 2015, 63, 101 – 108.

Cantalamessa, F., de Caro, G., Epstein, A. N., Perfumi, M.: Effects of the tachykinins eledoisin and physalaemin on drinking behaviour in baby rats. In de Caro, G., Epstein, A. N., Massi, M. (Eds.) *The Physiology of Thirst and Sodium Appetite*. Boston, MA: Springer US, 1986, 37 – 42.

Caporale, G., Silva, A., Peixoto, Z.: Chapter Six – Preparation of fuorescent antibody conjugate in rabbits. In Rupprecht, C., Nagarajan, T. (Eds.). *Current Laboratory Techniques in Rabies Diagnosis, Research and Prevention, Volume 2.* Academic Press, 2015, 57 – 68.

Casciaro, B., Cappiello, F., Loffredo, M. R., Ghirga, F., Mangoni, M. L.: The potential of frog skin peptides for anti-infective therapies: the case of esculentin-1a(1-21)NH2. *Curr. Med. Chem.*, 2020, 27 (9), 1405 – 1419.

Castel, G., Chteoui, M., Heyd, B., Tordo, N.: Phage display of combinatorial peptide libraries: application to antiviral research. *Molecules*, 2011, 16 (5), 3499 – 3518.

Chao, T. Y., Zhang, S. F., Chen, L., Tsao, E., Rupprecht, C. E.: *In vivo* efficacy of SYN023, an anti-rabies monoclonal antibody cocktail, in post-exposure prophylaxis animal models. *Trop. Med. Infect. Dis.*, 2020, 5.

Co, M. S., Deschamps, M., Whitley, R. J., Queen, C.: Humanized antibodies for antiviral therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 2869 – 2873.

Cools, T. L., Struyfs, C., Cammue, B. P., Thevissen, K.: Antifungal plant defensins: increased insight in their mode of action as a basis for their use to combat fungal infections. *Future Microbiol.*, 2017, 12, 441 – 454.

De Genst, E., Silence, K., Decanniere, K., Conrath, K., Loris, R., Kinne, J., Muyldermans, S., Wyns, L.: Molecular basis for the preferential cleft recognition by dromedary heavy-chain antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, 103 (12), 4586 – 4591.

de Melo, G. D., Hellert, J., Gupta, R., Corti, D., Bourhy, H.: Monoclonal antibodies against rabies: current uses in prophylaxis and in therapy. *Curr. Opin. Virol.*, 2022, 53, 101 204.

de Moraes, J. Z., Hamaguchi, B., Braggion, C., Speciale, E., Cesar, F., Soares, G., Osaki, J., Aguiar, R., Pereira, T.: Alternative methods to animal use for monoclonal antibody generation and production.

Monoclonal antibodies, 2020.

Dixit, R., Herz, J., Dalton, R., Booy, R.: Benefits of using heterologous polyclonal antibodies and potential applications to new and undertreated infectious pathogens. *Vaccine*, 2016, 34 (9), 1152 – 1161.

Dixit, R., Khandaker, G., Ilgoutz, S., Rashid, H., Booy, R.: Emergence of oseltamivir resistance: control and management of influenza before, during and after the pandemic. *Infect. Disord. Drug Targets*, 2013, 13 (1), 34 – 45.

Dye, J. M., Herbert, A. S., Kuehne, A. I., Barth, J. F., Muhammad, M. A., Zak, S. E., Ortiz, R. A., Prugar, L. I., Pratt, W. R.: Postexposure antibody prophylaxis protects nonhuman primates from filovirus disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109, 5034 – 5039.

Egorov, T. A., Odintsova, T. I., Pukhalsky, V. A., Grishin, E. V.: Diversity of wheat anti-microbial peptides. *Peptides*, 2005, 26 (11), 2064 – 2073.

Elliott, W., Chan, J.: Ibalizumab-uiyk injection (Trogarzo). *Internal Medicine Alert*, 2018, 40.

Esparza, T. J., Martin, N. P., Anderson, G. P., Goldman, E. R., Brody, D. L.: High affinity nanobodies block SARS-CoV-2 spike receptor binding domain interaction with human angiotensin converting enzyme. *Sci. Rep.*, 2020, 10 (1), 22 370.

Falsey, A. R., Walsh, E. E.: Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, 13 (3), 371 – 384.

Fenton, C., Scott, L. J., Plosker, G. L.: Palivizumab: a review of its use as prophylaxis for serious respiratory syncytial virus infection. *Paediatr. Drugs*, 2004, 6 (3), 177 – 197.

Flachbartova, Z., Pulzova, L., Bencurova, E., Potocnakova, L., Comor, L., Bednarikova, Z., Bhide, M.: Inhibition of multidrug resistant *Listeria monocytogenes* by peptides isolated from combinatorial phage display libraries. *Microbiol. Res.*, 2016, 34 – 41, 188 – 189.

Forthal, D. N., Landucci, G., Gorny, M. K., Zolla-Pazner, S., Robinson, W. E. Jr.: Functional activities of 20 human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific human monoclonal antibodies. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1995, 11 (9), 1095 – 1099.

Ganz, T.: Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat. Rev. Immuno.l*, 2003, 3, 710 – 720.

Graham, B. S., Ambrosino, D. M.: History of passive antibody administration for prevention and treatment of infectious diseases. *Curr. Opin. HIV AIDS*, 2015, 10, 129 – 134.

Hamers-Casterman, C., Atarhouch, T., Muyldermans, S., Robinson, G., Hamers, C., Songa, E. B., Bendahman, N., Hamers, R.: Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*, 1993, 363 (6428), 446 – 448.

Hancock, R. E., Chapple, D. S.: Peptide antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43 (6), 1317 – 1323.

Hancock, R. E., Diamond, G.: The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends Microbiol.*, 2000, 8 (9), 402 – 410.

Harmsen, M. M., van Solt, C. B., van Zijderveld-van Bemmel, A. M., Niewold, T. A., van Zijderveld, F. G.: Selection and optimization of proteolytically stable llama single-domain antibody fragments for oral immunotherapy. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 72 (3), 544 – 551.

Helmerhorst, E. J., Van't Hof, W., Veerman, E. C., Simoons-Smit, I., Nieuw Amerongen, A. V.: Synthetic histatin analogues with broad-spectrum antimicrobial activity. *Biochem. J.*, 1997, 326 (Pt 1), 39 – 45.

Hooper, J. W., Brocato, R. L., Kwilas, S. A., Hammerbeck, C. D., Josleyn, M. D., Royals, M., Ballantyne, J., Wu, H., Jiao, J. A., Matsushita, H., Sullivan, E. J.: DNA vaccine-derived human IgG produced in transchromosomal bovines protect in lethal models of hantavirus pulmonary syndrome. *Sci. Transl. Med.*, 2014, 6 (264), 264ra162.

Hu, B., Guo, H., Zhou, P., Shi, Z. L.: Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2021, 19 (9), 141 – 154.

Huang, Y., Huang, J., Chen, Y.: Alpha-heli-

cal cationic antimicrobial peptides: relationships of structure and function. *Protein Cell*, 2010, 1, 143 – 152.

Ishida, I., Tomizuka, K., Yoshida, H., Tahara, T., Takahashi, N., Ohguma, A., Tanaka, S., Umehashi, M., Maeda, H., Nozaki, C., Halk, E., Lonberg, N.: Production of human monoclonal and polyclonal antibodies in TransChromo animals. *Cloning Stem Cells*, 2002, 4 (1), 91 – 102.

Jacobson, J. M., Thompson, M. A., Lalezari, J. P., Saag, M. S., Zingman, B. S., D'Ambrosio, P., Stambler, N., Rotshteyn, Y., Marozsan, A. J., Maddon, P. J., Morris, S. A., Olson, W. C.: Anti-HIV-1 activity of weekly or biweekly treatment with subcutaneous PRO 140, a CCR5 monoclonal antibody. *J. Infect. Dis.*, 2010 (10), 201, 1481 – 1487.

Jones, B. E., Brown-Augsburger, P. L., Corbett, K. S., Westendorf, K., Davies, J., Cujec, T. P., Wiethoff, C. M., Blackbourne, J. L., Heinz, B. A., Foster, D., Higgs, R. E., Balasubramaniam, D., Wang, L., Bidshahri, R., Kraft, L., Hwang, Y., Žentelis, S., Jepson, K. R., Goya, R., Smith, M. A., Collins, D. W., Hinshaw, S. J., Tycho, S. A., Pellacani, D., Xiang, P., Muthuraman, K., Sobhanifar, S., Piper, M. H., Triana, F. J., Hendle, J., Pustilnik, A., Adams, A. C., Berens, S. J., Baric, R. S., Martinez, D. R., Cross, R. W., Geisbert, T. W., Borisevich, V., Abiona, O., Belli, H. M., de Vries, M., Mohamed, A., Dittmann, M., Samanovic, M., Mulligan, M. J., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Johnson, N. V., Wrapp, D., McLellan, J. S., Barnhart, B. C., Graham, B. S., Mascola, J. R., Hansen, C. L., Falconer, E.: LY-CoV555, a rapidly isolated potent neutralizing antibody, provides protection in a non-human primate model of SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv.*, 2020.

Ju, B., Zhang, Q., Ge, J., Wang, R., Sun, J., Ge, X., Yu, J., Shan, S., Zhou, B., Song, S., Tang, X., Yu, J., Lan, J., Yuan, J., Wang, H., Zhao, J., Zhang, S., Wang, Y., Shi, X., Liu, L., Zhao, J., Wang, X., Zhang, Z., Zhang, L.: Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature*, 2020, 584 (7819), 115 – 119.

Kavanagh, K., Dowd, S.: Histatins: antimicrobial peptides with therapeutic potential. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2004, 56, 285 – 289.

Kellermann, S.-A., Green, L. L.: Antibody discovery: the use of transgenic mice to generate human monoclonal antibodies for therapeutics. *Current Opinion in Biotechnology,* 2002, 13 (6), 593 – 597.

Kulkarni, A., Mochnáčová, E., Majerova, P., Čurlík, J., Bhide, K., Mertinková, P., Bhide, M.: Single domain antibodies targeting receptor binding pockets of NadA restrain adhesion of *Neisseria meningitidis* to human brain microvascular endothelial cells. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2020, 7.

Ladram, A., Nicolas, P.: Antimicrobial peptides from frog skin: biodiversity and therapeutic promises. *FBL*, 2016, 21 (7), 1341 – 1371.

Lai, Y., Villaruz, A. E., Li, M., Cha, D. J., Sturdevant, D. E., Otto, M.: The human anionic antimicrobial peptide dermcidin induces proteolytic defence mechanisms in staphylococci. *Mol. Microbiol.*, 2007, 63 (2), 497 – 506.

Lang, J., Gravenstein, S., Briggs, D., Miller, B., Froeschle, J., Dukes, C., Le Mener, V., Lutsch, C.: Evaluation of the safety and immunogenicity of a new, heat-treated human rabies immune globulin using a sham, post-exposure prophylaxis of rabies. *Biologicals*, 1998, 26 (1), 7 – 15.

Lederman, M. M., Penn-Nicholson, A., Cho, M., Mosier, D.: Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. *Jama*, 2006, 296 (7), 815 – 826.

Lehrer, R. I.: Primate defensins. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, 2, 727 – 738.

Lonnerdal, B., Iyer, S.: Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu. Rev. Nutr.*, 1995, 15, 93 – 110.

Lorin, C., Saidi, H., Belaid, A., Zairi, A., Baleux, F., Hocini, H., Bélec, L., Hani, K., Tangy, F.: The antimicrobial peptide dermaseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity *in vitro*. *Virology*, 2005, 334 (2), 264 – 275.

Lu, R. M., Hwang, Y. C., Liu, I. J., Lee, C. C., Tsai, H. Z., Li, H. J., Wu, H. C.: Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J.*

Biomed. Sci., 2020, 27 (1), 1.

Malkoski, M., Dashper, S. G., O'Brien--Simpson, N. M., Talbo, G. H., Macris, M., Cross, K. J., Reynolds, E. C.: Kappacin, a novel antibacterial peptide from bovine milk. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, 45, 2309 – 2315.

Marasco, W. A., Sui, J.: The growth and potential of human antiviral monoclonal antibody therapeutics. *Nat. Biotechnol.*, 2007, 25 (12), 1421 – 1434.

Marissen, W. E., Kramer, R. A., Rice, A., Weldon, W. C., Niezgoda, M., Faber, M., Slootstra, J. W., Meloen, R. H., Clijsters-van der Horst, M., Visser, T. J., Jongeneelen, M., Thijsse, S., Throsby, M., de Kruif, J., Rupprecht, C. E., Dietzschold, B., Goudsmit, J., Bakker, A. B.: Novel rabies virus-neutralizing epitope recognized by human monoclonal antibody: fine mapping and escape mutant analysis. *J. Virol.*, 2005, 79, 4672 – 4678.

Maron, B., Friedman, J., Hayouka, Z.: Combination treatment can hinder the evolution of resistance to antimicrobial peptides. *bioRxiv.*, 2022. DOI: 10.1101/2022.03.13.484126.

Marovich, M., Mascola, J. R., Cohen, M. S.: Monoclonal antibodies for prevention and treatment of COVID-19. *JAMA*, 2020, 324 (2), 131 – 132.

McClain, J. B., Chuang, A., Moore, S. M., Tsao, E.: Safety, pharmacokinetics, and neutralizing activity of SYN023, a mixture of two novel antirabies monoclonal antibodies intended for use in postrabies exposure prophylaxis. *Clin. Pharmacol. Drug. Dev.*, 2021, 10, 807 – 817.

Medina, E., Pieper, D. H.: Tackling threats and future problems of multidrug-resistant bacteria. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2016, 398, 3 – 33.

Mertinkova, P., Mochnacova, E., Bhide, K., Kulkarni, A.,Tkacova, Z., Hruskovicova, J., Bhide, M.: Development of peptides targeting receptor binding site of the envelope glycoprotein to contain the West Nile virus infection. *Scientific Reports*, 2021, 11 (1).

Mitov, I. G., Terziiski, D. G.: Immunoprophylaxis and immunotherapy of gram-negative sepsis and shock with antibodies to core glycolipids and lipid A of bacterial lipopolysaccharides. *Infection*, 1991, 19, 383 – 390.

Morimoto, K., Schnell, M. J., Pulmanausahakul, R., McGettigan, J. P., Foley, H. D., Faber, M., Hooper, D. C., Dietzschold, B.: High level expression of a human rabies virus-neutralizing monoclonal antibody by a rhabdovirus-based vector. *Journal of immunological methods*, 2001, 252, 199 – 206.

Morrow, T.: Multidrug resistant HIV drug lauded, but clinical foundation not very deep. *Managed care (Langhorne, Pa.)*, 2018, 27 (6), 31 – 33.

Murga, J. D., Franti, M., Pevear, D. C., Maddon, P. J., Olson, W. C.: Potent antiviral synergy between monoclonal antibody and small-molecule CCR5 inhibitors of human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, 50, 3289 – 3296.

Muyldermans, S.: Nanobodies: natural single-domain antibodies. *Annu. Rev. Biochem.*, 2013, 82, 775 – 797.

Nassif, X., Bourdoulous, S., Eugène, E., Couraud, P. O.: How do extracellular pathogens cross the blood-brain barrier? *Trends Microbiol.*, 2002, 10, 227 – 232.

NEB. https://www.ulab360.com/files/prod/manuals/201301/07/427552001.pdf. Accessed January 15, 2023.

Newcombe, C., Newcombe, A. R.: Antibody production: polyclonal-derived biotherapeutics. *Journal of Chromatography B*, 2007, 848, 2 – 7.

Oliveira, J. T. A., Souza, P. F. N., Vasconcelos, I. M., Dias, L. P., Martins, T. F., Van Tilburg, M. F., Guedes, M. I. F., Sousa, D. O. B.: Mo-CBP(3)--PepI, Mo-CBP(3)-PepII, and Mo-CBP(3)-PepIII are synthetic antimicrobial peptides active against human pathogens by stimulating ROS generation and increasing plasma membrane permeability. *Biochimie*, 2019, 157, 10 – 21.

Parren, P. W., Geisbert, T. W., Maruyama, T., Jahrling, P. B., Burton, D. R.: Pre- and postexposure prophylaxis of Ebola virus infection in an animal model by passive transfer of a neutralizing human antibody. *J. Virol.*, 2002, 76 (12), 6408 – 6412.

Passariello, M., Gentile, C., Ferrucci, V., Sasso, E., Vetrei, C., Fusco, G., Viscardi, M., Brandi, S., Cerino, P., Zambrano, N., Zollo, M., De Lorenzo, C.: Novel human neutralizing mAbs specific for Spike-RBD of SARS-CoV-2. *Sci. Rep.*, 2021, 11, 11 046.

Patocka, J., Nepovimova, E., Klimova, B., Wu, Q., Kuca, K.: Antimicrobial peptides: amphibian host defense peptides. *Curr. Med. Chem.*, 2019, 26, 5924 – 5946.

Patridge, E., Gareiss, P., Kinch, M. S., Hoyer, D.: An analysis of FDA-approved drugs: natural products and their derivatives. *Drug Discov. Today*, 2016, 21, 204 – 207.

Patterson, J. L., Fernandez-Larsson, R.: Molecular mechanisms of action of ribavirin. *Reviews of Infectious Diseases*, 1990, 12, 1139 – 1146.

Patterson-Delafield, J., Szklarek, D., Martinez, R. J., Lehrer, R. I.: Microbicidal cationic proteins of rabbit alveolar macrophages: amino acid composition and functional attributes. *Infect. Immun.*, 1981, 31, 723 – 731.

Roovers, R. C., Laeremans, T., Huang, L., De Taeye, S., Verkleij, A. J., Revets, H., de Haard, H. J., van Bergen en Henegouwen, P. M.: Efficient inhibition of EGFR signaling and of tumour growth by antagonistic anti-EFGR Nanobodies. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2007, 56, 303 – 317.

Rossiter, S. E., Fletcher, M. H., Wuest, W. M.: Natural products as platforms to overcome antibiotic resistance. *Chem. Rev.*, 2017, 117, 12 415 – 12 474.

Ruiz-López, E., Schuhmacher, A. J.: Transportation of single-domain antibodies through the blood-brain barrier. *Biomolecules*, 2021, 11 (8), 1131.

Rupprecht, C. E., Gibbons, R. V.: Clinical practice. Prophylaxis against rabies. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 351 (25), 2626 – 2635.

Rupprecht, C. E., Hanlon, C. A., Hemachudha, T.: Rabies re-examined. *Lancet Infect. Dis.*, 2002, 2 (6), 327 – 343.

Sahl, H. G., Pag, U., Bonness, S., Wagner, S., Antcheva, N., Tossi, A.: Mammalian defensins: structures and mechanism of antibiotic activity. *J. Leukoc. Biol.*, 2005, 77 (4), 466 – 475.

Sano, A., Matsushita,H., Wu, H., Jiao, J. A., Kasinathan, P., Sullivan, E. J., Wang, Z., Kuroiwa, Y.: Physiological level production of antigen-specific human immunoglobulin in cloned transchromosomic cattle. *PLoS One*, 2013, 8 (10), e78119.

Saylor, C., Dadachova, E., Casadevall, A.: Monoclonal antibody-based therapies for microbial diseases. *Vaccine*, 2009, 27 (Suppl 6), G38 – G46.

Schittek, B., Hipfel, R., Sauer, B., Bauer, J., Kalbacher, H., Stevanovic, S., Schirle, M., Schroeder, K., Blin, N., Meier, F., Rassner, G., Garbe, C.: Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands. *Nat. Immunol.*, 2001, 2, 1133 – 1137.

Schneider, J. J., Unholzer, A., Schaller, M., Schäfer-Korting, M., Korting, H. C.: Human defensins. *J. Mol. Med. (Berl.)*, 2005, 83 (8), 587 – 595.

Scott, L. J., Lamb, H. M.: Palivizumab. *Drugs*, 1999, 58 (2), 305 – 311.

Silverstein, K. A., Moskal, W. A. Jr., Wu, H. C., Underwood, B. A., Graham, M. A., Town, C. D., VandenBosch, K. A.: Small cysteine-rich peptides resembling antimicrobial peptides have been under--predicted in plants. *Plant J.*, 2007, 51 (2), 262 – 280.

Smith, G. P.: Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science,* 1985, 228 (4705), 1315 – 1317.

Stevens, N. E., Hatjopolous, A., Fraser, C. K., Alsharifi, M., Diener, K. R., Hayball, J. D.: Preserved antiviral adaptive immunity following polyclonal antibody immunotherapy for severe murine influenza infection. *Scientific Reports*, 2016, 6, 29 154.

Stills, H. F.: Chapter 11 – Polyclonal Antibody Production. In Suckow, M. A., Stevens, K. A., Wilson, R. P. (Eds.). *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents.* Boston: Academic Press, 2012, 259 – 274.

Strzepa, A., F. M. Lobo, F. M., Majewska--Szczepanik, M., Szczepanik, M.: Antibiotics and autoimmune and allergy diseases: causative factor or treatment? *Int. Immunopharmacol.*, 2018, 65, 328 –

341.

Tam, J. P., Wang, S., Wong, K. H., Tan, W. L.: Antimicrobial peptides from plants. *Pharmaceuticals*, 2015, 8 (4), 711 – 757.

Tennessen, J. A., Woodhams, D. C., Chaurand, P., Reinert, L. K., Billheimer, D., Shyr, Y., Caprioli, R. M., Blouin, M. S., Rollins-Smith, L. A.: Variations in the expressed antimicrobial peptide repertoire of northern leopard frog (*Rana pipiens*) populations suggest intraspecies differences in resistance to pathogens. *Dev. Comp. Immunol.*, 2009, 33 (12), 1247 – 1257.

Thammasirirak, S., Pukcothanung, Y., Preecharram, S., Daduang, S., Patramanon, R., Fukamizo, T., Araki, T.: Antimicrobial peptides derived from goose egg white lysozyme. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2010, 151 (1), 84 – 91.

Topman, S., Tamir-Ariel, D., Bochnic--Tamir, H., Stern Bauer, T., Shafir, S., Burdman, S., Hayouka, Z.: Random peptide mixtures as new crop protection agents. *Microb. Biotechnol.*, 2018, 11 (6), 1027 – 1036.

Topman-Rakover, S., Malach, E., Burdman, S., Hayouka, Z.: Antibacterial lipo-random peptide mixtures exhibit high selectivity and synergistic interactions. *Chem. Commun. (Camb.)*, 2020, 56, 12053 – 12056.

van Harten, R. M., van Woudenbergh, E., van Dijk, A., Haagsman, H. P.: Cathelicidins: immunomodulatory antimicrobials. *Vaccines (Basel)*, 2018, 6 (3).

Ventre, K., Randolph, A.: Ribavirin for respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract in infants and young children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2007.

Vizioli, J., Salzet, M.: Antimicrobial peptides versus parasitic infections? *Trends Parasitol.*, 2002, 18, 475 – 476.

Wakabayashi, H., Takase, M., Tomita, M.: Lactoferricin derived from milk protein lactoferrin. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, 9, 1277 – 1287.

Wang, G.: Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. *Methods Mol. Biol.*, 2015, 1268, 43 – 66.

Wang, G., Li, X., Wang, Z.: APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Res.*, 2009, 37, D933 – D937.

Wang, S. M., He, X., Li, N., Yu, F., Hu, Y., Wang, L. S., Zhang, P., Du, Y. K., Du, S. S., Yin, Z. F., Wei, Y. R., Mulet, X., Coia, G., Weng, D., He, J. H., Wu, M., Li, H. P.: A novel nanobody specific for respiratory surfactant protein A has potential for lung targeting. *Int. J. Nanomedicine*, 2015, 10, 2857 – 2869.

Wilde, H.: Failures of post-exposure rabies prophylaxis. *Vaccine*, 2007, 25 (44), 7605 – 7609.

Wilson, S. S., Wiens, M. E., Smith, J. G.: Antiviral mechanisms of human defensins. *J. Mol. Biol.*, 2013, 425, 4965 – 4980.

Winau, F., Winau, R.: Emil von Behring and serum therapy. *Microbes Infect.*, 2002, 4 (2), 185 – 188.

Wu, J. T., Lee, C. K., Cowling, B. J., Yuen, K. Y.: Logistical feasibility and potential benefits of a population-wide passive-immunotherapy program during an influenza pandemic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107 (7), 3269 – 3274.

Zagury, D., Gallo, R. C.: Anti-cytokine Ab immune therapy: present status and perspectives. *Drug Discovery Today*, 2004, 9 (2), 72 – 81.

Zieleniewski, F., Woolfson, D. N., Clayden, J.: Automated solid-phase concatenation of Aib residues to form long, water-soluble, helical peptides. *Chemical Communications*, 2020, 56, 12 049 – 12 052.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 52 – 61, 2023

STANOVENIE ANTIOXIDAČNEJ AKTIVITY STRIEBORNÝCH NANOČASTÍC PRIPRAVENÝCH ZELENOU SYNTÉZOU

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES PREPARED BY GREEN SYNTHESIS

Pristášová, Veronika; Bedlovičová, Zdenka

Katedra chémie, biochémie a biofyziky
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

zdenka.bedlovicova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Zelená syntéza je ekologická metóda prípravy nanočastíc, pri ktorej sa nanočastice získavajú zmiešaním kovových solí s prírodnými činidlami. V tejto štúdii sme na syntézu strieborných nanočastíc využili ako prekurzor dusičnan strieborný a ako redukčné/stabilizačné činidlo bol použitý rastlinný extrakt alchemilky obyčajnej (*Alchemilla vulgaris*). Syntéza nanočastíc bola realizovaná pri teplotách 60 – 80 °C s koncentráciou $AgNO_3$ 2,2 mM a 5,5 mM. Nami vybraná rastlina sa javí ako vhodná voľba pre zelenú syntézu AgNPs, pretože časová náročnosť syntézy nanočastíc je nízka – od 1 do 7 minút. S rastúcou teplotou a koncentráciou reakcia prebehla rýchlejšie.

Na stanovenie antioxidačnej aktivity získaných strieborných nanočastíc sme využili viaceré metódy (DPPH, metódu na stanovenie obsahu celkových fenolických látok a PRAC). Z našich meraní vyplýva, že ani jedna vzorka AgNPs nevykázala antioxidačnú schopnosť porovnateľnú s troloxom (koncentrácia troloxu bola v rozmedzí 0,005 – 0,25 mg.ml^{-1}). Antioxidačná aktivita strieborných nanočastíc je v porovnaní s antioxidačnou schopnosťou čistého extraktu alchemilky nižšia. Najvyššiu schopnosť vychytávania radikálu DPPH preukázali nanočastice striebra pripravené pri teplote 70 °C s koncentráciou prekurzora 2,2 mM. AgNPs pripravené z menej koncentrovaného roztoku dusičnanu strieborného (2,2 mM) vykazovali vyššiu antioxidačnú schopnosť v porovnaní s nanočasticami pripravenými za použitia $AgNO_3$ s koncentráciou 5,5 mM. Pri stanovení obsahu celkových fenolických látok sme zistili, že strieborné nanočastice vykazujú väčšie množstvo fenolických látok v porovnaní so samotným extraktom. Najvyššiu redukčnú schopnosť vykazovali nanočasti-

ce striebra s koncentráciou prekurzora 2,2 mM, avšak z výsledkov vyplýva, že celková redukčná schopnosť AgNPs je porovnateľná s extraktom alchemilky obyčajnej.

Kľúčové slová: antioxidačná aktivita; rastlinné extrakty; zelená syntéza

ABSTRACT

Green synthesis is an ecological method of nanoparticles formation by which are nanoparticles obtained by mixing metal salts with natural agents. In this study, silver nitrate was used as a precursor for the silver nanoparticles synthesis, and a plant extract of alchemilla vulgaris (*Alchemilla vulgaris*) was used as a reducing/stabilizing agent. Synthesis of nanoparticles was carried out at the temperatures between 60 – 80 °C with $AgNO_3$ concentrations of 2,2 mM and 5,5 mM. The selected plant appeared to be a suitable choice for the green synthesis of AgNPs, since the required time for the synthesis of nanoparticles had been low – from 1 to 7 minutes. With increasing temperature and concentration, the reaction was faster.

To determine the antioxidant activity of the obtained silver nanoparticles, we used several methods (DPPH, method for determining the content of total phenolic substances, and PRAC). The results of measurements showed that no sample of AgNPs had an antioxidant capacity comparable to trolox (with concentrations between 0,005 – 0,25 $mg.ml^{-1}$). The DPPH scavenging activity of silver nanoparticles is in general lower than the antioxidant capacity of the pure alchemilla vulgaris extract. The highest antioxidant capacity was observed by silver nanoparticles prepared at the temperature of 70 °C with a precursor concentration of 2,2 mM. AgNPs prepared from the less concentrated solution of silver nitrate (2,2 mM) showed a higher antioxidant capacity compared to nanoparticles prepared from $AgNO_3$ with the concentration of 5,5 mM. When determining the content of total phenolic substances, we found that silver nanoparticles showed greater amount than the extract itself. The highest reducing ability was shown by silver nanoparticles with a precursor concentration of 2,2 mM, however, the results show that the overall reducing ability of AgNPs is comparable to the extract of alchemilla vulgaris.

Key words: antioxidant activity; green synthesis; plant extracts

ÚVOD

Nanotechnológia zaznamenala v posledných desaťročiach rýchly vzostup, pretože umožňuje zmenšenie veľkosti akéhokoľvek materiálu na nanorozmery, čo môže v pozitívnom zmysle zmeniť jeho vlastnosti. Na syntézu nanočastíc sa využíva veľké množstvo metód, či už chemických alebo fyzikálnych, ktoré však predstavujú riziko pre životné prostredie z dôvodu využívania toxických chemikálií alebo vyžadujú vysokú spotrebu energie, či dlhý čas na dosiahnutie tepelnej stability. Nevýhodou môžu byť aj problémy so stabilizáciou získaných produktov.

Tieto problémy rieši ekologická metóda syntézy nanočastíc, označovaná ako „zelená syntéza“. Zelenou syntézou tvorené nanočastice sa získavajú zmiešaním kovových solí s prírodnými činidlami, ako sú napríklad rastlinné extrakty, mikroorganizmy alebo huby.

Rastlinné extrakty môžu pôsobiť v zelenej syntéze ako redukčné činidlo a tiež majú stabilizačnú funkciu, čím odpadá potreba pridávania stabilizačného činidla.

Mnoho vedcov po celom svete sa snaží aplikovať túto biosyntézu nanočastíc vo svojom výskume, využívajúc pri tom rôzne rastlinné extrakty, či iné prírodné činidlá. Aj z tohto dôvodu je táto zelená syntéza hlavným predmetom tejto štúdie, ktorej cieľom je stanoviť antioxidačnú aktivitu strieborných nanočastíc, ktoré sú pripravené touto ekologickou syntézou.

MATERIÁL A METÓDY

Extrakty boli pripravené použitím komerčne dostupnej sušiny vňate alchemilky obyčajnej (*Alchemilla vulgaris*) (Fyto Pharma, Slovensko) a destilovanej vody. Extrakcie prebiehali pri laboratórnej teplote. Ku 100 mg rozomletej sušiny sa pridali 2 ml destilovanej vody a suspenzia sa miešala pri laboratórnej teplote počas 2 hodín. Prekurzorom pre syntézu strieborných nanočastíc boli vodné roztoky dusičnanu strieborného s koncentráciou 2,2 a 5,5 mmol.dm^{-3} ($AgNO_3$, Mikrochem, Slovensko), ktorý bol pripravovaný vždy čerstvý a uchovávaný v tme pri laboratórnej teplote.

Pri syntéze strieborných nanočastíc bol roztok dusičnanu strieborného temperovaný v kremennej kyvete za použitia Peltierovho bloku. Po vytemperovaní na požadovanú teplotu sme k roztoku $AgNO_3$ pridali extrakt alchemilky obyčajnej v pomere 9 : 1. Priebeh syntézy sme monitorovali *in situ* v kyvete v rozsahu vlnových dĺžok 350 – 750 nm. Priebeh chemickej reakcie bol monitorovaný pomocou UV/Vis spektrofotometra Cary 60 (Agilent Technologies, USA) s Peltierovým blokom priamo v kremennej kyvete s optickou dráhou lúča 1 cm.

Antioxidačné charakteristiky extraktu aj pripravených AgNPs sme stanovili využitím metódy DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, Sigma Aldrich, Nemecko) (Brand-Williams, Cuvelier, Berset, 1995). K 250 µl vzorky sme pridali 2 ml čerstvo pripraveného roztoku DPPH s koncentráciou 0,2 mmol.dm^{-3}. Vzorky sme premiešali a inkubovali v tme pri laboratórnej teplote v priebehu tridsiatich minút. Po inkubácii sme stanovili hodnoty absorbancie pri vlnovej dĺžke 517 nm oproti kontrolnej vzorke, ktorá pozostávala z 2 ml roztoku DPPH s prídavkom 250 µl metanolu. Všetky stanovenia sme opakovali trikrát. Antioxidačnú schopnosť sme vyjadrili ako percento inhibície voľného radikálu podľa vzťahu č. 1:

$$AA = \frac{A_0 - A}{A_0} * 100 \qquad [\%], \qquad (1)$$

kde hodnota A_0 udáva absorbanciu kontrolnej vzorky a A absorbanciu extraktu, resp. príslušnej nanosuspenzie. Schopnosť Ag nanočastíc vychytať voľné radikály sme porovnali s troloxom (kyselina 6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchróman-2-karboxylová, Sigma Aldrich, Nemecko) ako štandardom a kvantitatívne sme ju vyjadrili ako ekvivalenty troloxu (TE.ml^{-1}), ktoré sme vypočítali podľa vzťahu č. 2.

$$TEAC\ (x) = \frac{y-b}{a}, \qquad (2)$$

kde a, b sú hodnoty získané z rovnice lineárnej závislosti y = ax + b; y je nameraná absorbancia vzorky.

Celkové fenolické látky (TPC) sme stanovili spektrofotometricky ako ekvivalenty kyseliny galovej využitím Folin-Ciocalteauovho reagenčného činidla (Singleton, Orthofer, Lamuela-Raventós, 1999). Na kvantitatívne vyhodnotenie množstva fenolických látok v extrakte aj v nanosuspenziách sme použili rovnicu kalibračnej priamky získanej použitím štandardných roztokov kyseliny galovej (Sigma Aldrich, Nemecko) s koncentráciou v rozmedzí 0,05 – 1,25 mg.ml^{-1}. Do skúmaviek sme pipetovali po 20 µl extraktu a strieborných nanočastíc a po 20 µl z jednotlivých pracovných roztokov kyseliny galovej a 20 µl destilovanej vody pre prípravu slepej vzorky. Následne sme do každej skúmavky pridali po 1,6 ml destilovanej vody, 100 µl Folin-Ciocalteauovho činidla (Sigma Aldrich, Nemecko) a skúmavky sme premiešali. Po 5 minútach sme pridali 300 µl uhličitanu sodného (Mikrochem, Slovensko) s koncentráciou 10 %. Roztoky sme premiešali a inkubovali v tme pri laboratórnej teplote 2 hodiny. Po inkubácii sme stanovili absorbanciu roztokov pri vlnovej dĺžke 765 nm. Všetky stanovenia boli opakované trikrát. Zo získaných hodnôt absorbancie jednotlivých pracovných roztokov kyseliny galovej sme zostrojili kalibračnú priamku a z rovnice lineárnej závislosti sme vyrátali celkový obsah fenolických látok v extrakte, resp. v nanosuspenziách ako ekvivalenty kyseliny galovej.

Metóda PRAC je založená na schopnosti látky redukovať manganistanové (Mn^{7+}) katióny na manganaté (Mn^{2+}) v kyslom prostredí (Popović a kol., 2012). K

roztoku 1,28 ml manganistanu draselného ($KMnO_4$, Mikrochem, Slovensko) s koncentráciou 0,006 mol. dm^{-3} sme pipetovali 0,6 ml 1,2 M kyseliny sírovej a 0,1 ml vzorky a inkubovali v tme pri laboratórnej teplote počas 5 minút. Absorbanciu sme stanovili pri vlnovej dĺžke 535 nm oproti slepej vzorke obsahujúcej $KMnO_4$ a kyselinu sírovú a namiesto vzorky bola použitá destilovaná voda. Všetky merania boli opakované trikrát. Celkovú redukčnú schopnosť sme následne vypočítali podľa vzťahu č. 3.

$$A(\%) = 100 - \frac{A_{vzorky}}{A_{KMnO_4}} * 100 \,, \qquad (3)$$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

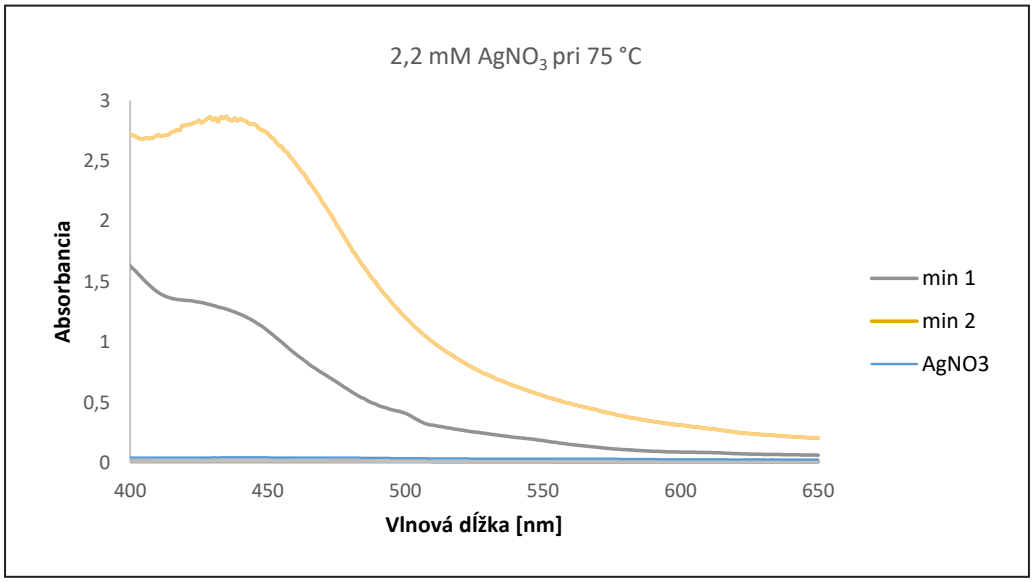
Zelená syntéza strieborných nanočastíc

Strieborné nanočastice (AgNPs) sme získali využitím vodného roztoku dusičnanu strieborného s dvomi rôznymi koncentráciami (2,2 mM a 5,5 mM) a vodného extraktu alchemilky obyčajnej, ktorý je zodpovedný za bioredukciu strieborných katiónov (Ag^+). Priebeh syntézy AgNPs sme sledovali pomocou UV/Vis spektrofotometrie *in situ* priamo v kyvete v oblasti vlnových dĺžok 350 – 750 nm. Priebeh reakcie bolo možné pozorovať aj vizuálnou zmenou farby roztoku, resp. nanosuspenzie zo žltkastej na tmavohnedú. V UV/Vis absorpčných spektrách sme pozorovali nárast absorbancie v oblasti okolo 450 nm, čo zodpovedá prítomnosti povrchovej plazmónovej rezonancie (SPR), ktorá vzniká v dôsledku oscilácie elektrónov prítomných v nanočasticiach so svetelným lúčom. Poloha SPR v absorpčnom spektre závisí na jednej strane od veľkosti prítomných nanočastíc, a na druhej strane od chemického prostredia, v ktorom sa pripravené nanočastice nachádzajú (Noginov a kol., 2007).

Spektrálna analýza v ultrafialovej a viditeľnej oblasti je teda z hľadiska monitoringu priebehu syntézy strieborných nanočastíc mimoriadne cenená. Na základe modrého, resp. červeného posunu absorpčného maxima pásu SPR vieme taktiež predpokladať, či veľkosť častíc narastá (červený posun k vyšším hodnotám vlnovej dĺžky), alebo klesá (modrý posun k nižším hodnotám vlnovej dĺžky) (Srikar a kol., 2016).

Ako príklad monitorovania priebehu biosyntézy strieborných nanočastíc uvádzame reakciu prebiehajúcu pri 75 °C s koncentráciou dusičnanu strieborného 2,2 mM (viď. obr. 1). Analogicky sme postupovali pri všetkých nanočasticiach.

Obr. 1: Grafické zobrazenie priebehu biosyntézy strieborných nanočastíc pri teplote 75 °C a s koncentráciou $AgNO_3$ 2,2 mM



Tab. 1: Antioxidačné vlastnosti AgNPs pripravených zelenou syntézou

c_{AgNO3} [mM]	t [°C]	% AA ± SD	TEAC[a] ± SD [mg TE.ml^{-1}]	TPC[b] ± SD [mg GAE.ml^{-1}]	PRAC ± SD [%]
2,2	60	71,56 ± 0,4511	0,1849 ± 0,00111	0,1781 ± 0,001893	97,94 ± 1,193874
	65	65,65 ± 0,5416	0,1703 ± 0,001333	0,1757 ± 0,019942	96,04 ± 4,11622
	70	74,70 ± 0,3903	0,1926 ± 0,000784	0,1782 ± 0,009841	98,46 ± 0,082606
	75	68,07 ± 1,0406	0,1763 ± 0,002561	0,1766 ± 0,003739	96,85 ± 0,484592
	80	67,93 ± 2,4809	0,1759 ± 0,006106	0,1981 ± 0,017772	91,83 ± 11,93859
5,5	60	63,39 ± 0,3395	0,1648 ± 0,000836	0,1837 ± 0,013023	96,86 ± 1,857455
	65	74,56 ± 0,5549	0,1922 ± 0,001366	0,1565 ± 0,012136	95,95 ± 1,123249
	70	46,56 ± 1,0426	0,1233 ± 0,002566	0,1768 ± 0,012136	92,35 ± 2,205192
	75	72,43 ± 1,0164	0,1870 ± 0,002502	0,1737 ± 0,004671	85,49 ± 13,89307
	80	49,41 ± 0,3213	0,1303 ± 0,000791	0,1973 ± 0,016380	89,59 ± 5,304935
Extrakt		92,59 ± 0,7476	0,2366 ± 0,00184	0,1691 ± 0,010419	97,76 ± 0,896637

[a] rovnica kalibračnej priamky: $y = -6,647x + 1,694$; $R^2 = 0,937$
[b] rovnica kalibračnej priamky: $y = 1,1966x + 0,0093$; $R^2 = 0,999$

Zelená syntéza Ag nanočastíc bola uskutočnená v teplotnom rozmedzí 60 – 80 °C pre obe koncentrácie dusičnanu strieborného. S rastúcou teplotou a koncentráciou reakcia prebehla rýchlejšie. Všeobecne možno teda konštatovať, že extrakty pripravené maceráciou do destilovanej vody pri laboratórnej teplote boli schopné redukcie strieborných iónov s koncentráciou 2,2 aj 5,5 mM; pričom so vzrastajúcou teplotou reakcia prebehla značne rýchlejšie.

Štúdie preukazujú, že intenzita absorbancie narastá s koncentráciou $AgNO_3$, čo reflektuje vznik väčšieho množstva AgNPs. Pri nižších koncentráciách dusičnanu strieborného dochádza k modrému posunu absorpčného maxima a zmenšeniu veľkosti nanočastíc. Na druhej strane, zvýšenie koncentrácie $AgNO_3$ vedie k červenému posunu absorpčného maxima a nárastu veľkosti syntetizovaných nanočastíc (Sobczak-Kupiec a kol., 2011).

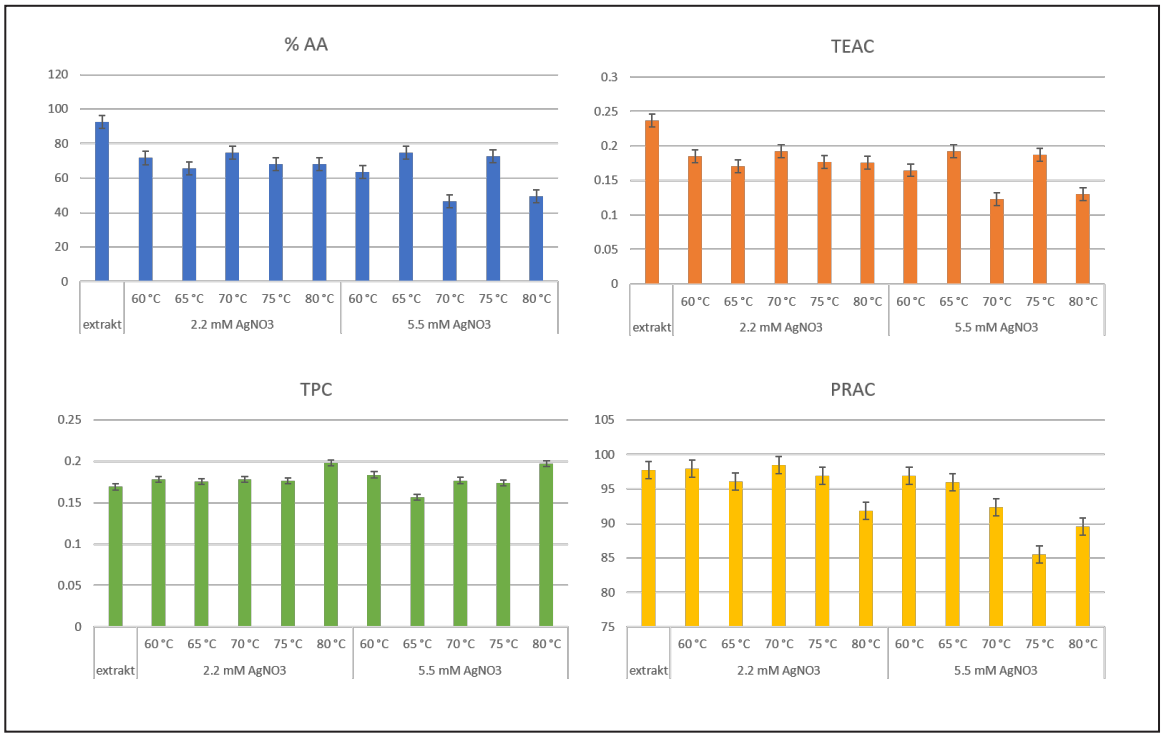
V literatúre bol taktiež pozorovaný vplyv teploty na polohu absorpčného maxima, pričom bolo zistené, že s rastúcou teplotou dochádza k modrému posunu absorpčného maxima (Fayaz a kol., 2009). V našom prípade sme pozorovali obdobné výsledky.

Stanovenie antioxidačnej aktivity

Antioxidačnú aktivitu extraktu alchemilky obyčajnej a strieborných nanočastíc pripravených použitím tohto extraktu sme stanovili využitím vyššie uvedených metodík.

V tabuľke 1 uvádzame výsledky antioxidačnej akti-

Obr. 2: Grafické porovnanie antioxidačných vlastností pripravených strieborných nanočastíc v porovnaní s extraktom



vity všetkých stanovení, pričom hodnoty sú uvedené ako aritmetický priemer troch nezávislých meraní ± smerodajná odchýlka. Pre lepšiu prehľadnosť uvádzame v obrázku 2 grafické zobrazenie hodnôt uvedených v tabuľke 1.

Z výsledkov hodnôt antioxidačnej aktivity ako schopnosti vychytať radikál DPPH, ktoré boli prepočítané na ekvivalenty troloxu (TE) vyplýva, že ani jedna vzorka strieborných nanočastíc nevykázala antioxidačnú schopnosť porovnateľnú s troloxom, ako to uvádzajú niektorí autori (Mittal, Kaler, Banerjee, 2012).

Z hodnôt antioxidačnej aktivity AgNPs možno vidieť, že najvyššiu antioxidačnú aktivitu majú nanočastice pripravené pri teplote 70 °C s koncentráciou prekurzora (dusičnanu strieborného) 2,2 mM – 74,70 %. Z hľadiska pozorovaných výsledkov z pohľadu koncentrácie $AgNO_3$, vyššiu antioxidačnú schopnosť preukázali AgNPs pripravené z menej koncentrovaného roztoku $AgNO_3$.

V porovnaní s extraktom (92,59 %) bola antioxidačná aktivita strieborných nanočastíc nižšia. Rastliny obsahujú sekundárne metabolity, ktoré sú zodpovedné za schopnosť vychytávať voľné radikály. Je známe, že na biosyntézu AgNPs, ktorá je založená na bioredukcii strieborného katiónu, sa využívajú práve tieto sekundárne metabolity (Khalil, Ismail, El-Magdoub, 2010).

Množstvo vedeckých štúdií sa zaoberá antioxidačnou aktivitou strieborných nanočastíc, pričom výsledky sa rôznia. Autori zvyčajne porovnávajú antioxidačnú kapacitu extraktu s pripravenými nanočasticami. Napríklad Ahn so svojím kolektívom (2019) stanovoval antioxidačnú kapacitu tridsiatich rastlinných extraktov a AgNPs pripravených pomocou týchto extraktov so záverom, že vychytávacia schopnosť radikálu DPPH sa zvyšovala buď s vyšším množstvom extraktu alebo AgNPs. Vo všeobecnosti extrakty vykazovali lepšiu antioxidačnú aktivitu ako AgNPs.

V zhode s našimi výsledkami, zníženú antioxidačnú kapacitu AgNPs v porovnaní s extraktom pozoroval aj Demirbas s kolektívom (2016). Nanočastice striebra pripravili biologickou metódou s použitím extraktu z červenej kapusty (*Brassica oleracea* var. *capitate f. rubra*). Autori predpokladajú, že AgNPs boli syntetizované využitím "antioxidačnej sily" extraktu z červenej kapusty na redukciu Ag^+ iónov, pričom AgNPs môžu podporovať vznik superoxidových radikálov, ktoré by spotrebovali antioxidačnú kapacitu červenej kapusty (Demirbas a kol., 2016). Nižšie hodnoty antioxidačnej aktivity nanočastíc striebra (pripravené pomocou extraktu *Aesculus hippocastanum*) získal aj Ozturk s kolektívom (2020), ktorý použil tri rôzne metódy stanovenia – DPPH, celkovú redukčnú schopnosť a metódu zachytávania radikálov superoxidových aniónov. Výsledky stanovení DPPH a superoxidových aniónových radikálov viedli k zníženej antioxidačnej kapacite pripravených nanočastíc v porovnaní s rastlinným extraktom, ale celková redukčná sila AgNPs indikovala väčšiu redukčnú aktivitu ako rastlinný extrakt. Chýba relevantné vysvetlenie, ale autori sa spoliehajú na skutočnosť, že redukčná sila môže slúžiť ako hlavný znak potenciálnej antioxidačnej aktivity kvôli schopnosti redukcie Fe^{3+} ferrikyanidového komplexu (Ozturk a kol., 2020).

Na druhej strane, nanočastice pripravené Khorramim a jeho spolupracovníkmi (2013) preukázali vyššiu aktivitu zachytávania voľných radikálov DPPH ako extrakt z vlašských orechov (*Juglans regia*). Predpokladali, že za zlepšené antioxidačné vlastnosti AgNPs je zodpovedné súčasné pôsobenie polyfenolov ako antioxidačných činidiel a AgNPs ako katalyzátora (Khorrami a kol. 2018). Podobné výsledky zaznamenala štúdia antioxidačných vlastností AgNPs pripravených pomocou extraktov *Costus afer*. AgNPs vykazovali vyššiu antioxidačnú kapacitu ako samotný extrakt z listov a ich aktivita bola porovnateľná s aktivitou kyseliny askorbovej. Predpokladajú, že fytochemikálie – najmä flavonoidy a ióny striebra, by mohli slúžiť ako antioxidanty prostredníctvom prenosu jedného elektrónu a atómu vodíka (Elemike a kol., 2017).

Všeobecne možno zhrnúť, že biosyntéza AgNPs prebehla pri oboch koncentráciách $AgNO_3$ a všetkých teplotách, pričom sa menil reakčný čas v závislosti od teploty a koncentrácie, ako aj poloha absorpčného maxima zodpovedajúceho prítomnosti povrchovej plazmónovej rezonancie (viď. obr. 1). Na záver je však nutné podotknúť, že ukončenie nárastu absorbancie v UV/Vis spektre po určitom čase nemusí poukazovať len na úplné zreagovanie všetkých dostupných Ag^+ iónov, ale takisto môže byť zapríčinené vyčerpaním všetkých vo vode rozpustných častí rastliny schopných redukcie. V takom prípade teda v roztoku môžu ostať nezreagované ióny Ag^+, čo môže výrazne ovplyvniť ďalšie výsledky (napríklad antibakteriálnu aktivitu) (Baláž a kol., 2021).

Výsledná antioxidačná kapacita nanočastíc striebra teda závisí od koncentrácie redukujúcich látok v extrakte, ktoré sú naviazané na povrchu nanočastíc (Bedlovičová, 2020). Je tu predpoklad, že absencia redukujúcich látok v extrakte, napríklad z dôvodu ich vyčerpania pri redukcii iónov striebra, je zodpovedná za výrazne nižšiu schopnosť vychytávania radikálu DPPH•. Avšak na dokázanie tejto skutočnosti by bolo potrebné vykonať podrobné štúdie na stanovenie chemického zloženia príslušného rastlinného extraktu, a to pred aj po zelenej syntéze nanočastíc striebra.

Stanovenie obsahu celkových fenolických látok

Celkové fenolické látky sme stanovili spektrofotometricky podľa Singletona ako ekvivalenty kyseliny galovej využitím Folin-Ciocalteauovho reagenčného činidla (Singleton, Orthofer, Lamuela-Raventós, 1999).

Z výsledkov vyplýva, že množstvo fenolických látok je vyššie ako u samotného extraktu (0,1691 $mg.ml^{-1}$) s výnimkou AgNPs pripravených pri 65 °C s použitím 5,5 mM dusičnanu strieborného (0,1565 $mg.ml^{-1}$). Strieborné nanočastice teda vykazujú množstvo celkových fenolických látok v rozmedzí 0,1565 – 0,1981 $mg.ml^{-1}$. Pričom najvyššie množstvo fenolických látok bolo u nanočastíc pripravených pri 80 °C v prípade oboch koncentrácií $AgNO_3$.

Literatúra popisuje aj stanovenie celkových flavonoidov u nanočastíc striebra, napríklad nanočastice pripravené pomocou extraktu z rastliny *Prosopis farcta* vykazovali väčšie množstvo celkových fenolických látok (462,69 $mg.g^{-1}$ GAE) ako u čistého extraktu (366,21 $mg.g^{-1}$ GAE) (Salari a kol., 2019). Autori predpokladajú, že fenolické látky, analogicky aj flavonoidy, terpenoidy, či rozpustné proteíny, slúžia ako uzatváracie činidlá, tzv. *capping agents* pre nanočastice. Antioxidačná aktivita kovových nanočastíc je zapríčinená práve prítomnosťou (poly)fenolových zlúčenín, ktoré sú v rastlinách prítomné a sú schopné vychytať či už voľné radikály alebo singletový kyslík a taktiež chelatovať prvky podieľajúce sa na produkcii voľných radikálov (Chinnasamy a kol., 2019).

Stanovenie celkovej redukčnej schopnosti

Metóda stanovenia celkovej redukčnej schopnosti využíva schopnosť vzorky redukovať manganistanové (Mn^{7+}) ióny na manganaté katióny (Mn^{2+}) v kyslom prostredí (Popović a kol., 2012). Celková redukčná schopnosť extraktu alchemilky obyčajnej bola 97,76 %. Vyššiu redukčnú schopnosť mali AgNPs s koncentráciou prekurzora 2,2 mM (91,83 – 98,46 %) oproti tým nanočasticiam, ktoré boli syntetizované použitím 5,5 mM dusičnanu strieborného (85,49 – 96,86 %). Celkové výsledky sú porovnateľné s redukčnou schopnosťou extraktu.

ZÁVER

Štúdia sa zameriava na stanovenie antioxidačnej aktivity strieborných nanočastíc pripravených zelenou syntézou pomocou rastlinného extraktu alchemilky obyčajnej (*Alchemilla vulgaris*).

S rastúcou teplotou a koncentráciou prekurzora ($AgNO_3$) prebehla reakcia biosyntézy nanočastíc rýchlejšie, pričom celkové trvanie reakcie bolo rýchle – od 1 do 7 minút. Vznik strieborných nanočastíc bol sprevádzaný farebnou zmenou roztoku zo žltkastej na tmavohnedú. Pomocou UV/Vis spektroskopie sme okolo hodnoty 450 nm pozorovali absorpčné maximum zodpovedajúce povrchovej plazmónovej rezonancii nanočastíc striebra.

Na stanovenie antioxidačnej aktivity extraktu alchemilky obyčajnej a nanočastíc striebra sme využili metódu voľného stabilného radikálu DPPH•. Z výsledkov hodnôt prepočítaných na ekvivalenty troloxu vyplýva, že ani jedna vzorka strieborných nanočastíc nevykázala antioxidačnú schopnosť porovnateľnú s troloxom. Najvyššiu hodnotu antioxidačnej aktivity vykazovali AgNPs pripravené pri teplote 70 °C s koncentráciou $AgNO_3$ 2,2 mM. Antioxidačná aktivita nanočastíc striebra pripravených z extraktu alchemilky obyčajnej je v porovnaní s antioxidačnou schopnosťou čistého extraktu nižšia. Je tu predpoklad, že v rastline prítomné sekundárne metabolity, ktoré sa využívajú na biosyntézu AgNPs (redukciou katiónu Ag^+) sa využívajú aj na vychytávanie voľných radikálov. Avšak pri biosyntéze nanočastíc dochádza k „vyčerpaniu“ týchto metabolitov, čím sa znižuje antioxidačná schopnosť nanosuspenzie.

V našej štúdii sme stanovovali aj obsah celkových fenolických látok. Z našich výsledkov vyplýva, že AgNPs vykazujú vyššie množstvo celkových fenolických látok ako samotný extrakt, pričom najvyššie množstvo fenolických látok bolo u nanočastíc pripravených pri teplote 80 ºC v oboch prípadoch koncentrácií $AgNO_3$.

Pomocou metódy PRAC sme stanovili celkovú redukčnú schopnosť extraktu alchemilky obyčajnej a AgNPs. Najvyššiu redukčnú schopnosť vykazovali nanočastice striebra s koncentráciou prekurzora 2,2 mM. Celkové výsledky sú porovnateľné s redukčnou schopnosťou extraktu.

POĎAKOVANIE

Štúdia vznikla za finančnej podpory projektu Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky – VEGA 2/0112/22 Vysoko-energetické mletie vaječného odpadu na báze kalcitu a vybraných rastlín pre prípravu nanokryštalických minerálov a environmentálne aplikácie.

ZOZNAM LITERATÚRY

Ahn, E. Y., Jin, H., Park, Y.: Assessing the antioxidant, cytotoxic, apoptotic and wound healing properties of silver nanoparticles green-synthesized by plant extracts. *Materials Science and Engineering: C*, 2019, 101, 204 – 216.

Baláž, M., Bedlovičová, Z., Daneu, N., Siksa, P., Sokoli, L., Tkáčiková, Ľ., Salayová, A., Džunda, R., Kováčová, M., Bureš, R., Lukáčová Bujňáková, Z.: Mechanochemistry as an alternative method of green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity: A comparative study. *Nanomaterials*, 2021, 11, 5.

Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., Salayová, A.: A Brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 2020, 25 (14), 1 – 25.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 1995, 28, 25 – 30.

Demirbas, A., Welt, B. A., Ocsoy, I.: Biosynthesis of red cabbage extract directed Ag NPs and their effect on the loss of antioxidant activity. *Materials Letters*, 2016, 179, 20 – 23.

Elemike, E. E., Fayemi, O. E., Ekennia, A. C., Onwudiwe, D. C., Ebenso, E. E.: Silver nanoparticles mediated by costus afer leaf extract: Synthesis, antibacterial, antioxidant and electrochemical properties, *Molecules*, 2017, 22, 5.

Fayaz, A. M., Balaji, K., Kalaichelvan, P. T., Venkatesan, R.: Fungal based synthesis of silver nanoparticles – An effect of temperature on the size of particles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, 74 (1), 123 – 126.

Chinnasamy, G., Chandrasekharan, S., Bhatnagar, S.: Biosynthesis of silver nanoparticles from *Melia azedarach*: Enhancement of antibacterial, wound healing, antidiabetic and antioxidant activities. *International Journal of Nanomedicine*, 2019, 14, 9823 – 9836.

Khalil, M. M. H., Ismail, E. H., El-Magdoub, F.: Biosynthesis of Au nanoparticles using olive leaf extract. *Arabian Journal of Chemistry*, 2010, 5 (4), 431 – 437.

Khorrami, S., Zarrabi, A., Khaleghi, M., Danaei, M., Mozfari, M.: Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *International journal of nanomedicine*, 2018, 13, 8013 – 8024.

Mittal, A. K., Kaler, A., Banerjee, U. C.: Free radical scavenging and antioxidant activity of silver nanoparticles synthesized from flower extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano Biomedicine and Engineering*, 2012, 4, 118 – 124.

Noginov, M. A., Zhu, G., Bahoura, M., Adegoke, J., Small, C., Ritzo, B. A., Drachev, V. P., Shalaev, V. M.: The effect of gain and absorption on surface plasmons in metal nanoparticles. *Applied Physics B*, 2007, 86, 455 – 460. https://link.springer.com/article/10.1007/s00340-006-2401-0. Acessed August 23, 2022.

Ozturk, F., Çoskunçay, S., Duman, F.: Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Aesculus hippocastanum* (horse chestnut): Evaluation of their antibacterial, antioxidant and drug release system activities. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, 107, 1 – 11.

Popović, B. M., Štajner, D., Slavko, K., Sandra, B.: Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) – Comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Food Chemistry*, 2012, 134 (2), 734 – 741. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23107685. Accessed March 22, 2022.

Salari, S., Bahabadi, S. E., Samzadeh-Kermani, A., Yosefzaei, F.: *In-vitro* evaluation of antioxidant and antibacterial potential of green synthesized silver nanoparticles using *Prosopis farcta* fruit extract. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2019, 18 (1), 430 – 445.

Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of fo-

lin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 1999, 299, 152 – 178.

Sobczak-Kupiec, C, A., Malina, D., Wzorek, Z., Zimowska, M.: Influence of silver nitrate concentration on the properties of silver nanoparticles. *Micro&NanoLetters*, 2011, 6 (8), 656 – 660.

Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., Upadhyay, S. N.: Green synthesis of silver nanoparticles: A rewiev. *Green and Sustainable Chemistry*, 2016, 6 (1), 34 – 56.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 62 – 70, 2023

TRENDY V TERAPII A PREVENCII ROTAVÍRUSOVEJ INFEKCIE V PEDIATRICKEJ PRAXI

TRENDS IN THERAPY AND PREVENTION OF ROTAVIRUS INFECTION IN PEDIATRIC PRACTICE

Popovičová, Lucia; Váczi, Peter

Katedra farmakológie a toxikológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

peter.vaczi@uvlf.sk

ABSTRAKT

Táto štúdia prináša prehľad súčasných znalostí o hnačkových ochoreniach v detskom veku so zameraním na rotavírusy. Zaoberá sa etiológiou, epidemiológiou, patogenézou a terapiou rotavírusových gastroenteritíd. Zahrňuje súčasné diagnostické a liečebné postupy. Vyzdvihuje najdôležitejšiu formu prevencie tohto ochorenia, a to vakcináciu.

Praktická časť štatisticky vyhodnocuje mieru zaočkovanosti vo vybraných pediatrických ambulanciách v Michalovciach a Sobranciach. Z údajov zverejnených Epidemiologickým informačným systémom vyplýva, že v rámci republiky bola najvyššia prevalencia ochorenia na východe Slovenska, a to vo vekovej skupine do 1 roka. Úspešnosť očkovania v nami sledovaných ambulanciách dosahovala v priemerne 55,5 %. Zistili sme, že príslušnosť pacientov k pohlaviu neovplyvnila výskyt rotavírusu. Z prevalencie rotavírusovej infekcie vo vzťahu k systému krvných skupín AB0 vyplýva, že u nakazených pacientov z pediatrickej ambulancie v Michalovciach aj Sobranciach prevláda krvná skupina A.

Kľúčové slová: gastroenteritída; infekcia; očkovanie; rotavírus

ABSTRACT

This study provides an overview of the current knowledge on the etiology of diarrheal diseases in childhood with a focus on rotaviruses. It deals with the epidemiology, pathogenesis and therapy of rotavirus gastroenteritis. It summarizes current diagnostic and treatment procedures and highlights the most important form of prevention of

this disease, namely vaccination.

The practical part statistically evaluates the vaccination rate in selected pediatric clinics in Michalovce and Sobrance. From the data published by the EPIS (Epidemiological Information System), it follows that within the republic, the highest prevalence of the disease was in the eastern Slovakia, namely in the age group under 1 year. The success rate of vaccination in the clinics monitored by us reached an average of 55.5%. We found that the gender of the patients did not affect the difference in the incidence of rotavirus. The prevalence of rotavirus infection in relation to the AB0 blood group system shows that blood group A predominates in infected patients from the pediatric outpatient clinic in Michalovce and Sobrance.

Key words: gastroenteritis; infection; rotavirus; vaccination

ÚVOD

Hnačkové ochorenia v detskom veku sú druhou najčastejšou akútnou infekciou po chorobách dýchacích ciest. Sú vedúcou príčinou úmrtnosti detí najmä v rozvojových krajinách, kde si ročne vyžadujú mnohé životy a hospitalizácie s fatálnymi následkami (Ambrožová, 2015). Príčina vzniku akútnych hnačkových ochorení je veľmi rôznorodá. U batoliat a dojčiat je najčastejšou príčinou vzniku hnačky infekcia. Tento typ hnačky má krátke trvanie a je zapríčinený vírusmi, baktériami, kvasinkami alebo parazitmi (Šašinka, 2007). Všeobecne platí, že vírusové gastroenteritídy sa oproti bakteriálnym črevným infekciám zvyčajne vyznačujú ľahším klinickým priebehom, ale aj kratšou dobou trvania. Negatívnym faktorom vírusových infekcií je ich nízka infekčná dávka, a teda vysoká kontagiozita, ktorá prispieva k veľmi rýchlemu šíreniu v rodinách a detských kolektívoch. Z vírusových agens sa najčastejšie uplatňujú rotavírusy, kalicivírusy, astrovírusy a z DNA vírusov adenovírusy (Krčmárová a Plíšek, 2011).

K najčastejšej a najzávažnejšej vírusovej črevnej infekcii môžeme zaradiť rotavírusovú gastroenteritídu (RVGE). Pôvodcom infekcie je RNA vírus – rotavírus. Vnímavosť k nákaze je celoživotná, no postihuje najčastejšie deti od 4 mesiacov do 5 rokov (Di Lernia a Ricci, 2006). Vírus sa z človeka na človeka prenáša fekálno-orálnou cestou. Najvýznamnejší je prenos prostredníctvom kontaminovaných rúk (Votava a kol., 2003).

V stolici je prítomný 7 – 10 dní po nákaze a k vyvolaniu príznakov infekcie postačuje 10 rotavírusových častíc. Bežná infekčná dávka sa odhaduje na 0,0001 ml filtrátu stolice. Celosvetové rozšírenie ochorenia, nutnosť častej hospitalizácie dehydratovaných detí po rotavírusovej gastroenteritíde, ale tiež nízka infekčná dávka potrebná na vyvolanie príznakov spolu s odolnosťou k dezinfekčným prostriedkom, stavia túto infekciu k najčastejším pôvodcom nozokomiálnych nákaz na detských oddeleniach. Percento detí postihnutých hnačkovým ochorením počas hospitalizácie je 5 – 30 % (Pazdiora a Táborská, 2010). Za iniciálny symptóm RVGE sa považuje akútne zvracanie trvajúce 1 – 2 dni s pridruženou horúčkou, ktorá môže byť až 40 °C a pri výraznej dehydratácii môže trvať 2 – 4 dni. Stolica je zelená, vodnatá, bez prímesí krvi a hlienu. Zvyčajne je prítomných 3 – 8 stolíc denne (Kolářová, 2008).

Základom liečby akútnych gastroenteritíd je rehydratácia, realimentácia a medikamentózna liečba. Pri rehydratácii sa nahradzujú straty vody a elektrolytov spôsobených hnačkou, prípadne zvracaním, a upravuje sa acidóza. Pokiaľ je dieťa schopné príjmu *per os*, tak straty tekutín vo všetkých vekových skupinách nahradzujeme podaním orálneho rehydratačného roztoku. Tento roztok obsahuje glukózu, chlorid sodný, chlorid draselný a citrát sodný. Realimentácia je včasné podanie výživy vo forme dobre tolerovateľných potravín s cieľom zabrániť ďalšiemu poškodeniu črevnej sliznice s rozvojom chronickej hnačky. S realimentáciou sa začína najskôr až po 4 – 6 hodinách od podávania orálneho rehydratačného roztoku (Šašinka, 2007).

Medikamentózna liečba je prispôsobená bezpečnosti farmakoterapie v detskom veku. Najčastejšie

Tab. 1: Výskyt hnačkových ochorení detí podľa zastúpenia chorobnosti v krajoch

Rok	Incidencia v krajoch		
2017	1. Košický	2. Prešovský	3. Trnavský
2018	1. Košický	2. Trnavský	3. Prešovský
2019	1. Nitriansky	2. Prešovský	3. Košický
2020	1. Košický	2. Banskobystrický	3. Prešovský
2021	1. Košický	2. Prešovský	3. Banskobystrický

podávané lieky na detskú gastroenteritídu sú črevné adsorbenciá (adsorpčné uhlie, diosmektit), inhibítory črevnej motility (loperamid), antisekrečné liečivá (racekadotril) a doplnky výživy na báze vitamínov, minerálov a probiotík. V zahraničí je na liečbu gastroenteritídy často predpisovaný nitazoxanid, u nás neregistrované liečivo so širokospektrálnym antivirotickým a antiparazitárnym účinkom, ktorý podľa hlásení a výskumov skracuje trvanie hnačky u hospitalizovaných pacientov s rotavírusovou infekciou (Das a kol., 2015). Antibiotiká sú v liečbe neúčinné a navyše môžu zhoršiť priebeh ochorenia. Niektoré z nich poškodzujú nielen epitel čreva, ale spolupôsobia s vírusmi, a tak ničia prirodzenú črevnú mikroflóru, ktorá priaznivo ovplyvňuje hojenie aj pri vírusových enteritídach (Táborská a Pazdiora, 2005).

Najdôležitejším prostriedkom na prevenciu detských hnačiek je zabezpečenie dobrých hygienických opatrení, zabránenie prenosu infekcie. Týka sa to hlavne hygieny pri pestovaní a zbere potravín, prijímanie nekontaminovanej vody, hygieny rodičov a personálu starajúcich sa o detského pacienta (Ambróžová a Schramlová, 2007). Významnou možnosťou prevencie RVGE je očkovanie. Vakcinácia proti rotavírusom je dnes všeobecne odporučená všetkým deťom ako v rozvojových, tak v rozvinutých krajinách. Na Slovenku patrí toto očkovanie k nepovinným, no v Belgicku, Fínsku, Rakúsku a USA sa v súčasnosti plošne očkuje (Smetana a kol., 2013).

Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť mieru zaočkovanosti detskej populácie očkovacou vakcínou proti rotavírusom, zosumarizovať údaje o gastrointestinálnych infekciách u detí na Slovensku v 5-ročnom intervale od roku 2017 – 2021. Taktiež bolo cieľom priblížiť súčasný terapeutický postup lekárov a identifikovať pediatrami preferované liečivá na terapiu detskej gastroenteritídy.

MATERIÁL A METÓDY

Údaje o miere zaočkovanosti detí, prejavoch a komplikáciách pri RV infekcii sme získali z pediatrických ambulancií z Michaloviec a Sobraniec. Zber údajov prebiehal v období rokov 2017 – 2021. Údaje potrebné pre analýzu sme čerpali zo zdravotných záznamov pacientov vo veku od 0 – 12 mesiacov. Pri spracovaní údajov sme plne rešpektovali zákon 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov. Pri analýze údajov sme vychádzali z priemernej zaočkovanosti v daných ambulanciách a údajov z EPIS (Epidemiologický informačný systém).

Získané údaje sme zosumarizovali a následne na základe rôznych kritérií spracovali do tabuliek a grafov v programe Microsoft Word a Microsoft Excel. Na spracovanie údajov o veku pacientov sme použili aj deskriptívnu štatistiku (aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku, medián).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najrozšírenejší vírusový pôvodca gastroenteritídy na Slovensku je rotavírus. Podľa Epidemiologického informačného systému EPIS je každoročne najvyšší počet prípadov rotavírusovej infekcie na východ-

Tab. 2: Sezónnosť výskytu hnačkových ochorení v Slovenskej republike podľa EPIS

Rok	2017	2018	2019	2020	2021
Košický kraj	júl	september	júl	január	júl
Všetky kraj	január	január	september	január	júl

nom Slovensku. Zo získaných informácií vieme, že najvyššiu chorobnosť vykazoval za rok 2017, 2018, 2020, 2021 Košický kraj, a najnižšiu Bratislavský (EPIS, 2022) (viď tab. 1).

Podľa Ambróžovej a Schramlovej (2007) sa rotavírusy endemicky najviac objavujú v zimných mesiacoch a na jar. V našom miernom podnebnom pásme vrcholia v chladných a suchých obdobiach. Závisí to aj od lokality, napr. paradoxne v Košickom kraji chorobnosť dosahuje svoj vrchol v júli, v Bratislavskom kraji v januári (viď tab. 2).

Ďalším faktorom, ktorému sa venuje odborná literatúra, je pohlavie detských pacientov. V našej štúdii sme nezistili koreláciu medzi pohlavím a výskytom rotavírusu, avšak niektoré publikácie dokumentujú ich častejší výskyt u chlapcov. Napríklad Fang a kol. (2002) zahrnul do svojej štúdie 836 detí a zistil, že infekciou rotavírusom sú častejšie nakazení chlapci než dievčatá. Aj štúdiou z Číny bol potvrdený názor, že vyšší výskyt infekcie je prítomný u chlapcov ako u dievčat (Qiao a kol., 1999). Taktiež štúdia z Afriky uvádza vyšší výskyt nákazy u mužského ako u ženského pohlavia (Junaid a kol., 2011). Dôvody rozdielu v miere detekcie medzi pohlaviami však nie sú známe.

Vo svojom výskume sme sa venovali aj prevalencii infekcií rotavírusom vo vzťahu k systému krvných skupín AB0. V pediatrickej ambulancii Sobrance z celkového počtu nakazených malo najviac detských pacientov krvnú skupinu A (38 %), potom B (25 %) a najmenej pacientov malo krvnú skupinu 0 (17 %) a AB (17 %). U nakazených detských pacientov z Michaloviec bol pomer krvných skupín A a B vyrovnaný (po 35 %), 18 % detí malo krvnú skupinu AB a 12 % skupinu 0. Elnady a kol. (2017) vypracovali podobné výskumné správy. V štúdii, ktorá obsahovala 82 detských pacientov z Nigérie, najväčší počet detí pozitívnych na rotavírusovú infekciu malo krvnú skupinu A a 0. Podobné zistenia boli zaznamenané v štúdii uskutočnenej v Egypte, kde sa uvádza, že deti s krvnou skupinou A a 0 mali najvyššiu prevalenciu rotavírusového ochorenia. Naopak, Yazgan a kol. (2013) vo svojej štúdii nezistili žiadnu koreláciu medzi rizikom RVGE a akoukoľvek krvnou skupinou.

V ďalšej našej analýze venovanej vekovo špecifickej chorobnosti sme zistili, že najviac ohrozenou skupinou sú deti do 1 roka, nasledovala veková skupina 1 – 4 roky a v roku 2019 prekvapivo dominovala skupina 5 – 9-ročných. S rastúcim vekom klesal počet prípadov, až na výnimku 65 a viac-ročných. Ojobor a kol. (2020) v nigérijskej štúdii skúmajúcej výskyt rotavírusu u detí do 5 rokov zistili, že 60,9 % prípadov bolo diagnostikovaných u detí vo veku do 1 roka, takmer 20 % u detí od 13 − 24 mesiacov a zvyšných 20 % tvorili prípady detí vo veku 2 − 5 rokov.

Okrem vplyvu na vek sa zamerali aj na stravu bábätiek. Rotavírusová infekcia bola významne vyššia u detí kŕmených z fľaše, ako u detí kŕmených výlučne materským mliekom. Parashar (2017) taktiež svojou štúdiou potvrdil, že najvyšší výskyt rotavírusovej infekcie je u detí do 9 rokov, no nezistil žiadnu štatisticky významnú asociáciu medzi vekom a nákazou rotavírusom.

Terapia všetkých vírusových hnačiek je hlavne symptomatická a nelíši sa u jednotlivých vírusov. Špecifická liečba neexistuje, no sú osvedčené liečivá, ktoré pomáhajú nahradiť straty tekutín. V krajinách s nízkymi príjmami je cieľom liečby vyhnúť sa a rýchlo liečiť závažnú dehydratáciu, udržať príjem bielkovín a kalórií, aby sa predišlo úmrtiu, alebo zhoršeniu

Tab. 3: Najčastejšie liečivá predpisované na detskú gastroenteritídu v ambulancii Sobrance

Názov lieku	Liečivo	Lieková forma	Dávka
Probio-fix	*Bifidobacterium*	Perorálne kvapky	1 x 6 kvapiek
Bio-Gaia ProTectis	*Lactobacillus reuteri*	Perorálne kvapky	1 x 5 kvapiek
Nekadex	*Saccharomyces boulardii*	Perorálne kvapky	1 x 5 kvapiek
Hidrasec	racekadotril	Perorálny granulát	3 x 1 vrecúško
Kulíšek®	komplex látok	Perorálny granulát	1 x 1 vrecúško

Tab. 4: Najčastejšie liečivá predpisované na detskú gastroenteritídu v ambulancii Michalovce

Názov lieku	Liečivo	Lieková forma	Dávka
Enterol	*Saccharomyces boulardii*	Prášok	1 x 1 vrecúško
Bio-Gaia ProTectis	*Lactobacillus reuteri*	Perorálne kvapky	1 x 5 kvapiek
Enhydrol	komplex látok	Prášok	1 x 1 vrecúško
Hidrasec	racekadotril	Perorálny granulát	3 x 1 vrecúško
Smecta	diosmectit	Perorálny granulát	1 x 1 vrecúško

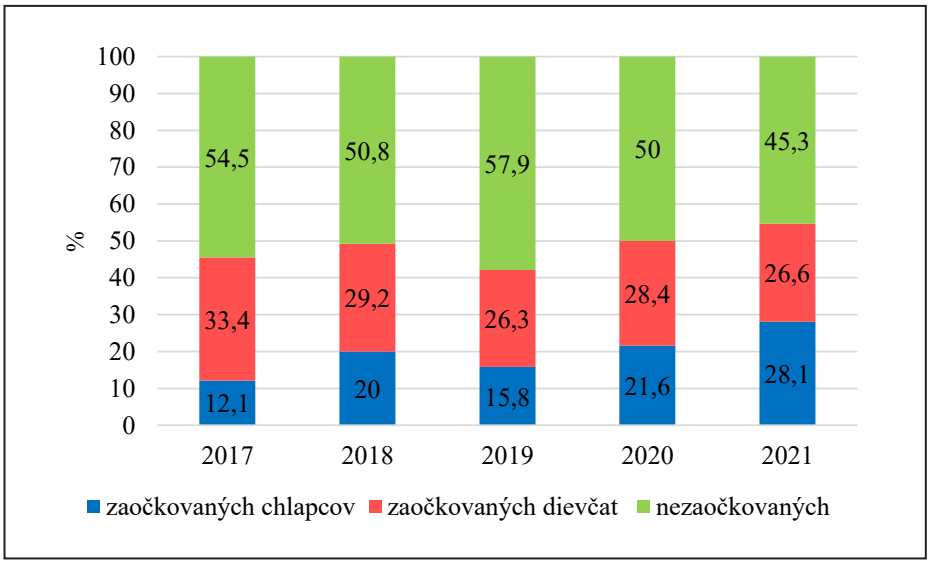
podvýživy. Naopak, v krajinách so strednými a vysokými príjmami je hlavným cieľom skrátenie hospitalizácie a dĺžky trvania hnačky. Kľúčové liečebné koncepty zahŕňajú manažment tekutín a elektrolytov, diétny režim a používanie probiotík, antiemetík, antisekrečných a antivírusových liekov (O'Ryan a kol., 2014).

Pri konzultácii s lekárkami z ambulancií zo Sobraniec a Michaloviec sme v tabuľkách 3 a 4 zhrnuli najčastejšie odporúčané liečivá aktuálne používané v praxi.

Obe pediatričky taktiež odporúčali vysadenie potravy na 4 – 6 hodín po začatí rehydratačnej terapie, ďalej u dojčiat nenahrádzať mliečnu potravu bezlaktózovou a výhradne podporiť dojčenie počas celej choroby. Je tiež dôležité doplniť stratené vitamíny a minerály, ako je vitamín A a zinok, ktorý má antisekrečný účinok. U detí predškolského veku sa odporúčajú hlavne črevné adsorbenciá, a dobré výsledky v liečbe vykazuje antisekrečný racekadotril. V oboch ambulanciách odporúčali lekárky zahájiť liečbu aj podávaním probiotík.

Kolonizácia črevného traktu po pôrode a v prvých mesiacoch dojčenia prebieha prostredníctvom baktérií rodu *Bifidobacterium*. Pre deti od narodenia sú dostupné rôzne formy probiotík, ktoré poskytujú prevenciu proti ochoreniam súvisiacim s nevhodným zložením črevnej mikroflóry. Pomáhajú aj pri kožných prejavoch ako je atopická dermatitída, či inak podráždená koža. Najlepšie účinkujúce kmene baktérií pri vírusových gastroenteritídach sú *Lactobacilus rhamnosus*, *Lactobacilus reuteri*, *Bifidobacterium lactis* a kvasinky *Saccharomyces bouldarii* (Nevoral, 2015; Šúpolová, 2021). Výsledky štúdií ohľadom podávania probiotík na prevenciu akútnych infekčných ochorení sú rôzne. Niektoré štúdie preukazujú pozitívny vplyv podávania probiotík u zdravých detí, niektoré však boli bez efektu. Novšia metaanalýza zameraná na kmeň *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG) hodnotila 18 randomizovaných štúdií v indikácii akútnej gastroenteritídy. Do štúdie bolo zaradených 4208 detí. Táto práca potvrdila, že v porovnaní s placebom dokázalo podávanie kmeňa LGG skrátiť trvanie hnačky približne o 20 hodín, a trvanie hospitalizácie o približne 29 hodín. Zaujímavosťou je, že tento kmeň bol účinnejší pri použití v európskych krajinách v porovnaní s krajinami iných kontinentov. Účinok je závislý od podanej dávky. Dávka probioti-

Graf 1: Miera zaočkovanosti (v %) detských pacientov za roky 2017 – 2021 v ambulancii Sobrance



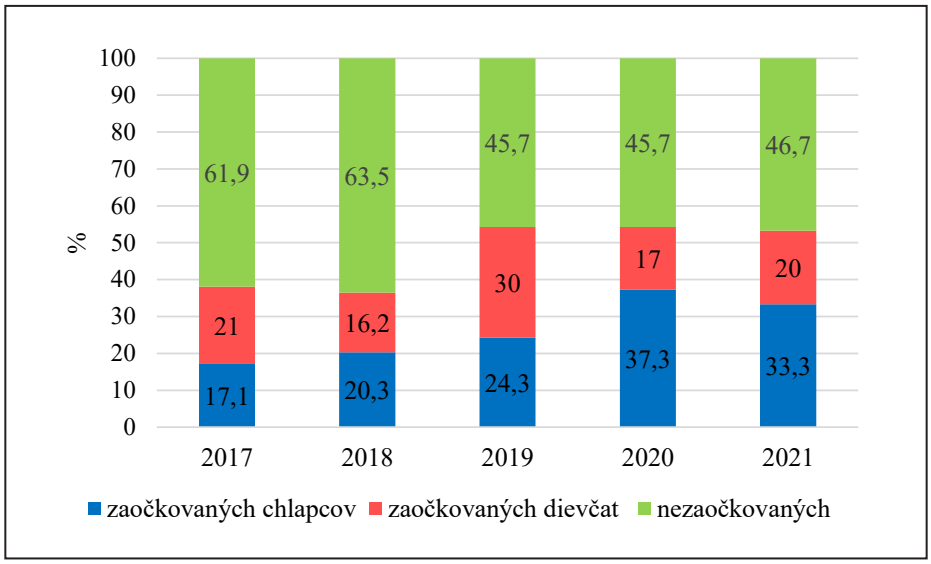
ka nemá byť menšia ako 10^{10} CFU (Szajewska a kol., 2019).

Pozoruhodný pokrok v manažmente rotavírusových ochorení sa dosiahol pomocou život zachraňujúcich vakcín. Od roku 2006 sú na našom trhu registrované dve živé očkovacie látky – vakcína RotaTeq (Merck Sharp & Dohme B.V., Holandsko) a vakcína Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals, Belgicko). Mnohé európske štáty pristúpili k plošnému očkovaniu a z výsledkov vyplýva pozitívny efekt očkovania. Vo Veľkej Británii zaznamenali výrazné zmeny už počas jedného roka, keď v roku 2013 zahájili plošné očkovanie vakcínou Rotarix. Podanie dvoch dávok bolo dokončené u 87 % detí. Následne bolo zaznamenané zníženie prípadov nakazených detí o 67 % v porovnaní s predchádzajúcim rokom (Boženský a Geržová, 2015). Juliao a kol. (2021) v štúdii z Peru zistili, že po 9 rokoch očkovania proti RV sa znížila úmrtnosť, hospitalizácie a ambulantné návštevy u dojčiat a malých detí.

Vo výsledkoch štúdie uvádzame aj mieru zaočkovanosti proti RVGE v oboch okresoch. Úspešnosť očkovania spolu v oboch ambulanciách dosahovala v priemerne 50,5 %. V období kalendárnych rokov 2017 − 2021 navštívilo pediatrickú ambulanciu v Sobranciach 312 nových pacientov. Okrem povinného očkovania sa rodičia mali možnosť rozhodnúť pre nepovinné očkovanie proti rotavírusom vo veku dieťaťa 3 mesiace. Za sledované obdobie dosiahla očkovanosť 48,3 % (viď graf 1). Lekárka preferovala očkovaciu látku Rotarix. Očkovanie bolo do roku 2021 plne hradené pacientom, čo bol pravdepodobne jeden z dôvodov, prečo ho rodičia odmietali.

V pediatrickej ambulancii Sobrance je preukázaná efektivita očkovania proti rotavírusovej infekcii. V skupine nezaočkovaných detí sa najčastejšie objavilo vracanie, hnačky, horúčka (príznaky rotavírusovej infekcie) v roku 2019. Tieto deti boli po ošetrení detskou lekárkou kvôli dehydratácii aj hospitalizované. Bakteriálna infekcia bola vylúčená vykonaným odberom vzorky stolice a následnou kultiváciou. Väčšia časť chorých nezaočkovaných detí pochádzala z prostredia, kde neboli dodržiavané hygienické štandardy. Vysoká infekčná a nozokomiálna schopnosť rotavírusovej infekcie zapríčinila nakazenie aj zaočkovaných detí. U detí, ktoré boli zaočkované, opísala lekárka ľahší a kratší priebeh RVGE oproti deťom nezaočkovaným, a dokumentovala podanie symptomatickej

Graf 2: Miera zaočkovanosti detských pacientov (v %) za roky 2017 – 2021 v ambulancii Michalovce



liečby s následnou liečbou v domácom prostredí.

Detskú ambulanciu v Michalovciach vedú 2 lekárky. Prírastok novorodencov, teda nových pacientov za 5-ročné obdobie od roku 2017−2021 bol 369, z ktorých 228 sa nechalo zaočkovať nepovinným očkovaním proti rotavírusovej infekcii (viď graf 2). Lekárky očkovali obidvomi očkovacími látkami. Vzhľadom na vyššiu hustotu obyvateľstva mesta a lepšie socioekonomické postavenie rodín, rodičia boli od začiatku naklonení k zaočkovaniu svojich detí aj nepovinnou očkovacou látkou.

Efektivita očkovania proti rotavírusovej infekcii bola potvrdená aj v michalovskej pediatrickej ambulancii. Najviac chorých detí, ktoré sa nedali zaočkovať, bolo v roku 2017 a v roku 2019. Pacienti prichádzali buď s akútnymi príznakmi rotavírusovej enteritídy, ako sú hnačky, vracanie, slabý príjem potravy, alebo ako pacienti prepustení do ambulantnej starostlivosti po prvotnom ošetrení v miestnej nemocnici. Približne polovica nezaočkovaných pacientov v roku 2019 boli deti do 3 mesiacov. Infekciu získali buď nozokomiálnou cestou rovno z pôrodnice, alebo bola prítomná znížená hygiena v domácom prostredí. A v tomto prípade, u zaočkovaných detí, ktoré sa nakazili rotavírusom, bol dokumentovaný omnoho miernejší priebeh infekcie, ktorá bola zvládnutá iba probiotikami a symptomatickou liečbou v domácom prostredí.

Z výsledkov chorobnosti vidíme, že rotavírusová infekcia má skôr klesajúci charakter. Je otázne, či pomohli vo väčšej miere očkovacie vakcíny alebo protipandemické opatrenia, ktoré zvýšili hygienu a zamedzili stretávaniu sa v kolektívoch. V každom prípade, zvládnutie gastroenteritídy je v tejto dobe ľahšie ako v minulosti a prispelo k tomu zvýšenie povedomia o očkovaní, moderné liečivá a presnejšia detekcia vírusov a diagnostika.

ZÁVER

Črevné infekcie sprevádzajú človeka od narodenia, až po jeho starobu. Závažnosť ochorenia a následné zotavenie závisí od vnímavosti jedinca, od pôvodcu nákazy, od infekčnej dávky, od skorej a vhodne zvolenej terapie a prevencie. Na našom trhu máme možnosť prevencie, a to vakcínu, ktorá pomáha vyhnúť sa, resp. ľahšie prekonať rotavírusovú enteritídu.

Zistili sme, že počty chorých zaočkovaných detí sú oveľa nižšie ako počet nakazených a nezaočkovaných pacientov. Za terapiu prvej voľby sa pediatrič-

kám osvedčilo podávanie orálnych rehydratačných roztokov a probiotík obsahujúcich kmeň *Saccharomyces boulardii* a *Lactobacillus reuteri*.

Očkovanie je v poslednom čase veľmi diskutovanou témou. Stretávame sa s rôznymi názormi, že očkovanie ohrozuje zdravie detí vznikom nežiaducich reakcií. Pravda je niekde uprostred. Neexistuje totiž 100 % účinná a bezpečná očkovacia látka. Bezpečnosť vakcín je každoročne kontrolovaná príslušnými úradmi na úrovni štátov, ale aj v rámci celého sveta. Je teda na rodičoch svojich detí zvážiť klady a zápory očkovania vakcínou proti rotavírusom.

ZOZNAM LITERATÚRY

Ambróžová, H., Schrámlová, J.: Virové gastroenteritidy [Viral gastroenteritis]. *Pediatrie pro praxi*, 2007, 1, 31 – 35.

Ambróžová, H.: Akútní průjmy u dětí [Acute diarrhea in children]. *Pediatrie pro praxi*, 2015, 16 (2), 82 – 85.

Boženský, J., Geržová, J.: Tak trochu jiná gastroenteritida [A sort of different gastroenteritis]. *Pediatrie pro praxi*, 2015, 16 (6), 427 – 429.

Das, R., Sankar, J., Naik, S.: Efficacy and safety of diosmectite in acute childhood diarrhoea: a meta-analysis. *Archives of disease in childehood*, 2015, 100 (7), 704 – 712.

Di Lernia, V., Ricci, C.: Skin manifestations with Rotavirus infection. *International Journal of dermatology*, 2006, 45 (6), 759 – 761.

Elnady, H. G., Abdel Samie, O. M., Saleh, M. T., Sherif, L. S., Abdalmoneam, N., Kholoussi, N. M., Kholoussi, S. M., El-Taweel, A. N.: AB0 blood grouping in Egyptian children with rotavirus gastroenteritis. *Przeglad gastroenterology*, 2017, 12, 175 – 180.

Epidemiologický informačný systém [Epidemiological Information System]. https://www.epis.sk/InformacnaCast/Ockovanie/VysledkyOckovania.aspx. [cit. 15.8.2021].

Fang, Z. Y., Yang, H., Qi, J., Zhang, J., Sun, L. W., Tang, J. Y., Ma, L., Du, Z. Q., He, A. H., Xie, J. P., Lu, Y. Y., Ji, Z. Z., Zhu, B. Q., Wu, H. Y., Lin, S. E., Xie, H. P., Griffin, D. D., Ivanoff, B., Glass, R. I., Gentsch, J. R.: Diverzity of rotavirus strains among children with acute diarrhea in China. *Journal of clinical microbiology*, 2002, 40, 1875 – 1878.

Juliao, P., Guzman-Holst, A., Gupta, V., Velez, C., Petrozzi, V., Ochoa, T. J.: Acute gastroenteritis morbidity and mortality trends following universal rotavirus vaccination in children in Peru. *Journal of Infectious Diseases and Therapy*, 2021, 10 (14), 2563 – 2574.

Junaid, S. A., Umeh, C., Olabode, A. O., Banda, J. M.: Incidence of rotavirus infection in children with gastroenteritis attending Jos university teaching hospital Nigeria. *Virology journal*, 2011, 16, 233.

Kolářová, M.: Rotavirové infekce v nemocničních zařízeních [Rotavirus infections in Czech hospital facilities]. *Česká geriatrická revue*, 2008, 6, 171 – 176.

Krčmárova, R., Plíšek, M.: Virové gastroenteritídy v denní pediatrické praxi [Viral gastroenteritis in daily pediatric practice]. *Pediatrie pro praxi*, 2011, 12 (4), 238 – 240.

Nevoral, J.: Probiotiká v pediatrii, co je prokázané a co dosud není [Probiotics in pediatrics, what is proven and what is not yet confirmed]. *Pediatrie pro praxi*, 2015, 16 (2), 108 – 112.

O'Ryan, G. M., Ashkenazi-Hoffnung, L., O'Ryan-Soriano, M. A., Ashkenazi, S.: Management of acute infectious diarrhea for children living in resource-limited settings. *Expert review of anti-infective therapy*, 2014, 12, 621 – 632.

Ojobor, C. D., Olovo, C. V., Onah, L. O., Ike, A. C.: Prevalence and associated factors to rotavirus infection in children less than 5 years in Enugu State, Nigeria. *Journal of Virus disease*, 2020, 31 (3), 316 – 322.

Parashar, U. D., Gibson, C. J., Bresee, J. S., Glass, R. I.: Rotavirus infection. *Nature reviews. Disease primers*, 2017, 9, 17 083.

Pazdiora, P., Táborská, J.: Rotavirové gastroenteritidy, vakcinace [Rotavirus gastroenteritis,

vaccination]. *Pediatrie pro praxi*, 2010, 11 (3), 177 – 181.

Táborská, J., Pazdiora, P.: Rotavirus jako nejčastejší původce průjmu u detí [Rotavirus – the most common cause of diarrhea in children]. *Pediatrie pro praxi*, 2005, 6, 3, 135 – 140.

Qiao, H., Nilsson, M., Abreu, E. R., Hedlund, K. O., Johansen, K., Zaori, G., Svensson, L.: Viral diarrhea in children in Beijing, China. *Journal of Medical Virology*, 1999, 57 (4), 390 – 396.

Smetana, J., Boštíková, V., Kosina, P., Chlíbek, R.: Rotavírové gastreoenteritídy a možnosti prevence [Rotavirus gastroenteritis and prevention options]. *Pediatrie pro praxi*, 2013, 13, 294 – 295.

Szajewska, H., Kołodziej, M., Gieruszczak-Białek, D., Skórka, A., Ruszczyński, M., Shamir, R.: Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus GG* for treating acute gastroenteritis in children, 2019 update. *Alimentary pharmacology and therapeutics*, 2019, 49, 1376 – 1384.

Šašinka, M. a kol.: *Pediatria I* [Pediatrics]. 2. vyd. Bratislava: Herba, 2007. 740 s.

Šúpolová, I.: Dispenzačné minimum pri výdají probiotických produktov [Dispensation minimum in dispensing of probiotics]. *Teória a prax*, 2021, 10 (53), 9.

Votava, M. a kol.: *Lékařská mikrobiologie speciální* [Special Medical Microbiology]. 1. vyd. Brno: Neptun, 2003. 495 s.

Yazgan, H., Keleş, E., Gebeşçe, A., Demirdöven, M., Yazgan, Z.: Blood group and rotavirus gastroenteritis. *Pediatric infectious diseases*, 2013, 1, 603 – 604.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 71 – 80, 2023

HORMONÁLNA A NEHORMONÁLNA LIEČBA ŽIEN V MENOPAUZE

HORMONAL AND NON-HORMONAL TREATMENT OF WOMEN IN MENOPAUSE

Kseňáková, Alena; Bačkorová, Miriam

Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

miriam.backorova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Pokles plazmatickej koncentrácie estrogénov je spojený s poklesom ovariálnej funkcie, ktorý vedie k rôzne závažným endokrinným, psychickým a somatickým zmenám. Na Slovensku sú k dispozícii liečivé prípravky, ktoré pomáhajú ženám v klimakterickom období. Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť preskripciu liečiv indikovaných v terapii menopauzy za obdobie piatich rokov vo verejnej lekárni v Starej Ľubovni. Súčasťou práce bola aj analýza o spotrebe výživových doplnkov obsahujúcich fytoestrogény vo vybranej lekárni za obdobie jedného roku. Zistilo sa, že najčastejšie predpisovaným liečivom v monoterapii bol estradiol (40,80 %); a pri predpisovaní kombinovanej liečby to bola kombinácia hemihydrát estradiolu a dydrogesterónu (14,76 %). Z gestagénovej liečby svoje prvenstvo získalo liečivo dydrogesterón (6,17 %); predpisované najmä v perimenopauze z dôvodu nepravidelného menštruačného krvácania. U žien sa na zmiernenie menopauzálnych a postmenopauzálnych príznakov volila kúpa prípravkov s obsahom fytoestrogénov, kde prevládali doplnky s obsahom ďateliny lúčnej a sóje fazuľovej. Časť štúdie bola zameraná na ženy, ktoré užívajú lieky s obsahom tibolónu. Na základe získaných informácií od pacientok a ich gynekológa možno povedať, že všetky pacientky zaznamenali pomocou terapie tibolónom zlepšenie zdravotného stavu, pričom liečba bola účinná a dobre znášaná. Pre správne nastavenú liečbu je nevyhnutným riešením nájsť vhodnú terapiu, ktorá by zohľadňovala individuálne potreby žien s menopauzálnymi symptómami, a tým sa skvalitnil život pacientok.

Kľúčové slová: fytoestrogény; hormonálna substitučná liečba; menopauza; tibolón

ABSTRACT

A decrease in the plasma concentration of estrogens is associated with a decrease in ovarian function, which leads to variously serious endocrine, psychological and somatic changes. In Slovakia, medicinal preparations are available to help women in the climacteric period. The aim of the study was to evaluate the prescription of drugs indicated in menopause therapy over a period of five years in a public pharmacy in Stará Ľubovňa. The work also included an analysis of the consumption of nutritional supplements containing phytoestrogens in the selected pharmacy over a period of one year. It was found that the most frequently prescribed drug in monotherapy was estradiol (40.80%), and when combined treatment was prescribed, it was the combination of estradiol hemihydrate and dydrogesterone (14.76 %). Among the progestagen treatments, the drug dydrogesterone (6.17 %), prescribed especially in perimenopause for irregular menstrual bleeding, gained its primacy. Among women who chose to buy preparations containing phytoestrogens to alleviate menopausal and postmenopausal symptoms, supplements containing clover and soybean prevailed. Part of the study was focused on women who used medicines containing tibolone. Based on the information obtained from the patients and their gynecologists, it can be said that all patients experienced an improvement in their health status with the help of tibolone therapy. Finding a suitable therapy that takes into account the individual needs of women with menopausal symptoms is an essential solution for properly adjusted treatment, thereby improving the quality of life of patients.

Key words: hormonal replacement therapy; menopause; phytoestrogens; tibolon

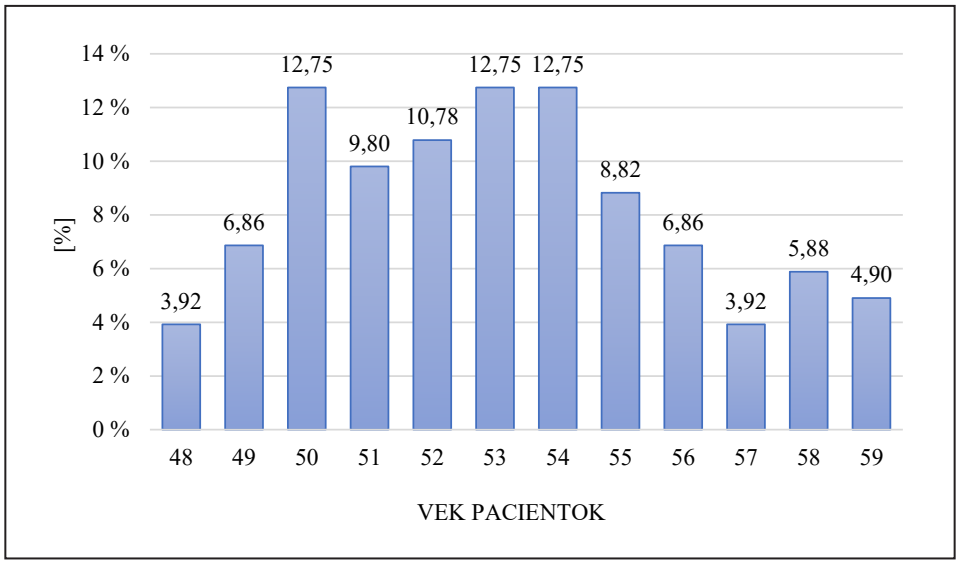
ÚVOD

Menopauza sa definuje ako posledné menštruačné krvácanie, kde ide o trvalé zastavenie menštruačných cyklov u žien v určitom veku. Prirodzenú menopauzu je možné stanoviť len retrospektívne po dvanástich mesiacoch amenorey (nedostavenie sa menštruácie). Ide o obdobie, kedy dochádza k vyhasínaniu funkcie vaječníkov a klesaniu hladiny pohlavných hormónov (estrogénov a progesterónu). Príchod tohto obdobia je u žien individuálny. Začína sa približne okolo 45. roku života. Ide o obdobie, kedy dochádza ku fyziologickým zmenám, ktoré so sebou prinášajú množstvo nepríjemných zdravotných ťažkostí. Napriek tomu, že ide o prirodzený proces, dochádza ku zmenám, ktoré znižujú kvalitu života každej ženy v danom období. Jedným z faktorov, ktoré majú vplyv na skorší nástup menopauzy je fajčenie, pričom u fajčiarok dochádza k menopauze približne o 3 roky skôr a diskutuje sa aj o vplyve zvýšeného množstva viscerálneho tuku u obéznych žien (Suchánek, 2014).

Súčasťou procesu starnutia u žien je obdobie prechodu medzi plodným vekom ženy a začiatkom sénia. Z pohľadu koncepcie WHO (Svetovej zdravotníckej organizácie) sa obdobie tohto prechodu rozdeľuje na 2 fázy: perimenopauzu (klimaktérium) a postmenopauzu (Jeníček, 2001). Vo vyspelých krajinách so súčasným rastom sociálnej a ekonomickej úrovne, a tiež zásluhou rozvoja biomedicínskych vied a lekárskej starostlivosti sa priemerná dĺžka života v priebehu 20. storočia predĺžila o takmer 30 rokov. Z toho vyplýva, že v súčasnosti prežije žena v období menopauzy takmer tretinu svojho života (Simočková, 2011).

Cieľom štúdie bola analýza údajov o pacientkach a liečbe ťažkostí súvisiacich s prechodom žien do obdobia menopauzy. Pomocou údajov získaných z lekárne, gynekologickej ambulancie a odbornej literatúry sa poukázalo na využitie terapeutických možností liečby klimakterických ťažkostí, s ohľadom na individuálne potreby konkrétnej ženy. Možnosťou voľby je využitie liekov s obsahom hormónov, ktorých výdaj je viazaný na lekársky predpis, prípadne

Graf 1: Vekové zastúpenie žien s preskripčným záznamom v roku 2020



využitie voľnopredajných liečivých prípravkov s obsahom fytoestrogénov, ktoré môžu priniesť požadovanú úľavu od príznakov klimaktéria.

MATERIÁL A METÓDY

Údaje o preskripcii liečiv indikovaných v terapii menopauzy boli spracované za obdobie piatich rokov od 01. 01. 2016 do 31. 12. 2020. Z celkového počtu papierových a elektronických lekárskych predpisov bolo za spomínané obdobie vyselektovaných 745 receptov, ktoré sa podľa slovenskej verzie desiatej revízie Medzinárodnej klasifikácie chorôb (MKCH – 10) (ICD – 10 Version: 2019) indikovali na diagnózy súvisiace s prechodom žien do menopauzy, alebo pre postmenopauzálne ženy ako **N92.4** (nadmerné krvácanie v menopauze), **N95.1** (menopauzálne a klimakterické poruchy), **N95.2** (postmenopauzálna atrofická vaginitída), **N95.3** (poruchy spojené s arteficiálnou menopauzou), **M95.9** (menopauzová a perimenopauzová porucha, bližšie neurčená). Pri analyzovaní údajov sa kládol dôraz aj na liekovú formu a liečivo. Lekárske predpisy boli vyhodnotené pomocou počítačového programu WinLSS. Pomocou programu Microsoft Excel boli výsledky spracované do tabuliek a grafov. Získané údaje boli spracované podľa zákona o ochrane osobných údajov. Rovnakým spôsobom boli získané údaje o spotrebe výživových prípravkov s obsahom fytoestrogénov za obdobie od 1. 8. 2020 do 31. 8. 2021. Prostredníctvom dotazníka bola zistená efektívna terapia tibolónom u 12 postmenopauzálnych žien počas 3 mesiacov.

VÝSLEDKY

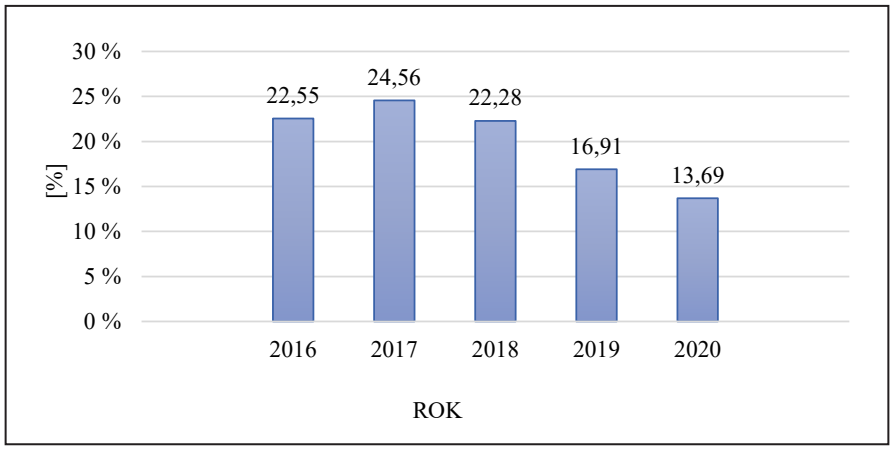
Charakteristika pacientov

Celkový počet analyzovaných receptov s diagnózami **N92.4, N95.1, N95.2, N95.3, M95.9** za obdobie piatich rokov bol 745 kusov. Najväčšie zastúpenie tvorili ženy vo veku medzi 50. a 54. rokom života. Najmladšia pacientka mala 43 rokov a najstaršia 62 rokov. V roku 2020 bolo vyexpedovaných 102 preskripčných záznamov (PZ). V danom roku mala najmladšia pacientka 48 a najstaršia 59 rokov (viď graf 1).

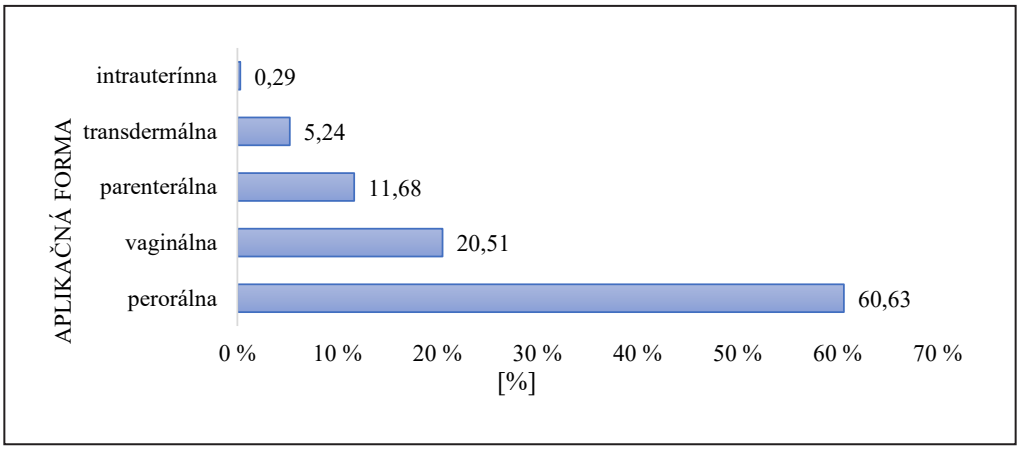
Analýza spotreby hormonálnych liečiv v terapii menopauzy

Počas sledovaného obdobia sa najviac receptov vyexpedovalo v roku 2017. Z celkového počtu 745 pre-

Graf 2: Spotreba hormonálnych liečiv v terapii menopauzy



Graf 3: Aplikačná forma hormonálnej substitučnej terapie



skripčných záznamov ich bolo 24,56 % (183 PZ). Z grafu 2 vyplýva, že spotreba liečiv určených na hormonálnu substitučnú terapiu (HRT – hormone replacement therapy) mala v konkrétnej lekárni mierne klesajúcu tendenciu.

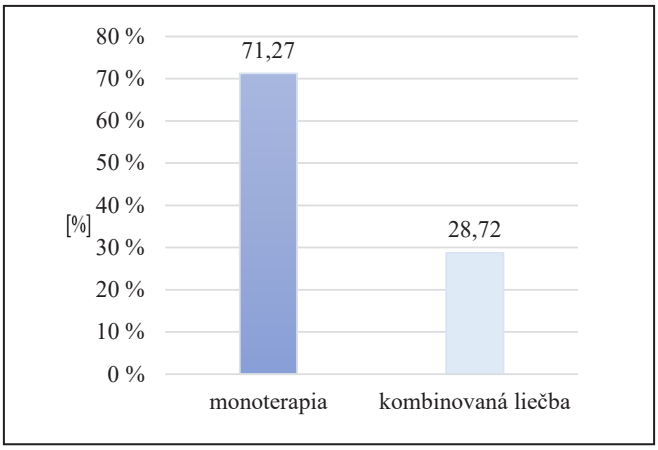
Analýza používania liekových foriem hormonálnej substitučnej terapie

Najviac predpisovanou aplikačnou formou v danej lekárni bola perorálna forma. Z celkového počtu 745 preskripčných záznamov sa perorálna preskripcia tabliet vyskytla v 60,63 % prípadov (451 PZ) (viď graf 3). Druhou najčastejšie predpisovanou formou podania HRT bol indikovaný vaginálny krém v 20,51 % (152 PZ). Na zmiernenie príznakov prejavujúcich sa po menopauze počas sledovaného obdobia (2016 – 2020) bolo zaznamenaných 5,24 % (39 PZ) s liečivom v transdermálnej forme. Počas HRT s obsahom estrogénov sa na predchádzanie nadmernému zhrubnutiu (hyperplázie) sliznice maternice indikoval intrauterinný inzert (INS ITU) s obsahom levonorgestrelu v preskripcii 0,29 % (2 PZ).

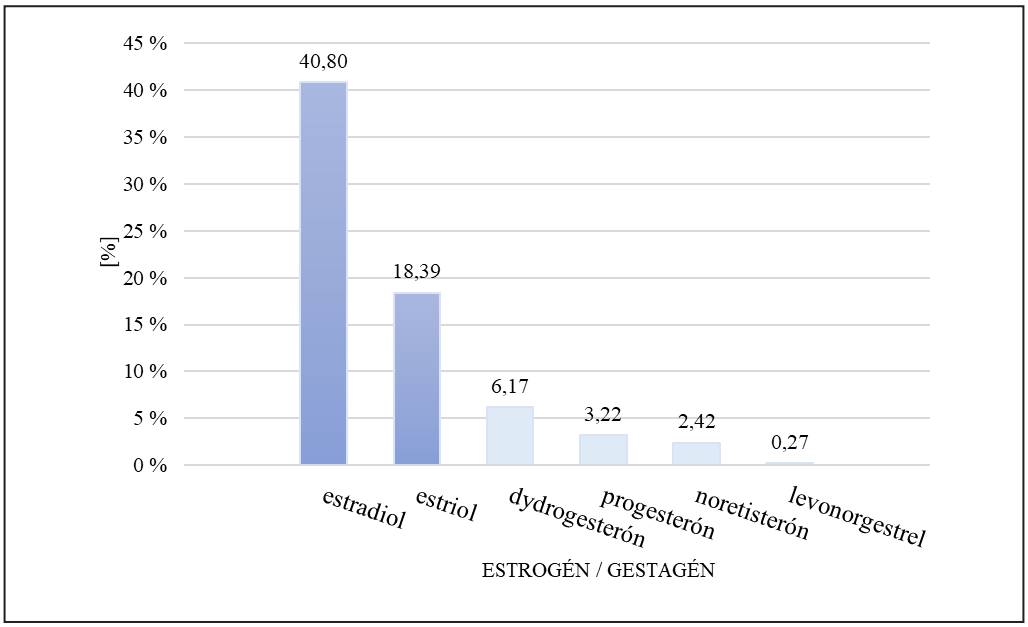
Monoterapia versus kombinovaná hormonálna substitučná terapia

Z celkového počtu lekárskych predpisov bola monoterapia, a teda samotný gestagén, prípadne samotný estrogén indikovaný v 531 prípadoch, čo pred-

Graf 4: Hormonálna substitučná terapia v monoterapii vs. v kombinovanej liečbe



Graf 5: Podiel vydaných receptov s obsahom estrogén-gestagénového liečiva

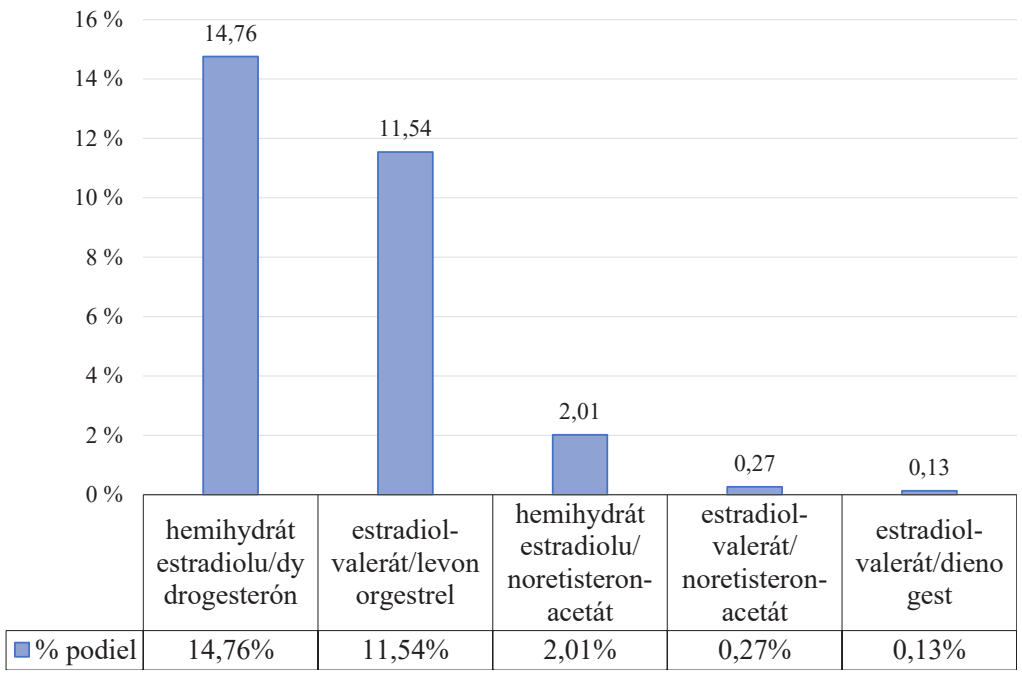


stavovalo 71,27 % z celkového počtu preskripčných záznamov oproti kombinovanej liečbe, ktorá sa vyskytla 214-krát. V percentuálnom hodnotení to bolo menej ako 29 % (viď graf 4).

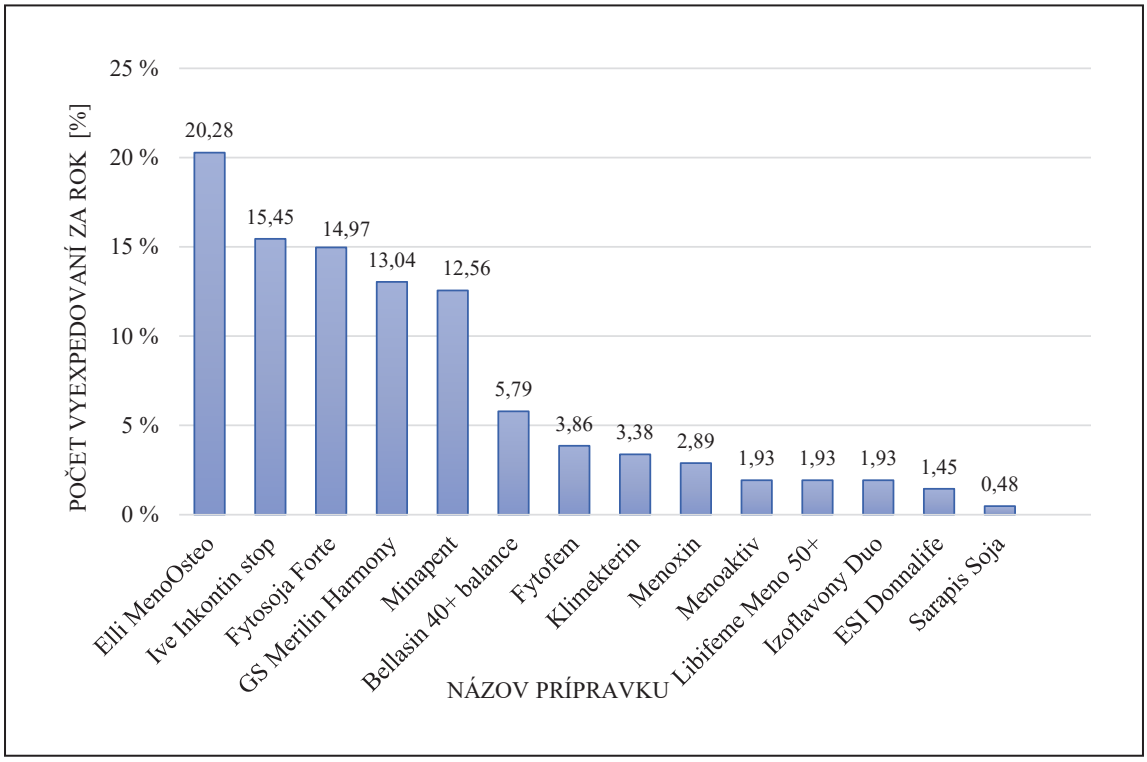
Analýza monoterapie hormonálnej substitučnej terapie

Z celkového počtu 531 vyexpedovaných PZ, indikovaných v liečbe monoterapie, tvorila estrogénová substitúcia 59,19 % (441 PZ) a gestagénová substitúcia 12,08 % (90 PZ). Z monoterapie, ktorá predstavovala vyše 71 % vyexpedovaných liekov, sa estradiol vyskytol v 40,80 %. V preskripcii samotnej gestagénovej substitúcie bolo spolu 90 PZ. Najčastejšie používaným syntetickým gestagénom, derivátom pregnandiénu v tabletovej forme bol dydrogesterón, ktorý bol predpísaný 46 pacientkam (6,17 %) (viď graf 5).

Graf 6: Kombinácia estrogén-gestagénových liečiv



Graf 7: Spotreba výživových doplnkov za rok 2020



Analýza kombinovanej hormonálnej substitučnej terapie

Celkovo bol hemihydrát estradiolu/dydrogetserón indikovaný 14,76 % pacientkam (viď graf 6). Liečivo s obsahom 1 mg estradiolu a 0,5 mg noretisteron-acetátu sa vyskytlo v počte 6 PZ a s obsahom 1 mg estradiolu a 1 mg noretisteron-acetátu bolo indikované v 2,01 % (9 PZ).

Spotreba výživových doplnkov pri menopauze

V sledovanej lekárni sa v priebehu obdobia od 01. 08. 2020 do 31. 08. 2021 predalo 207 kusov výživových doplnkov (VD) určených pre ženy s klimakterickými ťažkosťami. V sledovanej lekárni pacientky najviac preferovali kúpu výživových doplnkov Elli MenoOsteo (42 ks; 20,28 %) s obsahom sóje fazuľovej (*Glycine max*) a chmeľu obyčajného (*Humulus lupulus*). Druhým najpredávanejším výrobkom bol Ive Inkontinstop 15,45 % (32 ks), ktorý okrem zmesi špeciálne upravovaných izoflavónov z ďateliny lúčnej (*Trifolium pratense*) a sóje fazuľovej (*Glycine max)* obsahuje aj lignány zo semien ľanu siateho (*Linum usitatissimum*) a flavonolignány z plodov pestreca mariánskeho (*Silybum marianum*). Odporúča sa aj ženám pri nechcenom úniku moču (14,97 %). Ďalšie dostupné prípravky s obsahom zmesi izoflavónov z ďateliny a sóje, avšak menej preferované u pacientok, boli Klimakterin 3,38 % (7 ks), Izoflavóny Duo 1,93 % (4 ks) (viď graf 7). Pri expedovaní sa vyskytli aj výrobky vyvinuté na základe potrieb žien v období klimaktéria s obsahom extraktu z ploštičníka strapcovitého (*Cimicifuga racemosa*), ktorý bol prítomný vo výživovom doplnku GS Merilin Harmony a jeho ročná spotreba bola 13,04 % (27 ks). Ploštičník strapcovitý sa spolu s vyššie spomínanými zmesami izoflavonoidov nachádzal aj v ďalších piatich prípravkoch, a tak sa stal treťou najčastejšie zastúpenou rastlinou v predaji výživových prípravkov s fytoestrogénnymi účinkami.

Efektívnosť tibolónu u postmenopauzálnych žien

Efektívnosť tibolónu u postmenopauzálnych žien sa zistila pomocou dotazníka vyplneného dvanástimi ženami. Najmladšia pacientka mala 49 rokov, najstaršia 62 rokov. Počas liečby nebol zaznamenaný žiadny signifikantne zvýšený nárast hmotnosti ani u jednej z pacientok. Pri všetkých pacientkach bol na základe Kuppermanovho indexu pre odhad stupňa klimakterických ťažkostí zaznamenaný pozitívny efekt liečby najmä pri odstránení vazomotorických klimakterických ťažkostí, ako je potenie a návaly tepla. 10 z 12 pacientok uviedlo zlepšenie kvality pohlavného života, najmä kvôli suchosti pošvy, ktorá vymizla. Ďalším prínosom liečby bolo, že počas užívania liekov ani jedna pacientka nemala problém s obnovou menštruačného krvácania alebo špinenia. Práve špinenie bolo dôvodom, prečo jedna z týchto pacientok prešla z klasickej HRT na liečbu tibolónom. Deväť pacientok uvádzalo značné zlepšenie nálady a psychickej pohody. Všetky pacientky hodnotili liečbu tibolónom ako pozitívnu. Ani jedna pacientka nezaznamenala pri jej užívaní ťažkosti alebo vedľajšie účinky a prejavili záujem o dlhodobú liečbu.

DISKUSIA

Informácie a poznatky o zdravom starnutí žien vedú k zamysleniu sa a k hľadaniu možností, ako zlepšiť kvalitu života žien v menopauze (Kopačíková a kol., 2017). Pri vhodne zvolenom prípravku predstavuje HRT významný prospech v liečbe menopauzy. Na základe údajov Štatistického úradu žije na Slovensku viac ako 700-tisíc žien vo veku od 45 do 65 rokov. Práve táto skupina žien si vyžaduje zvýšenú pozornosť tak odbornej, ako i laickej verejnosti. Za obdobie piatich rokov (2016 – 2020) bolo vo verejnej lekárni v Starej Ľubovni spolu vyexpedovaných 745 lekárskych predpisov. Priemerný vek žien, ktorým boli PZ predpísané bol 53 rokov. Na základe spotreby týchto liekov v konkrétnej lekárni sme zaznamenali pokles PZ určených na terapiu žien v menopauzálnom období z 24,56 % v roku 2017 na 13,69 % v roku 2020.

Základnou aplikačnou formou podávania HRT je forma perorálna, perkutánna a vaginálna. Rozdiel perorálne podanej látky oproti látkam podávaným inou formou je najmä v tom, že liečivo sa vstrebáva

v čreve, prechádza cez portálne žily do pečene, a tam dochádza k čiastočnej, alebo úplnej premene na metabolity. Hovoríme o tzv. first-pass efekte a čiastočnej inaktivácii danej látky (Trávnik, 2019). HRT indikovaná po komplexnom aj individuálnom zvážení zdravotného stavu u žien znamenala podávanie čistých gestagénov, samotných estrogénov alebo kombináciu oboch hormónov. Z celkovej preskripcie prevládala vo vybranej verejnej lekárni perorálna aplikácia (60,63 %). A to aj napriek výhodám vaginálneho a transdermálneho podávania estrogénov, ktoré prinášajú menšie riziko trombóz, lepšiu biologickú dostupnosť a vylúčenie first-pass efektu (Faith, 2014). Okrem spomínaných aplikačných foriem sa využívala aj injekčná aplikácia, ktorá sa vyskytla u 87 pacientok, čo tvorilo vyše 11 % lekárskych predpisov. Transdermálna, či intrauterinná lieková forma bola menej obľúbená a bola predpísaná len v 5,53 % PZ.

Pre väčšinu symptomatických žien je používanie HRT menej ako 5 rokov bezpečné a účinné. HRT obsahuje buď iba estrogén, alebo u žien, ktoré nepodstúpili hysterektómiu, gestagén na ochranu maternice pred nádorovým ochorením. Jeho riziká a prínosy boli dôkladne študované a líšia sa v závislosti od veku a iných zdravotných problémov. U žien po hysterektómii by sa mal používať samotný estrogén. Progestogénovou zložkou HRT môže byť progesterón alebo gestagén, ktorý sa viaže na progesterónový receptor. Observačné štúdie naznačujú, že produkty HRT obsahujúce mikronizovaný progesterón alebo dydrogesterón môžu byť spojené s nižším rizikom rakoviny prsníka, kardiovaskulárnych ochorení a tromboembolických príhod. V perimenopauze je potrebné zvážiť cyklickú HRT alebo (u žien do 50 rokov) nízko dávkové kombinované perorálne kontraceptíva na minimalizáciu nepravidelného krvácania. U žien, ktoré sú jeden až dva roky po menopauze a chcú sa vyhnúť krvácaniu, sa odporúča kontinuálna kombinovaná HRT alebo tibolón (Hickey a kol., 2012). Metaanalýzou 24 štúdií vykonávaných u 3329 menopauzálnych žien sa zistilo, že všetky typy estrogénov sú účinné na zmiernenie návalov tepla. Frekvencia návalov sa znížila u žien, ktoré dostávali estrogén v porovnaní so ženami, ktoré dostávali placebo (Bergendal a kol., 2016). Z celkového počtu PZ sme evidovali 71,27 % PZ s jednou terapeutickou zložkou. V monoterapeutickej estrogénovej liečbe prevažovali prípravky s obsahom estradiolu (40,80 %) a pri samotnej gestagénovej substitúcii, ktorá je menej špecifická, dydrogesterón (6,17 %). Samotné gestagény sa podávajú ženám v období perimenopauzy pri problémoch s nepravidelným, nadmerným, či dysfunkčným krvácaním. U žien s nepravidelným krvácaním v dôsledku anovulačných cyklov sa indikuje cyklická substitúcia exogénnymi gestagénmi (Kanaba, 2016).

V prípade kombinovanej liečby, ktorá predstavovala 28,72 % zo všetkých vyexpedovaných receptov, svoje prvenstvo dosiahla kombinácia hemihydrát estradiolu/dydrogesterón (14,76 %) a estradiol-valerát/levonorgestrel (11,54 %). Pri preskripcii kombinovanej estrogén-gestagénovej liečby všeobecne platí zásada, že u žien s maternicou je potreba opozície estrogénov s gestagénmi. Ak sú perimenopauzálne a postmenopauzálne ženy zdravé, môžu užívať ktorýkoľvek gestagén. U starších žien v postmenopauze, u žien s obezitou alebo inzulínovou rezistenciou sa zvyčajne predpisuje gestagén s menej androgénnou aktivitou (Borovský, 2006).

Sator a kol. (2000) vo svojej klinickej štúdii, ktorej sa zúčastnilo 110 žien v menopauze udáva, že počas troch mesiacov všetky, okrem štyroch z 34 skúmaných klimakterických symptómov vykazovali významné zlepšenie a neboli zaznamenané žiadne významné zmeny v telesnej hmotnosti žien. Kombinovaná HRT 17ß-estradiol/dydrogesterón účinne redukovala klimakterické symptómy, nevykazovala žiadne významné zmeny v hrúbke endometria a poskytovala vynikajúcu kontrolu cyklu.

Fytoestrogény (FE), tiež nazývané „estrogény z potravy“, sú látky rastlinného pôvodu, štrukturálne podobné ženskému hormónu estradiolu (17-β-estradiol), majú schopnosť viazať sa na estrogénové receptory. V závislosti od typu estrogénových receptorov ich buď aktivujú, alebo blokujú. Epidemiologické dôkazy a zozbierané experimentálne údaje zo štúdií na zvieratách naznačujú priaznivé účinky izoflavó-

nov na zdravie, ale klinické údaje v prospech takýchto účinkov je potrebné ešte získať (Cvejić, 2012). V roku 2020 sa vyexpedovalo spolu 207 výživových doplnkov za účelom zlepšenia klimaktérických príznakov. Išlo o 14 rôznych produktov určených ženám v menopauze. 20,28 % predstavoval produkt Elli MenoOsteo, ktorý bol v sledovanom čase vydaný 42-krát. Z voľne dostupných produktov v lekárni ženy najmenej siahali po prípravku Sarapis Soja (0,48 %). Výživové doplnky obsahujúce fytoestrogény sú často zmesou extraktov z rôznych rastlín. Najčastejšie obsahujú extrakty zo sóje fazuľovej, ďateliny lúčnej a ploštičníka strapcovitého, pričom 10 zo 14 prípravkov obsahovalo práve ďatelinu lúčnu a iných 10 prípravkov sóju fazuľovú ako zdroj FE. Po analýze pacientok sme dospeli k záveru, že hlavným dôvodom zakúpenia prípravkov s obsahom fytoestrogénov bola redukcia vazomotorických príznakov peri- a postmenopauzálnych žien.

Moreira a kol. (2014) popisujú fyziologické a hormonálne zmeny pozorované počas menopauzy a terapeutické stratégie používané počas tohto obdobia. Kriticky sa zaoberajú výhodami a pochybnosťami spojenými s HRT na báze estrogénu/progesterónu a diskutujú o používaní FE ako možnej alternatívy. Tibolón sa používa pri liečbe klimaktérických symptómov a v prevencii osteoporózy u žien po menopauze. Dostupný je vo viac ako 90 krajinách, najmä v Európe a Latinskej Amerike, okrem USA. Špecifické účinky tibolónu na konkrétne tkanivo závisia od prítomnosti jedného z jeho aktívnych metabolitov a jeho receptora (Reed a Kloosterboer, 2004). Dôležitou vlastnosťou je, že nespôsobuje menštruačné krvácanie, čím zvyšuje compliance žien po menopauze a umožňuje liečbu starších žien, ktoré predtým neboli vystavené HRT (Nijland a kol., 2008). Podľa získaných informácií od našich respondentiek, ktoré mali možnosť posúdiť liečbu svojich ťažkostí pomocou tibolónu možno povedať, že v liečbe klimaktérického syndrómu je tibolón porovnateľný s dostupnými metódami HRT. Tibolón dosahuje lepšie výsledky najmä v oblasti sexuality a ovplyvnenia psychiky postmenopauzálnych žien (Campisi a Marengo, 2007). Jeho účinnosť je podľa štúdie Biglia a kol. (2010) dokázaná na základe dvojito zaslepenej placebom kontrolovanej štúdie, uskutočnenej na celom svete pri veľkom počte žien po menopauze. Výsledkom je výrazné zmiernenie klimaktérických symptómov, zlepšenie nálady a sexuálnej pohody. Zo skúsenosti pacientok z gynekologickej ambulancie v Kežmarku, ktoré sú v zhode s údajmi vyskytujúcimi sa v odbornej literatúre o tibolóne, sa okrem vysokej účinnosti potvrdila aj dobrá znášanlivosť lieku Livial u pacientok v liečbe klimaktérického postmenopauzálneho syndrómu.

ZÁVER

Z výsledkov štúdie vyplýva, že za posledných 5 rokov má preskripcia liečiv s hormonálnou aktivitou vo verejnej lekárni v Starej Ľubovni mierne klesajúcu tendenciu, napriek značne pozitívnym účinkom na stav žien v klimaktérickom období. Po analýze výsledkov možno povedať, že vo vybranej lekárni tvorili značnú preskripciu lieky s obsahom jednej zložky (71,27 %). Najčastejšie predpisovaným liečivom z radu estrogénovej substitúcie bol estradiol (40,80 %). Z gestagénovej substitúcie to bol dydrogesterón (6,17 %); predpisovaný najmä v perimenopauze na nepravidelné menštruačné krvácanie.

Za obdobie jedného roka sa predalo 207 kusov výživových doplnkov, ktoré sú určené na zmiernenie menopauzálnych a postmenopauzálnych príznakov. Prevahu tvorili prípravky s obsahom fytoestrogénov, ktoré sa nachádzajú v ďateline lúčnej a sóji fazuľovej. V našom prípade až 10 zo 14 vyexpedovaných prípravkov obsahovalo spomínané rastliny. Pri terapii menopauzy sa nám podarilo preukázať účinnosť a efektívnosť tibolónu u dvanástich pozorovaných žien. Na základe získaných informácií od pacientok a ich gynekológa možno povedať, že všetky pacientky zaznamenali pomocou terapie tibolónom zlepšenie zdravotného stavu. Liečba tibolónom bola účinná a dobre znášaná všetkými pacientkami.

ZOZNAM LITERATÚRY

Bergendal, A., Kieler, H., Sundström, A., Hirschberg, A. L., Kocoska-Maras, L.: Risk of venous thromboembolism associated with local and systemic use of hormone therapy in peri- and postmenopausal women and in relation to type and route of administration. *Menopause*, 2016, 23 (6), 593 – 599.

Biglia, N., Maffei, S., Lello, S., Nappi, R. E.: Tibolone in postmenopausal women: a review based on recent randomised controlled clinical trials. *Gynecological Endocrinology*, 2010, 26 (11), 804 – 814.

Borovský, M., Lattáková, M.: Možnosti prevencie kardiovaskulárnych ochorení u žien v postmenopauze [Prevention of cardiovascular diseases in postmenopausal women]. *Via practica*, 2006, 5 (4 – 5), 186 – 187.

Campisi, R., Marengo, F. M.: Cardiovascular effects of tibolone: a selective tissue estrogenic activity regulator. *Cardiovascular Drug Reviews*, 2007, 2, 132 – 145.

Cvejić, J., Bursać, M., Atanacković, M.: Phytoestrogens: "estrogene-like" phytochemicals. *Studies in Natural Products Chemistry*, 2012, 38, 1 – 35.

Faith, T.: Menopause hormone therapy: latest developments and clinical practice. *Drugs in Context*, 2019, 8.

Hickey, M., Elliot, J., Davison, S. L.: Hormone replacement therapy. *The BMJ*, 2012, 344, 763.

International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10 Version:2019). http://apps.who.int/classi_cations/icd10/browse/2019/en. Accessed October 27, 2019.

Jeníček, J.: *Hormonální substituční terapie a klimakterium* [Hormone Replacement Therapy and Climacteric]. Praha: Grada Publishing, 2001, 104.

Kanaba, K.: Funkcia a využitie progesterónu v období premenopauzy a menopauzy [Function and use of progesteron in the period of premenopause and menopause]. *Využitie progesterónu v gynekológii a pôrodníctve*, 2016. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.edukafarm.sk%2Fdata%2Fsoubory%2FBROZURA%2FPROGESTERON%2FVyuzitie%2520progesteronu%2520FINAL.PDF&clen=2734356&chunk=true [cit. 28-08-2022].

Kopčíková M., Javorka, K., Moraučíková, E.: Pilotná štúdia v ženskej populácii Slovenska: Metabolický estrogén deficitný syndróm [A pilot study in woman population of Slovakia: Metabolic estrogen deficiency syndrome]. *Zdravotnícke štúdie*, 2017, 2 (9), 3 – 6.

Moreira, A. C., Silva, A. M., Santos, M. S., Sardao, V. A.: Phytoestrogens as alternative hormone replacement therapy in menopause: What is real, what is unknown. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 143, 61 – 71.

Nijland, E. A., Schultz, W. C. W., Nathorst-Boös, J., Helmond, F. A., Van Lunsen, R. H., Palacios, S.: Study Investigators. FSD PHARMACOTHERAPY: Tibolone and transdermal E2/NETA for the treatment of female sexual dysfunction in naturally menopausal women: Results of a randomized active-controlled trial. *The journal of sexual medicine*, 2008, 5 (3), 646 – 656.

Reed, M. J., Kloosterboer, J. H.: Tibolone: a selective tissue estrogenic activity regulator (STEAR). *Maturitas*, 2004, 48, 4 – 6.

Sator, M. O., Nagele, F., Sator, P., Travica, S., Gruber, D., Huber, J. C.: Clinical profile of a new hormone replacement therapy containing 2 mg 17β-estradiol and 10 mg dydrogesterone. *Maturitas*, 2000, 34, 267 – 273.

Simočková, V.: Gynekologicko-pôrodnícke ošetrovateľstvo [Gynecological-Obsteric Nursing]. Martin: Osveta, 2011. 216 s.

Suchánek, P.: Menopauza – čo prináša a čo si vyžaduje [Menopause – what it yelds and what it requires]. *FarmiNews*, 2014, 1, (6), 1 – 3.

Trávnik, P.: Aktuálni trendy v hormonální substituční terapii [Current trends in hormone replacement therapy]. *Praktické lekárenství*, 2019, 2, 82 – 84.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 81 – 95, 2023

KOMBINOVANÁ FARMAKOTERAPIA *DIABETES MELLITUS* (KAZUISTIKA)

COMBINED PHARMACOTHERAPY OF *DIABETES MELLITUS* (CASE REPORT)

Šufliarska, Renáta[1]; Takáč, Peter[1]; Hroncová, Silvia[2]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
[2]Diabetologická ambulancia Poliklinika – LDCH, s. r. o., kpt. Nálepku 643/10, 962 12 Detva
Slovenská republika

peter.takac@uvlf.sk

ABSTRAKT

***Diabetes mellitus* (*DM*) je metabolická porucha, ktorá sa vyskytuje v tele v dôsledku zníženej aktivity inzulínu, sekrécie inzulínu alebo vytvorením inzulínovej rezistencie. S progresiou ochorenia sa v tele nevyhnutne vyskytujú patologické zmeny, ako je nefropatia, retinopatia alebo kardiovaskulárne komplikácie. *DM* sa rozdeľuje na podtypy: *DM* typ I, *DM* typ II, gestačný a iné.**

Zatiaľ čo *DM* typu I sa vo všeobecnosti lieči inzulínovou substitučnou terapiou, liečba *DM* typu II predstavuje perorálne a parenterálne antidiabetiká. Hlavnou medikamentóznou terapiou *DM* typu II sú inzulínové sekretagogá, inzulínové senzitizéry, inhibítory alfa-glukozidázy, inkretínové mimetiká, ihhibítory DPP-4 a inhibítory SGLT-2. Duálna lieková terapia sa odporúča u pacientov, u ktorých nie je možné dosiahnuť terapeutické metabolické ciele monoterapiou. Úspešná liečba vyžaduje individuálny prístup a najčastejšie kombinovanú terapiu.

Cieľom je poukázať na terapiu *DM* pomocou zozbieraných údajov zo zdravotných dokumentácií pacientov na diabetologickej ambulancii a porovnanie výsledkov účinnosti terapie v skoršom, ale aj v pokročilom štádiu ochorenia. Tieto údaje sú zamerané na anamnézu pacienta, stanovenie diagnózy, štádium ochorenia, dĺžku liečby, terapiu a výsledný efekt v liečbe ochorenia. Liečba je rozdielna pri jednotlivých typoch *DM*. Začína sa monoterapiou perorálnymi antidiabetikami s nižšími dávkami, ktoré upravujeme podľa glykémií. Ak sa aj naďalej nedosahuje dobrá metabolická kompenzácia, pridávame do liečby ďalší preparát perorálnych a parenterálnych antidiabetík, ktorý prípadne dopĺňame inzulínom. Z toho vyplýva, že efekt jednotlivých účinných látok nemožno gene-

ralizovať na celú skupinu pacientov. Výber liečiv by mal byť individuálny s ohľadom na prínosy a riziká u konkrétneho pacienta.

Kľúčové slová: *diabetes mellitus*; inzulín; hyperglykémia; hypoglykémia; PAD

ABSTRACT

***Diabetes mellitus* (*DM*) is a metabolic disorder that occurs in the human body as a result of reduced insulin activity, insulin secretion, or the development of insulin resistance. As the disease progresses, pathological changes such as nephropathy, retinopathy or cardiovascular complications inevitably affect the human being. *DM* is divided into subtypes: *DM* type I, *DM* type II, gestational and other.**

While *DM* type I is generally treated with insulin replacement therapy, *DM* type II is treated with oral and parenteral antidiabetic drugs. The main drug therapy for *DM* type II is using insulin secretagogues, insulin sensitizers, alpha-glucosidase inhibitors, incretin mimetics, DPP-4 inhibitors and SGLT-2 inhibitors. Dual drug therapy is recommended for patients in whom the therapeutic metabolic goals cannot be achieved with the monotherapy. The successful treatment requires individual approach and combined therapy in majority of the cases.

The aim is to highlight *DM* therapy by using data collected from the medical records of patients at the diabetes clinic. There is a comparison of the therapy results in the earlier, but also in the advanced stage of the disease. These data are focused on the patient's anamnesis, diagnosis, stages of the disease, length of the treatment, therapy and its final effect in the treatment of diseases. Treatment is different for individual types of *DM*. It starts with PAD monotherapy with lower doses, which can be adjusted according to glycemia. If it is still not possible to achieve a good metabolic compensation, we add another PAD preparation to the treatment, which may be supplemented with insulin. The effect of individual active substances cannot be generalized to the entire group of patients. The choice of drugs should be individual, taking into account the benefits and risks for a specific patient.

Key words: *diabetes mellitus*; insulin; hyperglycemia; hypoglycemia; PAD

ÚVOD

Diabetes mellitus je civilizačné ochorenie, pre ktoré je charakteristické dlhodobé zvýšenie glukózy v krvi. V priebehu rokov sa prevalencia diabetu celosvetovo zvýšila a je klasifikovaná ako jedna z hlavných príčin vysokej úmrtnosti a chorobnosti. Jedná sa o poruchu látkovej premeny cukrov, tukov a bielkovín, ktorá je spôsobená zmenou hladiny inzulínu, pôsobenia inzulínu alebo oboch porúch súčasne (Harreiter, Roden, 2019).

Ochorenie je klasifikované podľa Americkej dietetickej asociácie do štyroch skupín. *Diabetes mellitus* 1. typu je charakterizovaný absolútnym nedostatkom inzulínu. Ochorenie sa začína náhle v detstve a často sa prejaví po prekonanej infekcii. Genetická predispozícia alebo idiopatický proces sú najčastejšie príčiny vzniku. Veľký smäd, časté močenie, závraty, spavosť, úbytok na váhe a zrýchlené dýchanie sú hlavné príznaky ochorenia a súvisia s rozvratom vnútorného prostredia (Henríquez-Tejo, Cartes-Velásquez, 2018). Diabetes 2. typu je predovšetkým ochorením v strednom a vyššom veku. Rozvíja sa niekoľko rokov vzhľadom na existujúce riziká, ako sú obezita, porucha metabolizmu tukov, vysoký krvný tlak, nedostatok pohybu a rezistencia na inzulín. Častá je genetická predispozícia. Jej príznaky nie sú výrazné, ochorenie prebieha dlhé roky bez akýchkoľvek príznakov, až sa prejaví so závažnými komplikáciami (Daryabor a kol., 2020).

Porušené metabolické procesy vedú k rozvoju chronických mikrovaskulárnych a makrovaskulárnych komplikácií. Bez ohľadu na to, aký typ cukrovky je

diagnostikovaný, nekontrolovaná hladina glukózy prináša vážnejšie zdravotné problémy. Oba typy cukrovky vedú ku kardiovaskulárnym komplikáciám, k poškodeniu ciev, cievnej mozgovej príhode, ochoreniam obličiek, poškodeniu zraku, neurologickým poruchám a zhoršenému hojeniu rán. Neodhalené alebo zanedbané stavy môžu prejsť do fázy gangrény (Lotfy a kol., 2017).

V súčasnosti neexistuje žiaden liek, čo by dokázal bunky obnoviť alebo im vrátiť funkciu. Lieky, ktoré máme k dispozícii, dokážu korigovať priebeh ochorenia a znižovať výskyt komplikácií. Predpokladom úspechu je spolupráca pacienta, ktorá spočíva v racionalizácii životného štýlu. Pacient svojím aktívnym prístupom k liečbe výrazne spomaľuje priebeh ochorenia. Liečba pomocou liekov je pri diabete 1. a 2. typu odlišná. Diabetes 1. typu si vyžaduje od začiatku liečbu inzulínom. Terapia inzulínom sa uplatňuje aj u tehotných diabetičiek, u chorých so zlyhaním obličiek alebo pečene a pri neznášanlivosti perorálnych antidiabetík. Základom liečby diabetu 2. typu sú režimové a pohybové opatrenia, ktoré sa doplňujú liekmi vo forme tabliet alebo injekčného roztoku. Hladinu glukózy upravujú antidiabetiká rôznymi spôsobmi. Stimulátory sekrécie inzulínu podporujú vylučovanie inzulínu z pankreasu. Liečivá zvyšujúce citlivosť na inzulín zvyšujú schopnosť organizmu využívať inzulín, ktorý sa tvorí v pankrease. Inhibítory alfa-glukozidázy spomaľujú vstrebávanie cukrov v čreve. Inhibítory DPP-4 stimulujú vylučovanie inzulínu v závislosti od hodnoty cukru v krvi. Inhibítory spätného vychytávania glukózy zabraňujú vstrebávaniu cukru z moču. V niektorých prípadoch sa perorálne a parenterálne antidiabetiká kombinujú s inzulínom. Samozrejmou a nenahraditeľnou súčasťou terapie diabetu je i liečba pridružených ochorení (Padhi, Nayak, Behera, 2020).

Vzhľadom na uvedené skutočnosti v tejto štúdii venujeme pozornosť analýze farmakoterapie u jednotlivých typov *diabetes mellitus*. Cieľom je skríning informácií, ktoré sa zameriavajú na anamnézu pacienta, klinické príznaky, namerané hodnoty diagnostických parametrov a samozrejme na farmakologické postupy pri liečbe. Získané informácie sme nadobudli pomocou spolupráce s diabetologickou ambulanciou vo forme kazuistík.

METODIKA PRÁCE

Vytvorenie teoretického prehľadu

Cieľom teoretického prehľadu bolo zozbieranie informácií a vytvorenie krátkeho zhrnutia o *DM* 1. a 2. typu a vplyvu ochorenia na fyziologické procesy. Zhrnutie sa zaoberalo patogenézou, klinickými príznakmi, diagnostikou a liečbou, ktorá si vyžaduje individualizovaný prístup a väčšinou kombinovanú terapiu, popisom účinnosti a efektu jednotlivých skupín orálnych antidiabetík a paranterálnych liečivých prípravkov, a tiež aj ich potenciálnymi rizikami a kontraindikáciami. Informácie a dáta boli zozbierané pomocou databáz PubMed, Science Direct, Google Scholar a zo štatistických výstupov NCZI.

Analýza kazuistík

Praktická časť tejto štúdie bola zozbieraná v spolupráci s diabetologickou ambulanciou MUDr. S. Hroncovej v Detve. Zozbieranie údajov sa týkalo 10 pacientov, ktorým bolo diagnostikované ochorenie *DM*. Vo väčšine sa jednalo o novovzniknuté ochorenie. Dokumentácia pacientov bola plne anonymizovaná, bez uvedenia osobných údajov a v súlade so Zákonom č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

Zo zozbieraných údajov sme sledovali anamnézu pacienta, symptómy, pridružené ochorenia, výsledky laboratórnych testov krvi, skríningové vyšetrenia a terapiu za určité obdobie.

VÝSLEDKY

Analýza kazuistík

Kazuistika 1: Liečba T2*DM* u pacientky pomocou trojkombinácie SGLT-2i empagliflozínu, metformínu a gliklazidu

64-ročná pacientka bola odoslaná všeobecným lekárom na diabetologickú ambulanciu pre náhodne na-

Tab. 1: Zhrnutie údajov o pacientke 1

Základné informácie o pacientovi	žena, 64 r., pije kávu, nefajčí, nepije alkohol pridružená rodinná anamnéza
Symptómy ochorenia	polyúria, polydipsia, chudnutie nemala
Namerané hodnoty glukózy	• 2/2019: 19,6 mmol.l^{-1} • 7/2019: 11,2 mmol.l^{-1} • 1/2020: 11,4 mmol.l^{-1} • 6/2020: 9,5 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 2/2019: 11,3 % • 7/2019: 8,8 % • 1/2020: 10,0 % • 6/2020: 6,9 %
Terapia	• 2/2019: metformín 1 x 500 mg, gliklazid 1 x 30 mg • 7/2019: metformín 2 x 500 mg, gliklazid 1 x 60 mg • 1/2020: empagliflozin 1 x 10 mg, metformín 2 x 850 mg, gliklazid 1 x 30 mg • 6/2020: liečba ponechaná
Vyšetrenie	očné aj neurologické vyšetrenie nepotvrdilo poškodenie

Tab. 2: Zhrnutie údajov o pacientovi 2

Základné informácie o pacientovi	muž, 61 r., fajčí, pije kávu, prítomná rod. anamnéza
Symptómy ochorenia	polyúria, polydipsia
Namerané hodnoty glukózy	• 5/2014: 24,4 mmol.l^{-1} • 8/2014: 6,8 mmol.l^{-1} • 11/2014: 6,4 mmol.l^{-1} • 12/2019: 14,1 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 5/2014: 12,7 % • 8/2014: 6,6 % • 11/2014: 3,5 % • 12/2019: 8,5 %
Terapia	• 5/2014: metformín 1 x 850 mg, gliklazid 1 x 30 mg • 8/2014: metformín 1 x 850 mg, gliklazid 1 x 30 mg, vitamíny skupiny B • 12/2019: metformín/kanagliflozin 2 x 150/1000 mg, gliklazid 1 x 30 mg
Vyšetrenie	symetrická distálna polyneuropatia

meranú hyperglykémiu pri preventívnom vyšetrení. Boli prítomné typické príznaky *DM* ako je polyúria, polydipsia (viď tab. 1). Vstupná glykémia u pacientky 19,6 mmol.l^{-1}, HbA1c DCCT 11,3 % .

Kazuistika 2: Podanie kombinovaného prípravku SGLT-2i/metformín u pacienta s *DM* a pridruženou polyneuropatiou

61-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú ambulanciu pre náhodne nameranú hyperglykémiu na internej ambulancii. Typické príznaky *DM* ako je polyúria, polydipsia (viď tab. 2). Vstupná glykémia: 24 mmol.l^{-1}, HbA1c DCCT: 12,7 %.

Kazuistika 3: Adekvátny terapeutický efekt kombinovaným prípravkom analóg GLP-1/inzulín u pacienta s *DM*T2

50-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú

Tab. 3: Zhrnutie údajov o pacientovi 3

Základné informácie o pacientovi	muž, 50 r., pije kávu, fajčenie, alkohol zriedka pridružená rodinná anamnéza
Symptómy ochorenia	chudnutie, slabosť, potenie
Namerané hodnoty glukózy	• 8/2015: 19,6 mmol.l^{-1} • 8/2016: 11,2 mmol.l^{-1} • 8/2018: 11,4 mmol.l^{-1} • 11/2019: 9,5 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 8/2015: 8,9 % • 8/2016: 10 % • 8/2018: 10 % • 11/2019: 6,7 %
Terapia	• 6/2014: metformín 2 x 500 mg, gliklazid 1 x 60 mg • 8/2015: gliklazid 1 x 60 mg, vildagliptín/metformín 1 x 50/1000 mg • 8/2016: metformín 1 x 2000 mg, inzulín glargin 14 j. podkožná aplikácia • 8/2018: metformín 1 x 2000 mg, gliklazid 1 x 90 mg, kombinovaný prípravok inzulínu degludek/liraglutid v úvodnej dávke 16 j. podkožná aplikácia každé 3 dni • 11/2019: liečba ponechaná, len úprava dávky kombinovaný prípravok inzulínu degludek/liraglutid 17 j., alopurinol 1 x 300 mg, kolchicín 0,5 mg p. p.
Vyšetrenie	neurologické: objektivizovaná senzitívna polyneuropatia

Tab. 4: Zhrnutie údajov o pacientovi 4

Základné informácie o pacientovi	muž, 54 r., pije kávu, nefajčí, nepije alkohol
Symptómy ochorenia	polyúria
Namerané hodnoty glukózy	• 9/2019: 10,6 mmol.l^{-1} • 2/2020: 14,6 mmol.l^{-1} • 8/2020: 6,3 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 9/2019: 8,2 % • 2/2020: 10 % • 8/2020: 5,3 %
Terapia	• 9/2019: metformín 2xd 500 mg • 2/2020: metformín 2xd 1000 mg, GLP-1 analóg dulaglutid, statín/fibrát 1 x 20/145 mg • 8/2020: liečba ponechaná
Vyšetrenie	očné aj neurologické vyšetrenie nepotvrdilo poškodenie

ambulanciu pre príznaky *DM* ako schudnutie, slabosť a potenie hornej polovice tela (viď tab. 3). oGTT glukóza: I:14,4 mmol.l^{-1}; II: 23 mmol.l^{-1}; III: 22,4 mmol.l^{-1}; moč: I: negatívny nález; II: negatívny nález; III: negatívny nález.

Kazuistika 4: Komplexný účinok liečby analógom GLP-1 u pacienta s hyperlipoproteinémiou

54-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú ambulanciu praktickým lekárom po náhodne nameranej hyperglykémii 16,7 mmol.l^{-1}, po tom ako zjedol naraz celý melón. Pacient mal typické príznaky *DM* ako je polyúria, polydipsiu neudával (viď tab. 4).

Tab. 5: Zhrnutie údajov o pacientke 5

Základné informácie o pacientovi	žena, 61 r., pije kávu, fajčí, nepije alkohol prítomná genetická predispozícia
Symptómy ochorenia	polyúria, polydipsia, slabší zrak
Namerané hodnoty glukózy	• 5/2016: 19,6 mmol.l^{-1} • 10/2016: 9,9 mmol.l^{-1} • 5/2019: 10,7 mmol.l^{-1} • 10/2019: 7,5 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 5/2016: 11,3 % • 10/2016: 8,6 % • 5/2019: 7,9 % • 10/2019: 5,3 %
Terapia	• 5/2016: metformín 1xd 500 mg • 10/2016: metformín XR 1 xd 1000 mg, gliklazid 1 x 30 mg • 5/2019: metformín XR 1 x 1000 mg, gliklazid 1 x 30 mg, GLP-1 analóg dulaglutid • 10/2019: liečba ponechaná
Vyšetrenie	očné aj neurologické vyšetrenie nepotvrdilo poškodenie

Tab. 6: Zhrnutie údajov o pacientovi 6

Základné informácie o pacientovi	muž, 64 r., pije kávu, nefajčí, nepije alkohol
Symptómy ochorenia	hyperglykémia pri preventívnej prehliadke
Namerané hodnoty glukózy	• 10/2016: 9,1 mmol.l^{-1} • 1/2018: 9,6 mmol.l^{-1} • 10/2019: 10,4 mmol.l^{-1} • 3/2020: 6,3 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 10/2016: 6,9 % • 1/2018: 8,3 % • 10/2019: 10,6 % • 3/2020: 5 %
Terapia	• 10/2016: gliklazid 1 x 30 mg • 1/2018: gliklazid 1 x 30 mg, metformín 1 x 1000 mg, bazálny inzulín glargin • 10/2019: gliklazid 1 x 30 mg, komb. prípravok inzulínu degludek/liraglutid • 3/2020: liečba ponechaná s úpravou dávkovania
Vyšetrenie	symetrická distálna polyneuropatia

Vstupná glykémia na našej ambulancii u pacienta 10,6 mmol.l^{-1} a HbA1c DCCT: 8,2 %.

Kazuistika 5: Progres metabolickej kompenzácie pomocou prolongovanej formy liečiva u pacienta s *DM*

61-ročná pacientka bola odoslaná na diabetologickú ambulanciu v máji 2016 praktickým lekárom pre príznaky hyperglykémie: smäd, časté močenie, slabší zrak a vyššiu hodnotu glykémie (viď tab. 5). Vstupná glykémia u pacientky 11,4 mmol.l^{-1}, HbA1c DCCT: 7,2 %.

Tab. 7: Zhrnutie údajov o pacientovi 7

Základné informácie o pacientovi	muž, 31 r., pije kávu, nefajčí, nepije alkohol, genetická predispozícia, diagnostikovaný *DM* typ LADA
Symptómy ochorenia	hyperglykémia pri preventívnej prehliadke – úprava kompenzácie glukózy a HbA1C
Namerané hodnoty glukózy	• 10/2013: 7,8 mmol.l^{-1} • 1/2015: 15,3 mmol.l^{-1} • 10/2015: 7,7 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 10/2013: 9,3 % • 1/2015: 10,9 % • 10/2015: 9 %
Terapia	• 10/2013: Actrapid 6-6-6 j. s.c., Insuman basal 16 j. s.c. o 21.00 hod. • 1/2015: analóg glulyzin 6-6-6 j. s.c., bazálny inzulínový analóg glargin o 21,00 hod 20 j. s.c. • 10/2015: analóg lispro, neskôr aspart, aplikácia inzulínovou pumpou
Vyšetrenie	neurologické vyšetrenie potvrdilo diabetickú polyneuropatiu

Tab. 8: Zhrnutie údajov o pacientovi 8

Základné informácie o pacientovi	muž, 53 r., pije kávu, nefajčí, nepije alkohol, genetická predispozícia
Symptómy ochorenia	polyúria, polydipsia
Namerané hodnoty glukózy	• 6/2015: 6,8 mmol.l^{-1} • 1/2018: 8,5 mmol.l^{-1} • 1/2020: 12,9 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 6/2015: 4 % • 1/2018: 6,9 % • 1/2020: 7,4 %
Terapia	• 6/2015: metformín 2 x 500 mg • 1/2018: metformín 2 x 500 mg + ACEi. perindopril • 1/2020: metformín 2 x 500 mg + GLP-1 analóg semaglutid
Vyšetrenie	subakútny lumboischoalgický syndróm s radikulopatiou

Kazuistika 6: Účinok kombinovaného prípravku inzulín/analóg GLP-1 u pacienta s poškodením pečene a respiračným ochorením

64-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú ambulanciu v októbri 2016 praktickým lekárom po náhodne nameranej hyperglykémii pri preventívnej prehliadke (viď tab. 6). Vstupná glykémia pacienta na ambulancii 9,1 mmol.l^{-1} a HbA1c DCCT: 6,9 %.

Kazuistika 7: Dosiahnutie cieľových hodnôt metabolických parametrov u pacienta s ojedinelou variantou *DM* typ LADA

31-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú ambulanciu v novembri 2013 po hospitalizácii na internom oddelení, kde mu novodiagnostikovali *diabetes mellitus* typu LADA. Nastavená terapia pozostávala s inzulínovej liečby (viď tab. 7). Pacient absolvoval aj hospitalizáciu v NEDU Ľubochňa za účelom kompenzácie diabetu.

Kazuistika 8: Liečba pacienta s hypertenziou pomocou liečiva zo skupiny agonistov GLP-1 receptorov

53-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú ambulanciu v januári 2015 praktickým lekárom za účelom oGTT pri hyperglykémii nalačno pri preven-

Tab. 9: Zhrnutie údajov o pacientovi 9

Základné informácie o pacientovi	muž, 71 r., pije kávu, nefajčí, nepije alkohol, genetická predispozícia
Symptómy ochorenia	Polyúria
Namerané hodnoty glukózy	• 11/2015: 6,7 mmol.l^{-1} • 5/2016: 8,2 mmol.l^{-1} • 6/2020: 4,9 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 11/2015: 5 % • 5/2016: 5,6 % • 6/2020: 5,9 %
Terapia	• 11/2015: metformín 2 x 500 mg, glimepirid 1mg 1xd, Milgamma 2 x 1 tbl., k. tioktová l tbl. denne • 5/2016: metformín 2 x 500 mg, Milgamma 2 x 1 tbl., k. tioktová l tbl. denne • 6/2020: terapia nezmenená
Vyšetrenie	incipientná polyneuropatia dolných končatín, motorická forma

Tab. 10: Zhrnutie údajov o pacientovi 10

Základné informácie o pacientovi	muž, 52 r., pije kávu, nefajčí, nepije alkohol, genetická predispozícia, prekonaná CMP
Symptómy ochorenia	Hyperglykémia
Namerané hodnoty glukózy	• 7/2015: 8,8 mmol.l^{-1} • 2/2016: 15,1 mmol.l^{-1} • 4/2019: 8,7 mmol.l^{-1} • 12/2019:11,4 mmol.l^{-1}
Namerané hodnoty glykovaného hemoglobínu (HbA1c DCCT)	• 7/2015: 11,2 % • 2/2016: 10,6 % • 4/2019: 8,3 % • 12/2019: 9,5 %
Terapia	• 7/2015: metformín 2 x 1000 mg, gliklazid 1 x 60 mg • 2/2016: + SGLT-2: empagliflozin 10 mg l x ráno • 4/2019: + glargin v dávke 12 j. s.c. večer • 12/2019: + kombinácia deglutec/liraglutid 16 j. s.c. o 21.00 hod. • 11/2020: terapia nezmenená
Vyšetrenie	bez nálezu, neskôr angiopatia a porušená činnosť potných žliaz

tívnej prehliadke. Prítomná genetická predispozícia ochorenia a symptómy ako polyúria a polydipsia (viď tab. 8). Výsledky oGTT glukóza: I: 13,1 mmol.l^{-1}; II: 26,1 mmol.l^{-1}; III: 19,0 mmol.l^{-1}.

Kazuistika 9: Vynechanie derivátov sulfonylurey v liečbe pacienta s *DM* s výskytom hypoglykemických príhod

71-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú ambulanciu v júli 2015 praktickým lekárom pre náhodne nameranú hyperglykémiu pri preventívnom vyšetrení. Pacient mal prítomné príznaky *DM* ako je polyúria (viď tab. 9). Absolvoval oGTT s výsledkom I: 8,6 mmol.l^{-1}; II: 19,2 mmol.l^{-1}; III: 12.2 mmol.l^{-1}.

Kazuistika 10: Komplexný účinok viaczložkovej terapie u pacienta po cievnej mozgovej príhode s nedodržaním režimových opatrení

52-ročný pacient bol odoslaný na diabetologickú ambulanciu v júli 2015 internistom pre zlú kompen-

záciu *diabetes mellitus*. Terapia pozostávala z metformínu v dávke 500 mg 2x1 tbl. Pacient nemal typické príznaky *DM* (viď tab. 10). Bol čiastočne edukovaný o diabetickej diéte a pohybovom režime. Vstupná glykémia: 8,8 mmol.l^{-1}, HbA1c DCCT: 11,2 %.

DISKUSIA

Kazuistika 1

Metformín zlepšuje metabolizmus glukózy a lipidov. Stimuluje sekréciu GLP-1, adiponektínu a visfatínu (Lin a kol., 2018). Gliklazid stimuluje sekréciu inzulínu a ako jediný z tejto skupiny nezvyšuje riziko kardiovaskulárnych príhod, hypoglykémie a zvýšenie hmotnosti (Kalra a kol., 2018). SGLT-2i sú novšou triedou antidiabetických liekov, ktoré inhibujú absorpciu glukózy z proximálneho tubulu obličiek, a preto spôsobujú glykozúriu (Tentolouris a kol., 2019). Znižujú glykovaný hemoglobín o 0,5 % – 1,0 % a preukázali priaznivé účinky na telesnú hmotnosť, krvný tlak, lipidový profil, stuhnutosť tepien a funkciu endotelu (Scheen, 2015). Ešte dôležitejšie je, že SGLT2i preukázali pôsobivé kardioprotektívne účinky. Medzi hlavné nežiaduce účinky SGLT2i patria infekcie močových ciest a pohlavných orgánov, ako aj euglykemická diabetická ketoacidóza (Tentolouris a kol., 2019). Pre *diabetes mellitus* typu 2 je charakteristické zvýšenie hodnôt glukózy, Hba1c, ale aj polyúria a polydipsia. Liečba trojkombináciou SGLT-2i - empagliflozínom, metformínom a gliklazidom je jedna z odporúčaných kombinácií pre adekvátny terapeutický efekt, a to hlavne úpravou hodnoty glukózy a HbA1c. Pacientka sa lieči aj na arteriálnu hypertenziu, nasadenie empagliflozínu do terapie je spájané s úpravou krvného tlaku. Pri liečbe SGLT-2i môže dôjsť k poklesu TK, preto je potrebné zvážiť úpravu antihypertenznej liečby.

Kazuistika 2

Inhibítory sodno-glukózového transportéra 2 sú navrhované ako nový prístup liečby na manažment ochorenia *DM*T2. Efekt inhibítorov SGLT-2 na pokles glykémie je nezávislý od sekrécie inzulínu a citlivosti tkanív na inzulín. Pokles glykémie sa dosahuje blokovaním spätnej resorpcie glukózy z primárneho moču v proximálnom tubule obličiek (Tentolouris a kol., 2019). Riziko hypoglykémie je oveľa nižšie ako pri sulfonylmočovine okrem výnimky gliklazidu (Kalra a kol., 2018). Zvýšené vylučovanie glukózy obličkami tiež pomáha pri chudnutí a môže pomôcť znížiť krvný tlak. Inhibítory SGLT-2 sú vo všeobecnosti dobre tolerované. Kanagliflozín má dokázané kardiovaskulárne a nefroprotektívne benefity (Tentolouris a kol., 2019). Najčastejšie hlásenými nežiaducimi účinkami sú mykotické infekcie. Záverom možno povedať, že s ich jedinečným mechanizmom účinku, ktorý je nezávislý od sekrécie a účinku inzulínu, sú inhibítory SGLT-2 užitočným doplnkom k dostupným terapeutickým možnostiam na zvládnutie *DM*T2 v akomkoľvek štádiu ochorenia (Scheen, 2015). Prezentovaná kazuistika predstavuje účinnosť terapie skupiny SGLT-2i, kanagliflozinu v kombinovanom prípravku s metformínom, pričom bol ponechaný aj derivát sulfonylurey. Pre adekvátny terapeutický efekt, hlavne úpravou metabolickej kompenzácie glukózy a HbA1c, došlo aj k poklesu TK. Pre prítomnosť mikrovaskulárnych komplikácií sa pacientovi do liečby pridali vitamíny skupiny B, parenterálnou aplikáciou. Cieľom liečby je zabránenie rozvoja akútnych komplikácií a prevencia vzniku chronických (Papatheodorou a kol., 2018).

Kazuistika 3

Kazuistika je zameraná na liečeného pacienta, u ktorého pretrváva nedostatočná úprava glukózy a HbA1C. Do terapie bol zahrnutý inhibítor DPP-4 vildagliptín, ktorý sa javí ako pomerne bezpečný, s nízkym rizikom NÚ a hypoglykemických stavov. Pre stále neuspokojivé hodnoty sme pridali kombinovaný prípravok inzulínu a analógu GLP-1 degludek/liraglutid. Klinické výhody liečby bazálnym inzulínom a agonistom receptora GLP-1 vedú k zlepšeniu glykemickej kontroly v porovnaní s jej zložkami podávanými samostatne (Gallwitz, 2019). Agonisty receptora glukagón podobného peptidu-1 sú schválené na liečbu diabetu 2. typu a obezity. Vyvolávajú výraz-

né zlepšenie glykemickej kontroly a úbytku hmotnosti v kombinácii s kardioprotekciou u jedincov s rizikom alebo už existujúcim kardiovaskulárnym ochorením (Harris, McCarty, 2015). Vykazujú zlepšenú účinnosť a zároveň si zachovávajú bezpečnosť pri liečbe cukrovky, obezity, nealkoholickej steatohepatitídy a súvisiacich kardiometabolických ochorení. Agonisty receptora GLP-1, buď samotné alebo v rôznych kombináciách, sú také silné, že liečba umožňuje viac ako 2/3 pacientov s cukrovkou 2. typu dosiahnuť glykemické ciele. Okrem toho podporujú úpravu hmotnosti, ktorá môže presiahnuť až 10 % z celkovej telesnej hmotnosti (Holst, 2019). Po zmenách v nastavenej terapii došlo k celkovému zlepšeniu metabolickej kompenzácie. Ďalší benefit je aj zníženie kardiovaskulárneho rizika a úprava hmotnosti pacienta.

Kazuistika 4

V kazuistike opisujeme pacienta s arteriálnou hypertenziou, hyperlipoproteinémiou a obezitou. Je to príkladná ukážka pacienta s predispozíciou na *DM* typu 2. Metformín zlepšuje metabolizmus glukózy a lipidov. Znižuje telesnú hmotnosť a vykazuje primerané zníženie triglyceridov a sérového LDL cholesterolu. Znižuje riziko úmrtia a KVS komplikácií pri dávke 2 – 3g denne (Lin a kol., 2018). Na začiatku liečby je účinok liečby metformínom nedostatočný, preto sa liečba pacienta doplní o analóg GLP-1 dulaglutid. Agonisty GLP-1 receptora účinkujú prostredníctvom priamej stimulácie GLP-1 receptorov. Fyziologicky sa podieľajú na stimulácii sekrécie inzulínu, supresii sekrécie glukagónu, spomalení vyprázdňovania žalúdka a na navodení pocitu sýtosti (Holst, 2019). Odporúčajú sa ako prídavná liečba pacientov, ktorí po 3 mesiacoch liečby metformínom nedosiahnu požadovanú hranicu HbA1C (Harris, McCarty, 2015). Táto kombinácia je vhodnou voľbou pre obéznych pacientov, u ktorých sa nevyskytli nežiaduce účinky gastrointestinálneho traktu. Pre svoju bezpečnosť sú vhodné aj u pacientov s kardiovaskulárnym ochorením.

Kazuistika 5

Znižovanie glykémie je zabezpečené liečivami, ktoré je vhodné vzájomne kombinovať. Metformín je jedným z najpopulárnejších perorálnych liečiv na zníženie hladiny glukózy, ktorý sa všeobecne považuje za optimálnu počiatočnú liečbu pre pacientov s *diabetes mellitus* 2. typu (Lin a kol., 2018). Jeho obľúbené postavenie spočíva v jeho účinnosti, nízkej cene, váhovej neutralite a dobrom bezpečnostnom profile. Boli opísané aj ďalšie prínosy, vrátane zlepšenia krvných lipidov, zápalových markerov a zníženia kardiovaskulárnych príhod, zjavne nezávisle od účinku liečiva na zníženie glukózy (Sanchez--Rangel, Inzucchi, 2017). Gliklazid zvyšuje sekréciu inzulínu len s minimálnym rizikom hypoglykémie a zvýšenia hmotnosti (Kalra a kol., 2018). Metformín naopak znižuje chuť k jedlu a tiež aj kardiovaskulárne komplikácie u obéznych diabetikov. Zvyšuje sekréciu GLP-1 a spolu s analógmi GLP-1 predstavujú bezpečnú kombináciu z hľadiska hypoglykémie (Harris, McCarty, 2015). Metformín, sulfonylurea s analógom GLP-1 je vhodná aj u pacientov s rizikom cievnej mozgovej príhody alebo po jej prekonaní, prítomných nefropatiách či s periférnym arteriálnym ochorením.

Kazuistika 6

Vzhľadom na zdravotný stav pacienta s prítomnou hepatopatiou a bronchiálnou astmou sa odporúčaná terapia musela upraviť. Metformín zhoršuje funkciu pečene, a preto bol z terapie vynechaný (Lin a kol., 2018). Odporúčanou alternatívou pri kontraindikáciách alebo intoleranciách metformínu predstavujú liečivá zo skupiny sulfonylurey. Gliklazid stimuluje sekréciu inzulínu a ako jediný z tejto skupiny nespôsobuje výrazné riziko kardiovaskulárnych príhod, hypoglykémií a zvýšenie hmotnosti (Kalra a kol., 2018). Po zmene v liečbe so zaradením kombinovaného prípravku degludek/liraglutid došlo k celkovému zlepšeniu metabolickej kompenzácie, zníženiu dávky inzulínu, udržaní hmotnosti a úprave lipidogramu. Subkutánne podanie inzulínu degludek/liraglutid raz denne ako prídavná liečba k perorálnym antidiabetikám bola účinná

a vo všeobecnosti dobre tolerovaná u dospelých s nedostatočne kontrolovaným diabetom 2. typu (Yu a kol., 2018). Kombinovaná terapia s bazálnym a prandiálnym inzulínom alebo zintenzívnenie hypoglykemickej liečby predzmiešanými inzulínmi má prvoradý význam pri efektívnom zvládaní diabetu, pričom napodobňuje prirodzenú sekréciu inzulínu (Sharma a kol., 2019).

Kazuistika 7

Nesprávna klasifikácia *DM* môže viesť k zásadným omylom pri výbere zvolenej liečby, napríklad nevhodné použitie PAD namiesto inzulínu u pacientov s latentným autoimunitným *DM* (LADA) (Harreiter, Roden, 2019). Nastavenie liečby, tak aby napodobňovala fyziologickú sekréciu inzulínu, by mala viesť k zlepšeniu metabolických parametrov. Liečba pomocou prandiálneho a strednedobo pôsobiaceho inzulínu bola nedostatočná, aj naďalej pretrvávali vysoké hodnoty glukózy a HbA1c, dokonca došlo k vzniku vážnej hypoglykémie. U väčšiny pacientov sa to dosiahne intenzifikovaným inzulínovým režimom pozostávajúcim z dlhodobo pôsobiaceho bazálneho inzulínu, podávaného raz alebo dvakrát denne a krátkodobo pôsobiaceho inzulínu s jedlom aspoň trikrát denne (Pedersen-Bjergaard, Fabricius, Thorsteinsson, 2021). Aj počas intenzifikovaného inzulínového režimu stále pretrvávala nedostatočná kompenzácia. Úprava parametrov nastala až po liečbe inzulínovou pumpou, kde bol nasadený inzulínový analóg Lispro a neskôr Aspart. Nežiaducim účinkom je prírastok na hmotnosti, riziko hypoglykémie, retencia sodíka a tekutín (Vaag, Lund, 2012). Cieľom liečby je zabránenie rozvoja akútnych komplikácií a prevencia vzniku chronických (Papatheodorou a kol., 2018).

Kazuistika 8

Metformín je najčastejšie predpisované antidiabetikum, či už ako monoterapia, alebo je možné ho kombinovať aj s inými perorálnymi a parenterálnymi antidiabetikami. Znižuje telesnú hmotnosť a vykazuje primerané zníženie triglyceridov a sérového LDL cholesterolu. Znižuje riziko úmrtia a KVS komplikácií (Lin a kol., 2018). Počas liečby pacienta semaglutidom a metformínom došlo k zlepšeniu metabolickej kompenzácie s dosiahnutím cieľových hodnôt HbA1c, hmotnosti pacienta a k úprave krvného tlaku. Analógy GLP-1 receptorov sú liečivá s preukázanou účinnosťou a bezpečnosťou. Majú dokázateľný účinok k poklesu telesnej hmotnosti a poklesu krvného tlaku. Zlepšujú profil krvných lipidov, hladiny markerov chronického subklinického zápalu a iných biomarkerov KVS-rizika (Gallwitz, 2019). Agonisty GLP-1 receptora sa odporúčajú ako liečba prvej línie alebo aj ako alternatíva k metformínu u pacientov, ktorí netolerujú liečbu alebo sa preukáže kontraindikácia na liečbu metformínom. GLP-1 agonisty sú vhodné na skoré použitie pri T2*DM*, pretože stimulujú uvoľňovanie inzulínu a potláčajú sekréciu glukagónu, a to len vtedy, keď hladina glukózy v krvi je zvýšená, čím sa udržuje nízke riziko hypoglykémie (Holst, 2019).

Kazuistika 9

U pacienta sa prejavil nežiaduci účinok derivátov sulfonylurey, a to zvýšené riziko hypoglykémie. Tento nežiaduci účinok je pre túto skupinu liekov charakteristický, preto pri výskyte je nutné zvážiť prínos pred rizikom (Sola a kol., 2015). Jedine gliklazid ako jediný z tejto skupiny nezvyšuje riziko hypoglykémie (Kalra a kol., 2018). Pri zvýšenej fyzickej aktivite alebo pri obmedzení príjmu potravy je nutné dávku sulfonylurey upraviť, prípadne ju úplne vynechať. Dlhodobé užívanie môže viesť k poklesu endogénnej sekrécie inzulínu. Na rozdiel od sekretagógov inzulínu, meftormín neovplyvňuje priamo sekréciu inzulínu (Lin a kol., 2018). Účinok biguanidov spočíva v tom, že zvyšujú senzitivitu periférnych tkanív na inzulín, znižujú vstrebávanie glukózy z čreva a aj množstvo vytvorenej glukózy pečeňou. Biguanidy redukujú vylučovanie glukózy v pečeni znížením glukoneogenézy a stimuláciou glykolýzy (García Rubiño a kol., 2019). Pre prítomnosť chronických komplikácií sa pacientovi do liečby pridala kyselina tioktová a multivitamínový prípravok vitamínov skupiny B na zmiernenie bolesti a symptómov (Cole, Florez, 2020).

Kazuistika 10

Zníženie metabolických parametrov je docielené nielen účinnosťou vybraných liečiv, ale aj dodržiavaním režimových opatrení. Nastavená terapia síce znížila hodnotu glukózy a HbA1c, ale hodnoty naďalej ostali vysoké. Hlavné konvenčné triedy liekov na liečbu hyperglykémie vykazujú rozdielnu biologickú dostupnosť a krátky polčas rozpadu, čo si vyžaduje časté dávkovanie a spôsobuje vedľajšie účinky (Chaudhury a kol., 2017). Empagliflozín, inhibítor SGLT-2, eliminuje riziko nežiaducich kardiovaskulárnych príhod u pacientov s *DM*T2. Benefit tejto skupiny je okrem kontroly glykémie aj redukcia zvýšenej telesnej hmotnosti (Hsia, Grove, Cefalu, 2017). Na liečbu nedostatočne kontrolovaného *DM*T2 je odporúčaná liečba kombinovaným prípravkom degludek/liraglutid raz denne ako prídavná liečba k perorálnym antidiabetikám. Táto terapia je dostatočne účinná a vo všeobecnosti dobre tolerovaná. Subkutánne podávanie inzulínu degludek/liraglutid raz denne je teda užitočnou možnosťou prídavnej liečby pre dospelých pacientov s nedostatočne kontrolovaným diabetom 2. typu. Prídavný inzulín degludek/liraglutid bol významne účinnejší, pokiaľ ide o zlepšenie hladín HbA1c, ako prebiehajúca liečba inzulínom glargín a bol spojený s nižšou incidenciou potvrdenej hypoglykémie (Yu a kol., 2018). Dlhodobé porušenie režimových opatrení spôsobilo, aj napriek účinnej terapie, nedostatočnú metabolickú kompenzáciu. Pacient si je vedomý, že k zhoršeniu došlo v dôsledku porušenia režimových opatrení a nechce meniť liečbu, cíti sa dobre. Pri nezlepšení sa zvažujú 2 varianty terapie: buď prechod na intenzifikovaný inzulínový režim v kombinácii s metformínom alebo vysadenie sulfonylurey prechodom kombinácie metformín/inhibítor SGLT-2 a kombinovaný inzulín glargín s GLP 1 analógom lixisenatid.

ZÁVER

Diabetes mellitus je skupina metabolických ochorení, pri ktorých dochádza k narušeniu látkovej premeny sacharidov, tukov a bielkovín. Definícia, ktorá najlepšie vystihuje toto ochorenie je súbor príznakov, ktoré vznikajú na základe absolútneho nedostatku inzulínu, poruchou sekrécie inzulínu, zníženou citlivosťou tkanív na inzulín, zníženou sekréciou inkretínu v čreve alebo aj narušením endokrinných funkcií. S narastajúcim počtom pacientov s *DM* narastá aj počet orgánových komplikácií, ktoré zvyšujú morbiditu a mortalitu diabetickej populácie.

V praktickej časti opisujeme 10 pacientov, ktorým bol diagnostikovaný *DM*. Vo väčšine sa jednalo o novovzniknuté ochorenie. Pacienti sú na začiatku edukovaní o stravovacích opatreniach a tiež o pohybovej aktivite. Pri výbere liečby sa preto zohľadňuje najmä prítomnosť kardiovaskulárnych ochorení, poškodenie obličiek, vek, trvanie diabetu, schopnosť, vôľa pacienta spolupracovať, predošlá liečba a výskyt nežiaducich účinkov.

V kazuistike 1 opisujeme pacientku, ktorej bol diagnostikovaný *DM*T2. Účinnosť empagliflozínu v kombinovanej liečbe spolu s metformínom a gliklazidom zlepšilo metabolickú kompenzáciu a dosiahnutie cieľových hodnôt glukózy, HbA1c, zníženie hmotnosti a krvného tlaku. Výrazný je aj kardiovaskulárny a nefroprotektívny benefit empagliflozínu.

V kazuistike 2 opisujeme pacienta, ktorému bol diagnostikovaný *DM*T2. Kombinovaná liečba kanagliflozín/metformínu a gliklazidu zlepšila metabolickú kompenzáciu a dosiahnutie cieľových hodnôt glukózy a HbA1c. No aj napriek tomu sa u pacienta vyskytli mikrovaskulárne komplikácie diabetu, symetrická distálna polyneuropatia, pre ktorú pacientovi boli do liečby pridávané vitamíny skupiny B parenterálne na zmiernenie bolesti a symptómov.

Kazuistiku 3 predstavuje pacient s typickými príznakmi *DM* ako chudnutie, slabosť a potenie hornej polovice tela. Účinnosť kombinovanej liečby bola zabezpečená pomocou viacerých farmakologických skupín. Najvýraznejší účinok nastal po podaní kombinovaného prípravku inzulínu deglutek/liraglutidu.

V kazuistike 4 opisujeme pacienta po náhodne nameranej hyperglykémii počas preventívnej prehliadky. Nakoľko sa jednalo o *DM*T2, liečba pozostávala z metformínu navýšeného do plnej terapeutickej dávky

a GLP-1 analógu dulaglutidu. Pre zvýšenú hyperlipoproteinémiu sa do liečby pridala aj dvojkombinácia statín/fibrát. Kombinovaná liečba zlepšila metabolickú kompenzáciu, hodnotu glukózy a HbA1c. Významný je aj kardiovaskulárny a nefroprotektívny prínos dulaglutidu.

V kazuistike 5 opisujeme pacientku, ktorej bol diagnostikovaný *DM*T2 s príznakmi hyperglykémie ako smäd, časté močenie a slabší zrak. Liečba pozostávala z metformínu v XR forme 1000 mg, gliklazidu a GLP-1 analógu dulaglutidu. Po nasadení terapie došlo k zlepšeniu metabolickej kompenzácie, k dosiahnutiu cieľových hodnôt HbA1c a k zníženiu hmotnosti.

V kazuistike 6 opisujeme pacienta s poškodením pečene a s respiračným zápalovým ochorením. Terapia sa začína monoterapiou. Kvôli kontraindikácii metformínu sa aplikuje do iniciálnej liečby sulfonylurea. Kvôli nedostatočnej kompenzácii bol nasadený kombinovaný prípravok inzulín/analóg GLP-1, ktorý zlepšil metabolickú kompenzáciu, dosiahli sa cieľové hodnoty HbA1c a došlo k zníženiu hmotnosti a krvného tlaku.

Kazuistiku 7 predstavuje pacient s ojedinelou variantnou *DM* typu LADA. Dosiahnutie cieľových hodnôt metabolických parametrov u pacienta bolo zabezpečené pomocou inzulínovej pumpy a v liečbe analóg Aspart. Kvôli dlhodobo zvýšenej hodnote glukózy a HbA1c neurologické vyšetrenie potvrdilo mikrovaskulárne komplikácie v zmysle diabetickej polyneuropatie.

V kazuistike 8 opisujeme pacienta, ktorému bol diagnostikovaný *DM*T2. Terapia sa začína monoterapiou. Iniciálnym liekom je metformín. Pre novodiagnostikovanú arteriálnu hypertenziu bol do liečby pridaný liek zo skupiny ACE inhibítorov: perindopril. Pacientovi bol do liečby aplikovaný GLP-1 analóg semaglutid, kvôli zhoršenej konpenzácii diabetu.

Kazuistiku 9 predstavuje pacient, ktorému bol diagnostikovaný *DM*T2 s výskytom častých hypoglykemických príhod. Nežiaduci účinok nastal po podaní derivátu sulfonylurey: glimepirid. Tento nežiaduci účinok je pre túto skupinu liekov charakteristický. Neurologické vyšetrenie však potvrdilo polyneuropatiu, preto bola do liečby doporučená polyvitamínová liečba vitamínmi skupiny B a kyselina tioktová.

V kazuistike 10 opisujeme pacienta, ktorému bol diagnostikovaný *DM*T2 po cievnej mozgovej príhode. Komplexný účinok viaczložkovej terapie u pacienta zlepšil metabolickú kompenzáciu, ale dosiahnutie cieľových hodnôt HbA1c a glukózy bolo nedostatočné. Výber liečby je vždy individuálne na rozhodnutí lekára, ktorý musí zohľadňovať indikácie, kontraindikácie, nežiaduce účinky a potenciálne riziká u pacienta. Dôležité pre dostatočnú kompenzáciu metabolických parametrov je dodržiavanie režimových a pohybových opatrení.

POĎAKOVANIE

Veľké poďakovanie patrí PharmDr. Petrovi Takáčovi, PhD. za ústretovosť a odbornú pomoc a MUDr. Hroncovej Silvii z diabetologickej ambulancie v Detve za poskytnutie kazuistík.

ZOZNAM LITERATÚRY

Cole, J. B., Florez, J. C.: Genetics of *diabetes mellitus* and diabetes complications. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2020, 16 (7), 377 – 390.

Daryabor, G., Atashzar, M. R., Kabelitz, D., Meri, S., Kalantar, K.: The effects of type 2 *diabetes mellitus* on organ metabolism and the immune system. *Front. Immunol.*, 2020, 11, 1582.

Gallwitz, B.: Clinical Use of DPP-4 Inhibitors. *Front. Endocrinol. (Lausanne),* 2019, 10, 389.

García Rubino, M. E., Carrillo, E., Ruiz Alcalá, G., Domínguez-Martín, A., Marchal, J. A., Boulaiz, H.: Phenformin as an anticancer agent: challenges and prospects. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20 (13), 3316.

Harreite, J., Roden, M.: *Diabetes mellitus* – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention [*Diabetes mellitus* – definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2019)]. *Wien. Klin. Wochenschr.*, 2019, 131 (1), 6 –

15.

Harris, K. B., McCarty, D. J.: Efficacy and tolerability of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in patients with type 2 *diabetes mellitus*. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.*, 2015, 6 (1), 3 – 18.

Henríquez-Tejo, R., Cartes-Velásquez, R.: Impacto psicosocial de la *diabetes mellitus* tipo 1 en niños, adolescentes y sus familias. Revisión de la literatura [Psychosocial impact of type 1 *diabetes mellitus* in children, adolescents and their families. Literature review]. *Rev. Chil. Pediatr*., 2018, 89 (3), 391 – 398.

Holst, J. J.: From the incretin concept and the discovery of GLP-1 to today's diabetes therapy. *Front. Endocrinol. (Lausanne*), 2019, 10, 260.

Holst, J. J.: Which to choose, an oral or an injectable glucagon-like peptide-1 receptor agonist? *Lancet*, 2019, 394 (10 192), 4 – 6.

Hsia, D. S., Grove, O., Cefalu, W. T.: An update on sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors for the treatment of *diabetes mellitus*. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes*., 2017, 24 (1), 73 – 79.

Chaudhury, A., Duvoor, Ch., Reddy Dendi, V. S., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., Marco, A., Singh Shekhawat, N., Montales, M. T., Kuriakose, K., Sasapu, A., Beebe, A., Patil, N., Musham, Ch. K., Lohani, G. P., Mirza, W.: Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 *diabetes mellitus* management. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2017, 8, 6.

Karla, S., Bahendeka, S., Sahay, R., Ghosh, S., Md, F., Orabi, A., Ramaiya, K., Al Shammari, S., Shrestha, D., Shaikh, K., Abhayaratna, S., Shrestha, P. K., Mahalingam, A., Askheta, M., Rahim, A. A. A., Eliana, F., Shrestha, H. K., Chaudhary, S., Ngugi, N., Mbanya, J. C., Aye, T. T., Latt, T. S., Akanov, Z. A., Syed, A. R., Tandon, N., Unnikrishnan, A. G., Madhu, S. V., Jawa, A., Chowdhury, S., Bajaj, S., Das, A. K.: Consensus recommendations on sulfonylurea and sulfonylurea combinations in the management of type 2 *diabetes mellitus* – International Task Force. *Indian J. Endocrinol. Metab.*, 2018, 22 (1), 132 – 157.

Lin, S. H., Cheng, Ch. P., Tu, S. T., Hsu, S. R., Cheng, Y. Ch., Liu, Y. H.: Effect of metformin monotherapy on serum lipid profile in statin-naïve individuals with newly diagnosed type 2 *diabetes mellitus*: a cohort study. *PeerJ*., 2018, 12 (6), e4578.

Lofty, M., Adeghate, J., Kalasz, H., Singh, J., Adeghate, E.: Chronic complications of *diabetes mellitus*: a mini review. *Curr. Diabetes Rev.*, 2017, 13 (1), 3 – 10.

Padhi, S., Nayak, A. K., Behera, A.: Type II *diabetes mellitus*: a review on recent drug based therapeutics. *Biomed. Pharmacother*., 2020, 131, 110 708.

Papatheodorou, K., Banach, M., Bekiari, E., Rizzo, M., Edmonds, M.: Complications of diabetes 2017. *J. Diabetes Res.*, 2018.

Pedersen-Bjergaard, U., Fabricius, T. W., Thorsteinsson, B.: Synthetic long-acting insulin analogs for the management of type 1 diabetes: an update. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2021, 22 (16), 2251 – 2259.

Sanchez-Rangel, E., Inzucchi. S. E.: Metformin: clinical use in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2017, 60 (9), 1586 – 1593.

Sharma, A. K., Taneja, G., Kumar, A., Sahu, M., Sharma, G., Kumar, A., Sardana, S., Deep, A.: Insulin analogs: glimpse on contemporary facts and future prospective. *Life Sci*., 2019, 219, 90 – 99.

Scheen, A. J.: Pharmacodynamics, efficacy and safety of sodium-glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors for the treatment of type 2 *diabetes mellitus*. *Drugs*, 2015, 75 (1), 33 – 59.

Sola, D., Rossi, L., Carnevale Schianca, J. P., Maffioli, P., Bigliocca, M., Mella, R., Corlianò, F., Fra, G. P., Bartoli, E., Derosa, G.: Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Arch. Med. Sci.*, 2015, 11 (4), 840 – 848.

Tentolouris, A., Vlachakis, P., Tzeravini, E., Eleftheriadou, I., Tentolouris, N.: SGLT2 inhibitors: a review of their antidiabetic and cardioprotective effects. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2019, 16 (16), 2965.

Vaag, A., Lund, S. S.: Insulin initiation in patients with type 2 *diabetes mellitus*: treatment gui-

delines, clinical evidence and patterns of use of basal vs premixed insulin analogues. *Eur. J. Endocrinol*., 2012, 166 (2), 159 – 170.

Yu, M., Benjamin, M. M., Srinivasan, S., Morin, E. E., Shishatskaya, E. I., Schwendeman, S. P., Schwendeman, A.: Battle of GLP-1 delivery technologies. *Adv. Drug Deliv. Rev*., 2018, 130, 113 – 130.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 96 – 101, 2023

DYSLIPOPROTEINÉMIA A JEJ FARMAKOTERAPIA V SÚČASNOSTI

DYSLIPOPROTEINEMIA AND ITS PHARMACOTHERAPY IN THE PRESENT

Koľová, Martina[1]; Piešová, Elena[2]

[1]Lekáreň Gália, Jurkovičova 18, 080 01 Prešov
[2]Katedra biológie a fyziológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

elena.piesova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Dyslipoproteinémia patrí medzi kľúčové rizikové faktory vzniku kardiovaskulárnych ochorení. V manažmente ochorenia je rovnako dôležitá farmakologická ako aj nefarmakologická terapia. Vo farmakologickej terapii je v súčasnosti k dispozícii šesť skupín látok s hypolipidemickým účinkom. Okrem týchto skupín látok je k dispozícií prírodná alternatíva Arterin®, ktorá obsahuje červenú fermentovanú ryžu s 10 mg monakolínu K. Cieľom štúdie bolo zhodnotiť vplyv prírodnej alternatívy Arterin® na lipidové spektrum. Po roku liečby sme zaznamenali v súbore pacientov štatisticky významný pokles TC (– 23,5 %); LDL-C (– 25,31 %) a TAG (– 24,74 %). Zvýšenie hladín HDL-C sme zaznamenali u 5 z 11 pacientov v súbore. Porovnaním výsledkov po liečbe Arterinom® s výsledkami liečby atorvastatínom v sile 20 mg sme medzi súbormi pacientov nezaznamenali štatisticky významný rozdiel.

Kľúčové slová: atorvastatín; dyslipoproteinémia; lipidový profil; monakolín K

ABSTRACT

Dyslipoproteinemia is one of the key risk factors for the development of cardiovascular diseases. Pharmacological as well as non-pharmacological therapy is equally important in the management of the disease. Six groups of substances with a hypolipidemic effect are currently available in pharmacological therapy. In addition to these groups of substances, the natural alternative Arterin® is available, containing red fermented rice with 10 mg of monacolin K. The aim of the study was to evaluate the effect of the natural alternative Ar-

terin® on the lipid spectrum. After one year of the treatment, we observed a statistically significant decrease in TC (– 23.5 %), LDL-C (– 25.31 %) and TAG (– 24.74 %) in the group of patients. We noted an increase in HDL-C levels in 5 out of 11 patients in the group. By comparing the results after treatment with Arterin® with the results of treatment with atorvastatin in the strength of 20 mg, we did not notice a statistically significant difference between the groups of patients.

Key words: atorvastatin; dyslipoproteinemia; lipid profile; monacolin K

ÚVOD

Dyslipoproteinémia je multifaktoriálne ochorenie, ktoré patrí medzi najdôležitejšie rizikové faktory vzniku aterosklerózy, kardiovaskulárnych a cerebrovaskulárnych ochorení. Dyslipidémia krvnej plazmy zahŕňa zvýšený: celkový cholesterol (TC), cholesterol lipoproteínov s nízkou hustotou (LDL-C) a triacylglyceroly (TAG), ako aj znížený cholesterol lipoproteínov s vysokou hustotou (HDL-C) (Tietge, 2014).

Hlavným cieľom liečby dyslipoproteinémie je zníženie rizika klinickej manifestácie kardiovaskulárnych ochorení dosiahnutím cieľových hodnôt lipidov. Vo farmakologickej liečbe dyslipoproteinémií sa v súčasnosti používa šesť skupín látok upravujúcich hladiny lipidov, medzi ktoré patria: statíny, sekvestranty žlčových kyselín, fibráty, niacín, inhibítory absorpcie cholesterolu a proproteín konvertáza subtilizín/inhibítory kexínu typu 9 (PCSK9) (Ahmed, 2020). V súčasnosti statíny patria k najpoužívanejšej skupine liečiv. Najčastejšie predpisovaným statínom na Slovensku je atorvastatín v dávke 20 mg. Mechanizmus účinku statínov spočíva v inhibícii enzýmu 3-hydroxy-3 metylglutaryl-koenzýmu A reduktázy (HMG-CoA-reduktázy), a teda v znížení intracelulárnej syntézy cholesterolu. V klinických štúdiách bol jednoznačne preukázaný benefit statínov, pričom sa zistilo, že každé zníženie LDL-C o 1 $mmol.l^{-1}$ viedlo k poklesu výskytu kardiovaskulárnych príhod o 22 % (Baigent a kol., 2010).

Veľký počet klinických štúdií ukázal vysokú účinnosť statínov pri znižovaní hladín LDL-C a rizika kardiovaskulárnych príhod (Catapano a kol., 2016). Napriek vysokej účinnosti statínov sú ich nežiaduce účinky (postihnutie svalstva – myopatie, myalgie, myozitídy a rabdomyolýza, poškodenie pečene, zvýšenie hladín transamináz) hlavným dôvodom intolerancie statínov a zlej compliance pacientov s liečbou (Bruckert a kol., 2005). Dyslipidémiu je možné okrem využitia farmakoterapie ovplyvniť aj zmenami stravovacích návykov a životného štýlu. Pre pacientov, ktorí nie sú ochotní užívať statíny a/alebo iné lieky na zníženie hladiny lipidov, aj keď sú jasne indikované a odporúčané ich lekármi, sa rozumnou alternatívou zdajú byť potravinové doplnky a funkčné potraviny. Výživový doplnok Arterin® (Essere Pharma SrL, Taliansko) je produktom fermentácie kvasinky (*Monascus purpureus)*, ktorá rastie na ryži a produkuje trinásť rôznych monakolínov, z ktorých je najvýznamnejší monakolín K (prírodný sterol, ktorý inhibuje HMG-CoA reduktázu), tiež známy ako lovastatín (Lin a kol., 2008). V roku 2011 Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA) vydal vedecké stanovisko k odôvodneniu zdravotného tvrdenia týkajúceho sa monakolínu K z červenej fermentovanej ryže a udržania normálnej hladiny LDL cholesterolu v krvi. Úrad dospel k záveru, že bola preukázaná príčinná súvislosť medzi konzumáciou monakolínu K z červenej fermentovanej ryže v dennej dávke 10 mg a udržaním normálnej hladiny LDL cholesterolu v krvi (EFSA, 2011). V súčasnosti dostupný výživový doplnok Arterin® (Essere Pharma SrL, Taliansko) obsahuje 335 mg mletej sušenej červenej fermentovanej ryže, z toho 10 mg monakolínu K (Souček, 2016).

Cieľom našej štúdie bolo zistiť efekt podávaného výživového doplnku Arterin® na lipidový profil pacientov s diagnostikovanou dyslipoproteinémiou počas jedného roka a porovnať efektívnosť liečby monakolínom K a atorvastatínom v dávke 20 mg.

Tab. 1: Sledovaný súbor pacientov

Pacient	Pohlavie	Rok narodenia	Liečba dyslipidémie	Pridružené ochorenia
P1	žena	1960	Arterin®	hypertenzia, bronchiálna astma
P2	muž	1942	Arterin®	hypertenzia, *diabetes mellitus* 2. typu
P3	žena	1956	Arterin®	hypertenzia
P4	muž	1976	Arterin®	žiadne
P5	muž	1965	Arterin®	hypertenzia
P6	žena	1937	Arterin®	hypertenzia
P7	muž	1958	Arterin®	hypertenzia, *diabetes mellitus* 2. typu
P8	žena	1960	Arterin®	žiadne
P9	žena	1978	Arterin®	žiadne
P10	muž	1966	Arterin®	hypotyreóza
P11	žena	1965	Arterin®	hypertenzia
P12	žena	1939	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia, *diabetes mellitus* 2. typu
P13	žena	1946	Atorvastatín 20 mg	hypotyreóza
P14	muž	1936	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia
P15	muž	1931	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia, hypotyreóza
P16	žena	1958	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia, hypotyreóza
P17	žena	1943	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia, *diabetes mellitus* 2. typu
P18	žena	1938	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia, hypotyreóza
P19	žena	1937	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia
P20	žena	1939	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia
P21	žena	1932	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia, glaukóm
P22	žena	1962	Atorvastatín 20 mg	hypertenzia, hypotyreóza

MATERIÁL A METÓDY

Účinnosť červenej kvasnicovej ryže s obsahom 10 mg monakolínu K (výživový doplnok Arterin®) sme hodnotili retrospektívnou analýzou zmien lipidového spektra pacientov po roku liečby. Výsledky sme následne porovnali s výsledkami pacientov liečených atorvastatínom v dávke 20 mg.

Celý sledovaný súbor (viď tab. 1) tvorilo 22 pacientov, z toho 15 žien a 7 mužov. Vekový rozsah bol od 44 do 91 rokov. Pacienti boli okrem dyslipoproteinémie najčastejšie liečení na hypertenziu alebo kombináciu hypertenzie s *DM*2 alebo s hypotyreózou.

Pacienti boli rozdelení do 2 skupín podľa naordinovanej liečby dyslipoproteinémie: buď užívali atorvastatín 20 mg alebo výživový doplnok Arterin®. V tabuľke 1 je uvedené pohlavie, rok narodenia, indikovaná liečba a pridružené ochorenia u všetkých 22 sledovaných pacientov.

Výsledky lipidového spektra sme získali z chorobopisov z ambulancie všeobecného lekára. Výsledky sme spracovali pomocou programu Microsoft Excel a štatisticky vyhodnotili pomocou Studentovho t-testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zhodnotenie účinnosti Arterinu®

Prvú skupinu tvorilo 11 pacientov (P1 – P11), ktorí užívali výživový doplnok Arterin® s obsahom 10 mg monakolínu K. Skupinu tvorilo 6 žien a 5 mužov a

Tab. 2: Individuálne zmeny lipidového spektra pacientov užívajúcich Arterin® po roku liečby

	TC mmol.l^{-1}		LDL-C mmol.l^{-1}		HDL-C mmol.l^{-1}		TAG mmol.l^{-1}	
Pacient	t_0	t_1	t_0	t_1	t_0	t_1	t_0	t_1
P1	7,16	4,26	4,6	2,75	1,46	1,22	3,56	1,73
P2	6,12	5,46	3,52	2,41	0,94	1,15	4,42	3,86
P3	6,5	5,33	4,24	3	1,86	1,85	1,21	1,66
P4	8,38	6,2	4,89	4,5	1,05	1,2	3,83	2,29
P5	6,15	5,41	3,47	2,33	2,35	2,07	0,96	0,91
P6	6,99	4,48	4,77	2,54	1,55	1,6	2,72	1,08
P7	6,32	4,91	3,53	2,68	1,78	1,65	1,91	1,53
P8	7,02	5,52	4,07	3,52	1,94	2,01	2,03	1,78
P9	5,96	4,85	3,81	2,86	1,36	1,48	1,42	1,23
P10	6,74	4,96	4,05	3,52	1,23	1,1	4,14	3,5
P11	6,95	5,12	4,56	3,88	1,19	1,05	1,85	1,54
Priemer	**6,75**	**5,14**	**4,14**	**3,09**	**1,52**	**1,49**	**2,55**	**1,92**
SD	0,68	0,53	0,52	0,68	0,43	0,37	1,24	0,95
p	< 0,001		< 0,001		> 0,05		< 0,05	

t_0 – východisková hodnota, t_1 – hodnota po roku liečby, SD – smerodajná odchýlka,
p – hladina významnosti získaná Studentovým t-testom

Tab. 3: Individuálne zmeny lipidového spektra pacientov užívajúcich atorvastatín 20 mg po roku liečby

	TC mmol.l^{-1}		LDL-C mmol.l^{-1}		HDL-C mmol.l^{-1}		TAG mmol.l^{-1}	
Pacient	t_0	t_1	t_0	t_1	t_0	t_1	t_0	t_1
P12	5,65	4,96	4,11	3,68	0,89	1,08	2,36	2,04
P13	5,86	4,89	3,81	3,02	1,75	1,35	1,4	1,15
P14	3,82	3,61	2,42	2,64	1,04	1,05	1,53	0,97
P15	5,48	3,87	3,42	2,21	1,42	1,57	1,46	0,95
P16	6,3	3,81	4,46	2,42	1,42	1,32	2,04	1,47
P17	4,85	3,87	1,70	1,64	1,49	1,21	1,07	2,24
P18	6,08	4,16	2,15	1,87	1,01	1,47	4,32	2,12
P19	9,37	7,41	6,41	5,84	1,59	1,45	2,42	2,31
P20	7,42	5,02	5,47	3,28	1,09	1,25	1,92	0,87
P21	4,89	4,53	2,34	2,54	1,40	1,50	1,22	1,07
P22	6,64	5,8	6,12	4,89	1,65	1,84	3,36	2,50
Priemer	**6,03**	**4,72**	**3,86**	**3,09**	**1,34**	**1,37**	**2,10**	**1,60**
SD	1,47	1,12	1,64	1,28	0,29	0,23	0,99	0,64
p	< 0,001		< 0,05		> 0,05		> 0,05	

t_0 – východisková hodnota, t_1 – hodnota po 12 mesiacoch liečby, SD – smerodajná odchýlka,
p – hladina významnosti získaná Studentovým t-testom

priemerný vek bol 62 rokov. Východiskové hodnoty sérových lipidov a hodnoty po roku liečby sú uvedené v tabuľke 2.

Celkový cholesterol (TC) poklesol o 23,85 % (– 1,61 mmol.l^{-1}; p < 0,001). Okrem jedného pacienta (P4) dosiahli všetci ostatní pacienti hladiny pod cieľovú hodnotu TC (< 5 mmol.l^{-1}. Hladiny **LDL-C** poklesli o 25,36 % (– 1,05 mmol.l^{-1}; p < 0,001) a úspešnosť v dosiahnutí cieľovej hladiny bola 63,63 % (7 z 11 pacientov). Pri **HDL-C** sme nezaznamenali očakávaný výsledok, keďže u väčšiny (6 pacienti) sme zaznamenali pokles hladín HDL-C a iba u 5 pacientov vzostup oproti referenčnej hodnote. Celkovo poklesol HDL-C o 1,97 % (– 0,03 mmol.l^{-1}; p > 0,05). Hodnota **TAG** sa znížila o 24,71 % (– 0,63 mmol.l^{-1}; p < 0,05). Cieľovú hodnotu (< 1,7 mmol.l^{-1}) dosiahlo 6 z 11 pacientov. Zmeny TC, LDL-C a TAG sme vyhodnotili ako štatisticky významné, zatiaľ čo zmena HDL-C štatisticky významná nebola.

Okrem zmeny hladín TC, ktorá bola v našej štúdii o niečo vyššia, sa výsledky LDL-C a TAG zhodujú s klinickým testovaním od Mazza a kol. (2018), ktorí sledovali účinok monakolínu K v rovnakej dávke 10 mg a porovnávali ho s kontrolnou skupinou liečenou len diétou. Po mesiaci bolo v skupine s výživovým doplnkom s obsahom 10 mg monakolínu zníženie parametrov lipidového profilu medzi východiskovou a konečnou hodnotou väčšie ako v kontrolnej skupine (TC: – 18,32 %; TAG: – 24,51 %; LDL-C: – 23,88 %; všetky p < 0,001). Hladiny HDL-C zostali v oboch skupinách nezmenené. V našej štúdii nastali pri HDL-C tiež len veľmi malé zmeny.

Priemerný pokles LDL-C (– 1,05 mmol.l^{-1}) v našej štúdii sa zhodoval aj so zisteniami v metaanalýze 20 klinických štúdií na vyhodnotenie účinnosti a bezpečnosti monakolínu K, kde výsledky ukázali, že dávky od 1200 mg/deň do 4800 mg/deň (4,8 mg až 24 mg monakolínu K) znížili LDL-C v priemere o 1,02 mmol.l^{-1} (rozsah – 1,20 až – 0,83 mmol.l^{-1}) v porovnaní s placebom po 2 – 24 mesiacoch jeho užívania (Gerards a kol., 2015).

Porovnanie efektu Arterinu® a atorvastatín 20 mg na lipidové spektrum

Testovanú skupinu tvorilo 11 pacientov (P12 – P22), ktorí boli liečení atorvastatínom v dávke 20 mg. Skupinu tvorilo 9 žien a 2 muži. Priemerný vek bol 80 rokov.

V tabuľke 3 sú uvedené východiskové hodnoty lipidového spektra a hodnoty po 12 mesiacoch liečby.

Pri porovnaní zmien lipidového spektra medzi týmito 2 skupinami sme zistili, že **celkový cholesterol** poklesol v obidvoch skupinách približne rovnako (– 23,85 % vs. – 21,72 %; p = 0,28). Väčšina pacientov v oboch skupinách mala konečné hodnoty pod alebo tesne nad 5 mmol.l^{-1} (cieľová hodnota pre TC).

Pri **LDL-C** bol rozdiel výraznejší (– 25,36 % vs. – 19,95 %; p = 0,99). Pri Arterine® bol pokles o 5,41 % vyšší ako v skupine s atorvastatínom, ale východiskové hodnoty boli pri Arterine® vyššie.

Najväčší rozdiel sme pozorovali pri zmene **HDL-C**. V obidvoch skupinách boli zmeny HDL-C veľmi malé. Pri atorvastatíne sa hladiny HDL-C mierne zvýšili, v skupine s Arterinom® bol zaznamenaný celkový pokles (– 1,97 % vs. + 2,24; p = 0,39).

Hladiny **TAG** poklesli v oboch skupinách približne rovnako (– 24,71 % vs. – 23,81 %; p = 0,38). Cieľové hodnoty dosiahli 6 pacienti liečení Arterinom® a 4 pacienti liečení atorvastatínom.

V metaanalýze 20 klinických štúdií autorov Gerardsa a kol. (2015) bol monakolín K porovnávaný so statínmi. Podľa autorov bol výsledný efekt monakolínu K podobný účinkom 40 mg pravastatínu, 20 mg lovastatínu a 10 mg simvastatínu. Rovnako aj v našej štúdii sme nezaznamenali štatisticky signifikantný rozdiel medzi podávaným Arterinom® (10 mg monakolínu K) a 20 mg atorvastatínu.

ZÁVER

Účinná terapia dyslipoproteinémie je dôležitá v prevencii kardiovaskulárnych ochorení. Kvôli častej zlej complinace pacientov najmä s liečbou statínmi sa v terapii miernej až stredne závažnej dyslipoproteinémie čoraz častejšie využíva prírodná alternatíva Arte-

rin® s obsahom 10 mg monakolínu z červenej kvasnicovej ryže. Pri hodnotení vplyvu prírodnej alternatívy Arterinu® na lipidové spektrum po roku liečby sme zaznamenali v súbore pacientov štatisticky významný pokles TC, LDL-C a TAG. Zvýšenie hladín HDL-C sme zaznamenali u 5 z 11 pacientov v súbore a napriek celkovému priemernému poklesu HDL-C (– 1,97 %) dosiahli cieľové hladiny pre HDL-C 10 z 11 pacientov (90,9 %).

Porovnaním výsledkov lipidového spektra po aplikácii Arterinu® s výsledkami po aplikácii atorvastatínu v sile 20 mg sme medzi súbormi pacientov nezaznamenali štatisticky významný rozdiel. Zdá sa, že výživový doplnok Arterin® môže byť vhodnou alternatívou liečby pacientov, ktorí z nejakého dôvodu neznášajú statíny.

ZOZNAM LITERATÚRY

Ahmed, S. S.: Treating dyslipidemia in adults: An Update. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 2020, 32 (5), 114 – 135.

Baigent, C., Blackwell, L., Emberson, J., Holland, L. E., Reith, C., Bhala, N., Peto, R., Barnes, E. H., Keech, A., Simes, J., Collins, R., Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration: Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a metaanalysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*, 2010, 376 (9753), 1670 – 1681.

Bruckert, E., Hayem, G., Dejager, S., Yau, C., Begaud, B.: Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients the PRIMO study. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 2005, 19 (6), 403 – 414.

Catapano A. L., Graham, I., De Backer, G., Wiklund, O., Chapman, M. J., Drexel, H., Hoes, A. W., Jennings, C. S., Landmesser, U., Pedersen, T. R., Reiner, Ž., Riccardi, G., Taskinen, M. R., Tokgozoglu, L., Verschuren, W. M. M., Vlachopoulos, CH., Wood, D. A. Zamorano, J. L.: ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: the task force for the management of dyslipidaemias of the european society of cardiology (ESC) and european atherosclerosis society (EAS) developed with the special contribution of the european association for cardiovascular prevention & rehabilitation (EACPR). *European Heart Journal*, 2016, 37 (39), 2999 – 3058.

EFSA. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to monacolin K from red yeast rice and maintenance of normal blood LDL cholesterol concentrations (ID 1648, 1700) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 2011, 9, 2304.

Gerards, M. C., Terlou, R. J., Yu, H., Koks, C. H., Gerdes, V. E.: Traditional Chinese lipid-lowering agent red yeast rice results in significant LDL reduction but safety is uncertain – a systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*, 2015, 240 (2), 415 – 423.

Lin, Y. L., Wang, T. H., Lee, M. H., Su, N. W.: Biologically active components and nutraceuticals in the Monascus-fermented rice: a review. *Applied microbiology and biotechnology*, 2008, 77 (5), 965 – 973.

Mazza, A., Schiavon, L., Rigatelli, G., Torin, G., Montanaro, F., Lenti, S.: The short term supplementation of monacolin K improves the lipid and metabolic patterns of hypertensive and hypercholesterolemic subjects at low cardiovascular risk. *Food & function*, 2018, 9 (7), 3845 – 3852.

Souček, M.: Arterin® – doplněk stravy v léčbě dyslipidemie: výsledky krátkodobého klinického sledování [Arterin – a nutritional supplement in the treatment of dyslipidemia: results of a short-term clinical follow-up study]. *Athero Review*, 2016, 1 (3), 160 – 163.

Tietge, U. J.: Hyperlipidemia and cardiovascular disease: inflammation, dyslipidemia, and Atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, 2014, 25, 94 – 95.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, V., 1: 102 – 113, 2023

INTERVENCIA FARMACEUTA V LIEČBE DEPRESÍVNEJ PORUCHY (KAZUISTIKA)

PHARMACIST INTERVENTION IN THE TREATMENT OF DEPRESSIVE DISORDER (CASE STUDY)

Rozman Antoliková, Natália

Katedra farmakológie a toxikológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

natalia.antolikova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Podľa údajov WHO (Svetová zdravotnícka organizácia) z roku 2017 trpí celosvetovo depresiou viac ako 300 miliónov ľudí. Nakoľko túto afektívnu poruchu charakterizuje chronický, často sa opakujúci psychiatrický stav, je viac ako pochopiteľné, že je spojená s radom symptómov, ktoré sa medzi pacientmi líšia. Prevažne sa sledujú príznaky emocionálnej, kognitívnej, fyziologickej domény. Okrem uvedeného je depresia často spojená s chronickými chorobami alebo inými poruchami nálady, ako je úzkosť, čo môže spolu s rozdielnou príčinou patofyziológie ochorenia súvisieť so slabou odpoveďou na antidepresívnu liečbu. Predmetom štúdie je skúmanie liečby mladej medicínsky vzdelanej 33-ročnej ženy trpiacej recidivujúcou formou depresívnej poruchy založenej pravdepodobne na stresom indukovaných zmenách. Výnimočnosť prípadovej štúdie je v osobnej interakcii s pacientkou, reálna možnosť dispenzarizácie v kompetencii lekárnika/farmaceuta a v neposlednom rade aj kompliancia na strane pacientky, ktorá je neoddeliteľnou súčasťou úspešnej terapeutickej stratégie.

Kľúčové slová: afektívna porucha; antidepresíva; depresívna porucha; kompliancia; patofyziológia ochorenia

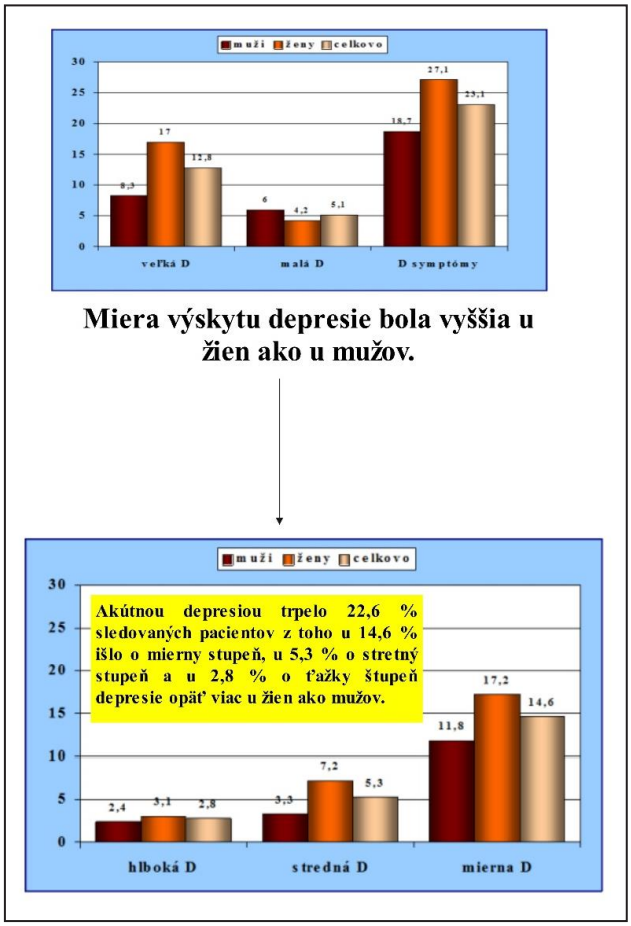
ABSTRACT

According to WHO (World Health Organization) data from 2017, more than 300 million people worldwide suffer from depression. Since this affective disorder is characterized by a chronic, often recurring psychiatric condition, it is more

than understandable that it is associated with a range of symptoms that vary between patients. Symptoms of the emotional, cognitive, and physiological domains are mainly observed. In addition, depression is often associated with chronic diseases or other mood disorders, such as anxiety, which, together with the different cause of the pathophysiology of the disease, may be related to a poor response to antidepressant treatment. The subject of the study is the investigation of the treatment of a young medically educated 33-year-old woman suffering from a recurrent form of depressive disorder, probably based on stress-induced changes. The exceptionality of the case study is in the personal interaction with the patient, the real possibility of dispensary in the competence of the pharmacist and, last but not least, compliance on the part of the patient, which is an integral part of a successful therapeutic strategy.

Key words: affective disorder; antidepressants; compliance; depressive disorder; pathophysiology of the disease

Obr. 1: Výsledok EPID štúdie na Slovensku



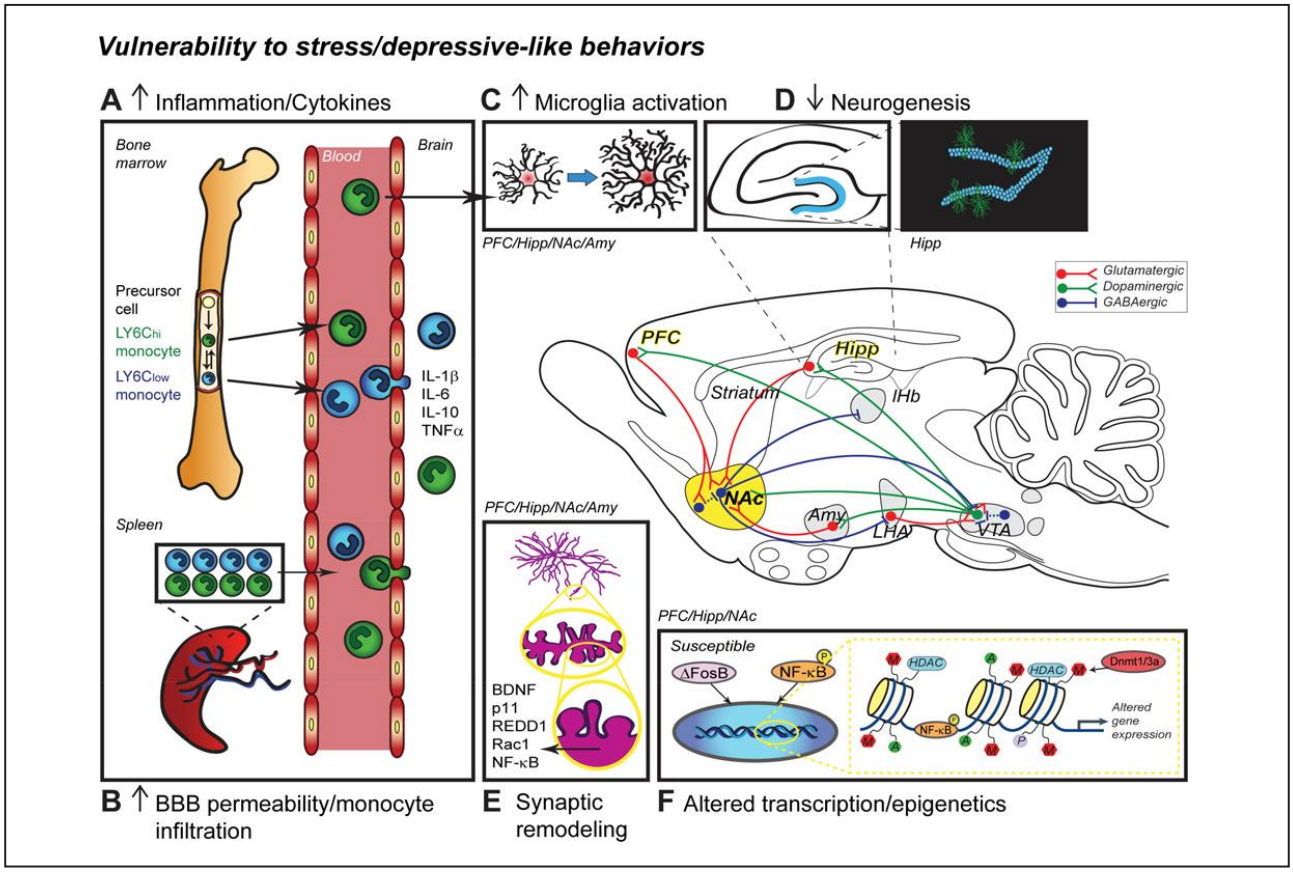
Zdroj: voľne upravené podľa Heretik a kol., 2013

ÚVOD

Depresiu považujeme na jednej strane za afektívnu poruchu, na druhej strane za psychické ochorenie, kde v popredí klinického obrazu stojí porucha nálady. Ide o jedno z najčastejších psychických ochorení, pričom jej výskyt bol sledovaný aj na Slovensku v štúdii EPID (Epidemiológia depresie na Slovensku) (viď obr. 1) (Heretik a kol., 2003). Ochorenie spôsobuje pacientovi mimoriadne psychické utrpenie, má opakujúcu sa tendenciu. Približne u 13 % pacientov bol zaznamenaný chronický výskyt (Králová a kol., 2020).

Depresívne poruchy často začínajú v mladom veku, pričom sa opakujú počas celého života. Medzi rizikové faktory patria rodinná anamnéza (približne 35 % rizika tvorí dedičnosť), obdobie vývoja a vývinu v ranom veku, ako aj ženské pohlavie (nástup puberty s pretrvávaním počas fertilného obdobia spojeného s kolísaním hladín estradiolu) a nedávne životné stresory (Ngasa a kol., 2017; Beurel a kol., 2020; Dudek a kol., 2021). Podľa odborných zistení je diagnóza depresie založená výlučne na symptómoch správania, pričom liečivá používané na ich ovplyvnenie nie sú špecifické pre základnú podstatu ochorenia. Tento fakt môže vysvetľovať slabú odpoveď na zvolenú terapiu (Ménard a kol., 2016). Zo štúdií totiž vyplýva, že hoci existuje veľa spôsobov liečby depresie, iba u 30 % pacientov po aplikácii súčasných antidepresív (prvej línie) ochorenie úplne ustúpi bez výskytu ďalšej epizódy. Okrem toho sa odhaduje, že približne 30 – 50 % pacientov nereaguje na žiadnu v súčasnosti schválenú terapiu, pričom sa uvažuje o tom, že súčasné možnosti liečby zamerané hlavne na neurónocentrické mechanizmy (popísané v obr. 2) nedokážu v plnom rozsahu riešiť dôležité biologické procesy zapo-

Obr. 2: Mechanizmy spojené s patogenézou depresívnej afektívnej poruchy



A) Zvýšenie hladín prozápalových cytokínov (IL; TNFα) v krvi depresívnych pacientov a zvieracích modelov naznačuje zvýšenú produkciu monocytov cez kostnú dreň alebo ich uvoľnenie zo slezinového rezervoáru.
B) Infiltrácia monocytov môže stimulovať aj zníženie permeability hematoencefalickej bariéry (BBB) s následným prejavom zápalu a zvýšenia aktivácie mikroglií.
C) Aktivácia mikroglií.
D) Znížená neurogenéza v hipokampe (HIPP).
E) Zmenená synaptická remodelácia vo viacerých štruktúrach vrátane prefrontálnej kôry (PFC), HIPP a nucleus accumbens (NAc). Zmeny boli hlásené aj v iných oblastiach mozgu, ako je amygdala (AMY) a ventrálna tegmentálna oblasť (VTA).
F) Vplyvy na úrovni neurotrofického faktora – brain-derived neurotrophic factor (BDNF), pričom downregulácia BDNF môže prispievať k atrofii neurónov.

Zdroj: Vavrušová, 2004; Ménard a kol., 2016

jené do patológie ochorenia (Dudek a kol., 2021).

Muži a ženy vykazujú rozdiely v dôležitých klinických znakoch depresie. Spoločným menovateľom je ale zmena nálady s typickým ranným výskytom. V prípade depresívnej epizódy ide najmä o náladu patologicky smutnú, ktorú pacienti opisujú aj ako „prázdnu, nijakú, skľúčenú, niekedy s prímesou úzkosti či mrzutosti“. Od normálneho smútku sa tento chorobný smútok odlišuje neprimeranosťou vzhľadom k podnetu. Ďalšími pridruženými znakmi ochorenia sú anhedónia, neschopnosťou prežívať radosť, či akékoľvek potešenie z aktivít. Pacient je ovládaný depresívnymi myšlienkami (v prípade ťažkej depresie sú typické depresívne bludy aj inhibovaná psychomotorika). Pri všetkých stupňoch závažnosti ochorenia je vždy prítomné riziko samovraždy (suicida). Objavuje sa aj neschopnosť sústredenia sa, ako aj iné kognitívne príznaky. Typickými príznakmi depresívneho syndrómu sú poruchy chuti do jedla so zodpovedajúcimi zmenami hmotnosti (ženy často trpia komorbidnou úzkos-

Tab. 1: Zoznam otázok zdravia pacienta

Ako často sa u Vás vyskytli uvedené problémy v priebehu posledných dvoch týždňov?				
1. Znížený záujem o zvyčajné veci alebo schopnosť tešiť sa.	0	1	**2**	**3**
2. Bez nálady „na dne“.	0	1	**2**	**3**
3. Ťažké zaspávanie, plytký spánok, nadmerná spavosť.	0	1	**2**	**3**
4. Pocit únavy, strata energie.	0	1	**2**	**3**
5. Chuť do jedla (zvýšená, znížená).	0	1	**2**	**3**
6. Znížené sebahodnotenie, pocit viny voči sebe alebo rodine.	0	1	**2**	**3**
7. Ťažkosti sústrediť sa.	0	1	**2**	**3**
8. Spomalenie pohybov alebo reči, alebo naopak nervozita a nepokoj.	0	1	**2**	**3**
9. Myšlienky na smrť alebo ublíženie si.	0	1	**2**	**3**
Spočítaj stĺpce		+	+	+
Celkové skóre				
0 nikdy / vôbec; 1 niektoré dni; 2 viac ako polovicu dní; 3 skoro každý deň				
V prípade, že sú 4 pozitívne odpovede v hrubo vyznačenom stĺpci vzniká podozrenie na depresívnu poruchu. Ľahká depresia 5 – 9 bodov, mierna depresia 10 – 14 bodov, stredne ťažká depresia 15 – 19 bodov, ťažká depresia 20 – 27 bodov.				
10. Ako Vás tieto problémy obmedzujú v práci, v starostlivosti o seba alebo v kontakte s inými ľuďmi. Vôbec nie Trochu sťažujú Veľmi sťažujú Úplne sťažujú				

Zdroj: voľne upravené podľa Kořínková, 2005

ťou a únavou, uvádzajú väčší prírastok na váhe, na rozdiel od mužov náchylnejších k závislostiam a pocitmi viny alebo nízkej sebahodnoty), poruchy spánku (zväčša príliš skoré ranné prebúdzanie), pokles libida, pocity nedostatku energie a patickej unaviteľnosti, hypobúlia s pocitmi, že do akejkoľvek činnosti sa pacient musí nútiť (Ngasa a kol., 2017; Králová a kol., 2020; Dudek a kol., 2021). Z uvedeného vyplýva, že depresia je charakterizovaná symptómami emocionálnej, motivačnej, kognitívnej a fyziologickej domény, pričom vykazuje multifaktoriálnu etiológiu bez jediného zavedeného mechanizmu, ktorý by mohol vysvetliť všetky aspekty ochorenia (Ménard a kol., 2017; Dudek a kol., 2021).

Patofyziológia ochorenia, diagnostika a liečba depresívnej poruchy

Zo všetkých možných faktorov patológie ochorenia priťahujú stresory a trauma najväčšiu mieru existujúcej literatúry. Psychosociálne stresory, subchronické stresory vrátane akútnej psychologickej traumy alebo skoré vystavenie detskej traume výrazne zvyšujú riziko vzniku klinickej depresie s ovplyvnením neuroimunitných procesov. Rôzne animálne modely dokazujú prepojenie týchto podnetov so zvýšenými systémovými a centrálnymi hladinami prozápalových cytokínov, vrátane interleukínov (IL-1 a IL-6). U ľudí existujú dôkazy, že rôzne typy týchto impulzov (úzkosť, stres, negatívne životné udalosti) môžu stimulovať prozápalovú cytokínovú sieť, vrátane zvýšenia interleukínu (IL-6) a tumor nekrotického faktora alfa (TNFα). Psychosociálny stres je tiež sprevádzaný zníženými hladinami endogénnych, protizápalových zlúčenín, napríklad CC16 (uteroglobulín), ktorý znižuje produkciu interferónu gama (IFNγ). Jedinci vykazujúci pokles CC16 vyvolaný stresom v sére

Tab. 2: Liečba depresívnej poruchy podľa stupňa závažnosti

Liečba depresívnej poruchy mierneho a stredne ťažkého stupňa, s typickými a atypickými rysmi	**1.** voľba: • SSRI všetky (stupeň A), tianeptín (stupeň A), venlafaxín, mirtazapín (stupeň A)* – **depresia s typickými rysmi** • fluoxetín, sertralín (stupeň B), moklobemid (stupeň B) – **depresia s atypickými rysmi** **2.** voľba: • amitriptylín, klomipramín (stup. B)** – **depresia s typickými rysmi** • fenelzín (stup. B) – **depresia s atypickými rysmi** **3.** voľba: • iné TCA (stupeň B) – **depresia s atypickými rysmi** • imipramín (stupeň B) – **depresia s atypickými rysmi**
Liečba depresívnej poruchy ťažkého stupňa, bez psychotických príznakov	**1.** voľba: venlafaxín, mirtazapín, paroxetín (stupeň A) **2.** voľba: amitriptylín, klomipramín, moklobemid (stupeň A) **3.** voľba: citalopram, fluoxetín (stupeň B)
Liečba depresívnej poruchy ťažkého stupňa s psychotickými príznakmi	**1.** voľba: ECT (stupeň B), TCA + typické NL (stupeň B) **2.** voľba: atypické NL: olanzapín, quetiapín, risperidón + AD (stupeň C)***

*stupeň A: podľa Evidence Based Medicine (EBM) podrobený úrovňou dôkazov I. (a, b)
**stupeň B: podľa Evidence Based Medicine podporený úrovňou dôkazov II. (a, b)
***stupeň C: podľa Evidence Based Medicine podporený úrovňou dôkazov III.
SSRI: inhibítory spätného vychytávania serotonínu, TCA: tricyklické antidepresíva, ECT: elektrokonvulzívna liečba, NL: neuroleptiká, AD: antidepresíva

Zdroj: voľne upravené podľa Kořínková a kol., 2002

preukázali vyššiu úzkosť a zvýšenú produkciu IFNγ. Uvedené cytokíny sa javia ako depresogénne a anxiogénne (Berk a kol., 2013).

Všetky tieto oblasti mozgu s rôznymi funkciami sú vysoko prepojené, čo zdôrazňuje zložitosť liečby depresívnych stavov. Synaptická prestavba je závislá a ovplyvnená mnohými faktormi. Regulovaná je prostredníctvom viacerých signálnych dráh vrátane spomínaného neurotrofického faktora. Diagnostika depresívnej epizódy je preto založená hlavne na podrobnom klinickom psychiatrickom vyšetrení, anamnestických údajoch (niekedy aj s potrebou heteroanamnézy) a starostlivom vyhodnotení klinickej symptomatiky (psychopatologických symptómov a priebehových charakteristík). Z prostredia za tarou môže farmaceutom pomôcť zoznam otázok pre pacienta v rámci dôkladnej anamnézy (viď tab. 1).

Liečba depresie zahŕňa tri hlavné modality, a to antidepresíva a iné liečivá zosilňujúce antidepresívny účinok, psychoterapia založená na dôkazoch zahŕňajúca napr. kognitívno-behaviorálnu terapiu/interpersonálnu psychoterapiu a somatické nefarmakologické postupy vrátane elektrokonvulzívnej terapie, repetitívnej transkraniálnej magnetickej stimulácie a stimulácie vagusového nervu (Beurel a kol., 2020). Pri určení diagnózy a následnej liečby sa posudzujú faktory ako riziko suicídia, závažnosť ochorenia, prítomnosť psychotických príznakov, prítomnosť somatického syndrómu, komorbiditu psychického alebo somatického ochorenia. Nesmie sa zabúdať aj na farmaká potenciálne indukujúce depresívny syndróm ako acyklovir, antikonvulzíva, barbituráty, benzodiazepíny, beta blokátory (aj v obvyklých dávkach), perorálna antikoncepcia, kortikosteroidy, H_2 antagonisty (vo vyšších dávkach najmä v staršej populácii), levodopa opäť u starších pacientov, teofylíny. Tento zoznam nelimituje jeho rozsah, literatúra uvádza aj ďalšie potenciálne depresiu indukujúce látky (Marko, 2009). Liečebnú stratégiu ľahkej, stredne ťažkej a ťažkej depresie zahŕňa tabuľka 2.

KAZUISTIKA

Prípadová štúdia zahŕňa len jednu tridsaťtriročnú, vysokoškolsky vzdelanú, stálo zamestnanú ženu, ktorej bola stanovená diagnóza recidivujúcej depresívnej poruchy, toho času v stredne ťažkej epizóde. Všetky výsledky a metódy skúmania boli získané so súhlasom pacientky. Ochotne sama poskytla svoj chorobopis, takisto nadviazala aj priamu interakciu formou rozhovoru, kde jasne a presne opisovala subjektívne pocity v jednotlivých fázach svojho ochorenia. Na základe jej medicínskeho vzdelania (humánny lekár) sme mohli odborne rozoberať aj jej liekovú anamnézu.

Anamnéza pacientky

Analyzovali sme pacientku, ktorá bola stálo zamestnaná, pričom 7 mesiacov strávila v Afrike. Pôvodne spoločenská, aktívne sa venuje koníčkom, v tom čase býva s rodičmi. Jej matka má diagnostikovanú hypotyreózu a hypertenziu, otec má stent po infarkte myokardu, sestra je zdravá, zatiaľ čo brat je liečený pre poruchy spánku v psychiatrickej ambulancii. V rodine sa v minulosti depresia ani iná duševná choroba nevyskytla. Ako spomíname, jej brat podstupuje liečbu pre poruchy spánku, pričom ide pravdepodobne o nadmerný stres zo štúdia na vysokej škole. U našej pacientky sa však vyskytujú vážnejšie symptómy depresie a anxiety. Okrem problémov, ktoré s týmito stavmi súvisia a ktoré v kazuistike opisujeme, nemá naša pacientka iné vážne komorbidity, nie je evidovaná v žiadnej odbornej ambulancii, tehotenstvo vylučuje, fajčenie priznáva (10 cigariet za deň), alkohol udáva príležitostne, kávu 3-krát za deň.

Fáza psychologického vyšetrenia a psychoterapia venlafaxínom a alprazolamom

Naša pacientka prichádza na psychologické vyšetrenie sama prvýkrát po ukončení vzťahu. Subjektívne opisuje svoj stav ako úplnú nechuť a neschopnosť vykonávať akékoľvek činnosti, prehlbujú sa depresívne myšlienky, avšak uvedomuje si, že potrebuje odbornú pomoc. Samostatne sa pokúša o zlepšenie stavu nefarmakologickými, relaxačnými metódami. Tento jej postoj a riešenie problému môžeme pripísať nadobudnutému vzdelaniu a aj tomu, že pochádza z intelektuálnej rodiny. Nie je to štandardný spôsob, akým sa pacienti prvýkrát dostanú na psychologické vyšetrenie (väčšinou ide o podnety z ich okolia).

Zovňajšok má upravený, kontakt nadväzuje ochotne, spontánna verbálna produkcia je primeraná. Odpovede sú adekvátne, udržiava očný kontakt. Pri administrácii testov spolupracuje ochotne. V popredí je badateľná zvýšená miera anxiety a depresívneho syndrómu. Z vyšetrenia sa zisťuje emocionálne nestabilná osobnosť s menej zrelou osobnostnou organizáciou vystupňovanou interpersonálnou senzitivitou a sklonom k situačnej vzťahovačnosti. Prežívanie a prejavovanie pocitov je nedostatočné, neschopnosť prejaviť afekt potencuje problémy s primeranou adaptáciou. Taktiež sa pozoruje redukcia záujmovej i sociálnej sféry až sociálnej izolácie. Úroveň frustračnej tolerancie je výrazne oslabená s limitovanou dostupnosťou vnútorných zdrojov na zvládanie záťaže. Psychický stav je aktuálne dekompenzovaný s posunom do anxiety a depresie významnej hĺbky. Diagnostikovaná je recidivujúca depresívna porucha, v tom čase stredne ťažkej epizódy (podľa MKCH 10 ide o diagnózu F33.1). V anamnéze sa nenachádzajú epizódy pozdvihnutej nálady alebo mánie. Spúšťačom ochorenia bolo teda pravdepodobne sklamanie vo vzťahu, tesne pred svadbou, v čase ukončovania vysokoškolského štúdia. Nahromadenie stresu z tejto ťažkej negatívnej udalosti nedokázala spracovať.

Po absolvovaní vyšetrenia bola odporúčaná pravidelná kognitívno-behaviorálna terapia spočiatku raz týždenne, neskôr raz mesačne spolu s farmakoterapiou, venlafaxínom, inhibítorom spätného vychytávania sérotonínu a noradrenalínu. Liečivo dostala vo forme tvrdých kapsúl s postupným uvoľňovaním, pričom prebehla titrácia dávky tak, ako to uvádza súhrn charakteristických vlastností daného lieku (SPC) od dávky 37,5 mg denne až po 75 mg s odporúčaním 1-krát ráno a 1-krát na obed. Pacientka dodržovala stanovené dávkovanie, nežiaduce účinky sa neprejavili, avšak ako sama uvádza, nedošlo k výraznejšie-

mu zlepšeniu stavu. Pre úzkostné stavy bol do liečby priradený alprazolam s poučením rizika vzniku závislostí. Z charakteru liečiva vyplýva, že po jeho podaní sa môžu pacienti cítiť subjektívne lepšie, avšak z dlhodobého hľadiska sa ich stav nemení. Dá sa teda predpokladať, že určitá skupina pacientov by si dávku alprazolamu postupne z vlastnej iniciatívy zvyšovala, čím hrozí riziko vzniku tolerancie a závislosti. Potrebná je teda dôrazná edukácia, či zo strany lekára, ale aj zo strany farmaceuta. Pre jej erudovanosť tento fakt nepredstavoval riziko, nakoľko ho z vlastnej iniciatívy neužívala vo vyššej dávke ako 0,5 mg 2-krát denne, a to iba pri úzkostných stavoch. Tie sa liečbou utlmili, avšak z dlhodobého hľadiska sa stav nezlepšil.

Fáza hospitalizácie, zmena prostredia, zmena liečby – pridaný escitalopram, agomelatín, prometazín (neskôr vymenené za zolpidem a ten vymenený za buspirón) a odstránený alprazolam a venlafaxín

Pacientka sa opäť sama rozhodla pre hospitalizáciu na psychiatrickom oddelení. Ako uviedla, potrebovala poukázať na to, že má vážny zdravotný problém, lebo cítila, že záujem spoločnosti pomôcť jej je minimálny. Sama rozpráva o tzv. „demonštratívnej hospitalizácii“. K obvyklým indikáciám na hospitalizáciu pacienta s depresiou patria ťažké a psychotické depresie, prítomnosť samovražedných myšlienok, vyšší vek, nepriaznivá sociálna situácia, prítomnosť vážnejšej telesnej choroby, intolerancia alebo neúčinnosť súčasnej antidepresívnej liečby (Kořínková, 2005). Našu pacientku môžeme zaradiť do poslednej indikácie, nakoľko po terapii trvajúcej tri mesiace (venlafaxín, alprazolam) nepociťovala výraznejšie zlepšenie stavu. Po krátkej hospitalizácii v trvaní 10 dní subjektívne nepociťuje žiadne zlepšenie. No aj napriek tomu odchádza pracovať do Afriky. V tomto prostredí dokázala fungovať aj bez liekov, ktoré postupne vysadila. Môžeme predpokladať, že sa tak udialo vďaka odstráneniu vonkajších podnetov s negatívnym vplyvom. Po návrate na Slovensko sa však na novej pracovnej pozícii opäť začali prehlbovať depresívne myšlienky. Nasledovala návšteva psychiatrickej ambulancie z vlastnej iniciatívy, po ktorej bola predpísaná rovnaká terapia ako predtým, avšak, keďže sa objavujú aj problémy so spánkom, bol do liečby pridaný aj agomelatín v dávke 25 mg večer so silnými účinkami na cirkadiánne poruchy spánkovej fázy, čím skracuje čas nástupu spánku a kvalitu spánku. Ako uvádza, po zavedení agomelatínu do liečby sa spánok zlepšil, celkový stav však nie. Bola práce schopná, dokázala fungovať v bežnom dennom rytme, avšak svoj stav nepokladala za plne funkčný pre neustále sa opakujúce suicidálne myšlienky.

Po zmene pracovnej pozície a po ďalšom neúspešnom vzťahu trvajúcom 1,5 roka sa rozhodne pre zmenu psychiatra. Objavujú sa väčšie problémy so spánkom. Pacientka je tenzná, škrípe zubami, častejšie pociťuje úzkosti, prejavujúce sa tlakom na hrudi, búšením srdca a trasom rúk. Nedokáže sa sústrediť na vykonávanú činnosť, čo ju obmedzuje pri práci. V noci sa budí aj trikrát. Chuť do jedla zhoršená nie je, skôr priberá. Týždenne však podľa odporúčania navštevuje psychológa pre kognitívno-behaviorálnu terapiu. Vzhľadom na zhoršený stav a neúspešnú predchádzajúcu terapiu, psychiater zvolil zmenu antidepresíva venlafaxínu s jeho postupným vysádzaním a prechodom na escitalopram (inhibítor spätného vychytávania serotonínu, SSRI). Prechod na iné liečivo popisuje pacientka ako extrémne nezvládnuteľný, problém jej robia bežné denné činnosti, prehlbujú sa suicidálne myšlienky, spánok je navodený len po užití alprazolamu a agomelatínu, ale bez dostatočnej hĺbky a kvality. Bez liekov nezaspí. Nemá záujem o bežné činnosti, nevie nájsť motiváciu k čomukoľvek. Výrazným prejavom sú extrapyramídové zášklby popisované pacientkou ako „prechod elektrického prúdu cez telo“. Postupne do liečby zaraďujeme spomínaný escitalopram až do efektívnej dávky. Stav sa zlepšuje, nálada je prejasnená, redukovaná je aj anxieta. Pacientka vykazuje vysokú mieru kompliancie a teda samotný monitoring terapeutického režimu nie je až taký zložitý. Monokomponentné antidepresívum sa teda javí lepšie ako duálne pôsobiace. Úzkosti takmer vôbec nepociťuje, nespavosť sa objavuje už len ob-

Tab. 3: Priebeh farmakologickej liečby pacientky z kazuistiky

Farmakologická skupina	Začiatok liečby	Pokračovacia liečba	Zmena liečby	Súčasná liečba
Antidepresíva	venlafaxín	venlafaxín, agomelatín	escitalopram, agomelatín	escitalopram, agomelatín
Anxiolytiká	alprazolam	alprazolam	buspirón	buspirón
Antihistaminiká	–	–	prometazín	–
Hypnotiká a sedatíva	–	–	zolpidem	–

časne. Po konzultácii s psychiatrom sa rozhodne pre postupné vysádzanie alprazolamu, nakoľko si uvedomuje možný vznik závislosti na benzodiazepínoch a taktiež vznik abstinečného syndrómu.

Pre občasnú nespavosť je do liečebnej stratégie pridaný prometazín (prvá generácia H_1 antihistaminík v dávke 25 mg večer, čo predstavuje bežnú terapeutickú dávku v prípade liečby insomnie). Pacientka však nepociťovala zlepšenie kvality spánku ani po dvoch týždňoch užívania. Nasledujúce tri mesiace pokračuje liečba bez prometazínu. Na liečbu reaguje podľa jej slov veľmi dobre a spomínané problémy so zaspávaním rieši relaxačnými cvičeniami a metódami (napr. levanduľové relaxačné kúpele). Pre insomniu jej však psychiater pridáva do liečby zolpidem (nebenzodiazepínové hypnotikum) v dávke 5 – 10 mg večer, podľa potreby. Nasledujúci mesiac sa držala predpísanej terapie. Pravidelnému užívaniu sa vyhýbala, bola si vedomá možného vzniku tolerancie a závislosti rovnako ako u benzodiazepínov. Účinok sa dostavil okamžite, avšak pri najbližšej kontrole sa sťažuje na určitý druh amnézie pred spaním po jeho užití, preto bol z terapeutickej schémy odstránený a nahradený buspirónom v dávke 5 mg večer. Ten užíva pravidelne, približne po týždni pociťovala zlepšenie aj v kvalite spánku, aj v kratšej dobe zaspávania, bez výskytu nežiaducich účinkov. Liečivo pacientke plne vyhovuje, nepociťovala abstinenčné príznaky ako pri alprazolame a vedľajšie účinky ako pri zolpideme. Pri následnej kontrole uvádza, že daná liečba jej plne vyhovuje.

Súčasná terapia

Pacientka je na liečbe už jeden rok od poslednej zmeny terapeutickej schémy (vid tab. 3). Liečba jej vyhovuje. Nálada je prejasnená, anxieta úplne vymizla, dokáže racionálne riešiť problémy, či už v práci, ale aj v osobnom živote. Problémy so spánkom pretrvávajú, avšak v menšej intenzite. Sama si je vedomá, že okrem farmakologickej terapie, ktorú tvoria liečivá escitalopram (10 mg ráno a 5 mg na obed), agomelatín (25 mg večer) a buspirón (5 mg večer), jej veľmi pomáha aj pokračujúca kognitívno-behaviorálna terapia u psychológa raz mesačne. Momentálne sa nachádza v tzv. pokračovacej liečbe depresie.

DISKUSIA

Už v úvode sme informovali, že depresia ako afektívna porucha má úzku spojitosť s genetikou, ženským pohlavím a stresom. Istým problémom je aj abúzus, ako to dokazuje práca Heretik a kol. (2013), ktorá deklaruje prepojenie medzi úzkostlivosťou a konzumáciou alkoholu, či denným fajčením; opäť viac signifikantné u žien v porovnaní s mužmi.

V kazuistike popisujeme erudovanú pacientku uvedomujúcu si svoj problém vzniknutý pravdepodobne ukončením vzťahu tesne pred svadbou. Sama vyhľadá pomoc, pričom v kompetencii všeobecného lekára je identifikácia poruchy, vylúčenie somatogénnej príčiny, identifikácia rizík, liečba nekomplikovanej depresie a odoslanie pacienta k špecialistovi – psychiatrovi (Kořinková a kol., 2011). Ako prvú stratégiu liečby zvolil odborník kombináciu kognitívno-behaviorál-

nej terapie s vybranou farmakoterapiou. Na základe EBM sú psychoterapeutické metódy (interpersonálna psychoterapia, kognitívno-behaviorálna psychoterapia, krátka dynamická psychoterapia) u väčšiny pacientov v terapii ľahkej a stredne ťažkej depresie porovnateľne účinné ako farmakoterapia. Podľa odporúčaní sa má tento princíp zvážiť pri prvej voľbe liečby najmä u pacientov, ktorí ho uprednostňujú. Ako spomíname v kazuistike, pacientka sama skúšala rôzne relaxačné, meditačné techniky, preto s liečbou súhlasila, prijala ju a patrične aj spolupracovala, čo je najpodstatnejší krok pre úspešnú stratégiu liečby. Kombinácia psychoterapie s medikamentóznou liečbou by sa mala zvážiť u pacientov s nedostatočnou odpoveďou na samostatnú liečbu antidepresívami alebo na psychoterapiu. Štúdie v ostatných rokoch potvrdzujú, že najlepšie liečebné výsledky pri depresii sa dosahujú kombináciou farmakoterapie a psychoterapie (Marko, 2009).

V našom sledovanom prípade išlo teda o kombináciu kognitívno-behaviorálnej terapie a venlafaxínu s anxiolytickým a analgetickým účinkom patriaceho do 4. generácie tymoleptík, teda antidepresíva s duálnym účinkom (inhibítor spätného vychytávania serotonínu a noradrenalínu). Venlafaxín ako jedno z mála moderných antidepresív vykazuje priamu úmeru medzi dávkou a terapeutickým efektom. Vo vyšších dávkach má účinnosť tricyklických antidepresív, ale s nástupom účinku už po 1 týždni podávania. Vykazuje vyššiu pravdepodobnosťou dosiahnutia plnej remisie v porovnaní s inhibítormi spätného vychytávania serotonínu. Z dôvodu prevencie nežiaducich účinkov (nauzea, vomitus, potenie, insomnia, anxieta, anorexia, tremor, abnormná ejakulácia/orgazmus, erektilná dysfunkcia, hypertenzia, psychická tenzia; s odporúčaním pravidelného merania krvného tlaku a pulzu) sa podáva vo forme s predĺženým uvoľňovaním, rovnako ako to bolo aj u našej pacientky (Marko, 2009). Liečba musí byť komplexná s adekvátnou informovanosťou a edukáciou zo strany lekára či farmaceutov. Tu má odborník za tarou priestor na poskytnutie základných informácií spojených s liečbou pacienta (napr. vytrvanie v terapii, aj keď sa účinky nedostavia hneď podľa očakávaní a následné zotrvanie v režime bez spontánneho ukončenia). Je potrebné počítať aj s nežiaducimi prejavmi liečby. Spočiatku sa pacientovi môže zdať, že nežiaduce prejavy terapie sú výraznejšie než samotná choroba. Na vedľajšie účinky si spravidla pacient zvykne v priebehu 1 – 2 týždňov. V prípade priaznivej odpovede na terapiu sa prvý efekt objaví za 3 – 6 týždňov, s plným účinkom do 16 týždňov (efekt nie je okamžitý). V tomto období na objavujú najvýznamnejšie nežiaduce účinky medikácie, čo je často príčinou nedostatočnej spolupráce pacienta. Pokiaľ sa do 4 týždňov antidepresívnej liečby nedosiahne istá odpoveď, nemá podľa niektorých autorov zmysel očakávať ďalšie zlepšenie, avšak podľa odporúčaní je vhodné pristúpiť k titrácii dávky na maximálnu tolerovanú dávku a pokračovať v liečbe ďalšie 4, resp. 6 týždňov. Nutnosť zotrvania sa odvíja od vytvorenia možnej farmakorezistencie (môže vzniknúť pri užívaní liečiva týždeň alebo 14 dní s následným prechodom na iné farmakum pre údajnú neúčinnosť pôvodnej látky). Maximálna doba liečby jedným antidepresívom bez dosiahnutia aspoň parciálnej odpovede je 8 týždňov (Praško a Prašková, 2006).

Pre úzkostné stavy bol pacientke nasadený alprazolam, pričom sa bežne indikuje na zvládnutie príznakov depresie. Podľa miligramovej účinnosti ho môžeme zaradiť medzi vysoko potentné liečivo zo skupiny benzodiazepínov (BZD). Z jeho základných vlastností môžeme vyzdvihnúť málo sedujúci efekt, rýchle pôsobenie, antipanický efekt. Je rizikovejší spomedzi ostatných BZD pre abstinenčné príznaky (Moťovský, 2009).

V období hospitalizácie pacientky nastali prvé zmeny v liečbe, kedy sa do schémy pridal agomelatín a venlafaxín sa postupne vymenil za escitalopram. Alpazolam sa postupne vysadil po normalizácii klinických prejavov spojených so zmenou antidepresív. Agomelatín sa indikuje v liečbe depresie s poruchami biorytmov. Patrí do skupiny agonistov melatonín M1, M2 receptorov a súčasne antagonistov 5HT2C receptorov (MASSA). Podľa odporúčaní je vhodný pri depresívnych epizódach stredne ťažkého stupňa

a ťažkého stupňa bez psychotických príznakov. Predstavuje 1. voľbu stupňa A. Je spojený so špecifickým nežiaducim účinkom v zmysle ovplyvnenia hepatálnych transamináz (potreba monitorovania funkcie pečene). Výmena venlafaxínu prebehla podľa modelu, metódy „cross-taper“, kedy sa prvé antidepresívum postupne znižuje až vysadzuje, druhé antidepresívum sa zavádza v nízkej dávke v určitom štádiu počas redukcie prvého antidepresíva, takže pacient užíva obe antidepresíva súčasne. Po vysadení prvého antidepresíva sa dávka druhého antidepresíva zvýši na terapeutickú dávku (Keks a kol., 2016). Escitalopram patrí do skupiny inhibítorov spätného vychytávania serotonínu. Je indikovaný podobne ako agomelatín (prvá voľba stupňa A). Vykazuje širšie spektrum účinku a užšie spektrum nežiaducich účinkov. Je spojený s rýchlejším nástupom účinku a vyšším antidepresívnym efektom (Kořínková a kol., 2011). Prínos farmaceutov v tomto popisovanom bode vidíme v komentovaní a upozornení (edukovaní) pacienta o prelínaní nežiaducich prejavov liečiv v anamnéze. Escitalopram aj agomelatín uvádzajú v SPC ako poruchy nervového systému parestézie. Pri escitaloprame sa uvádza aj tras, poruchy pohybu, psychomotorický nepokoj (SPC). Okrem toho môže navodiť škrípanie zubami, ktoré pacientka popisuje. Podľa jej slov cítila „prechod elektrického prúdu cez telo“.

Pre občasnú nespavosť bol do schémy pridaný prometazín (H_1 antihistaminikum prvej generácie), avšak pre jeho nevýrazný účinok pokračovala pacientka v terapii bez jeho indikácie. Podľa amerického portálu www.drugs.com dosiahol prometazín priaznivé účinky v liečbe insomnie len u 44 % respondentov.

Do terapeutickej schémy vstupuje zolpidem, hypnotikum III. generácie. Disponuje kratším eliminačným polčasom, rýchlym nástupom účinku (15 – 45 min), preto je vhodný pri poruchách zaspávania. Opäť vidíme priestor spolupráce s odborníkom v lekárni. Ide hlavne o informácie v rámci edukácie, vysvetlením pravidiel spánkovej hygieny a kontroly stimulov. Pacienta je potrebné upozorniť, že ťažké/tučné jedlá pred užitím lieku s obsahom zolpidemu môžu účinok oneskoriť o 1 hodinu. Je potrebné ho upozorniť na riziko vzniku závislosti (je podstatne menšie ako pri BZD), no v zásade existuje, preto platia v tomto zmysle rovnaké odporúčania ako pri benzodiazepínových hypnotikách (užívanie maximálne 4 – 8 týždňov). Doteraz všetky hypnotiká II. a III. generácie boli určené na krátkodobé podávanie, no od roku 2005 sú v USA bez obmedzenia doby podávania povolené eszopiclon, zolpidem s predĺženým uvoľňovaním a ramelteon (Moťovský, 2009). Nakoľko benzodiazepíny alebo látky príbuzné benzodiazepínom môžu navodiť anterográdnu amnéziu, k tomuto stavu obyčajne dochádza niekoľko hodín po užití zolpidemu, musela naša pacientka s rovnakých dôvodov zmeniť liečbu na buspirón. Kvôli zníženiu rizika majú mať pacienti zaručený 7 – 8 hodinový neprerušovaný spánok (SPC).

Buspirón je predstaviteľom nebenzodiazepínových anxiolytík pôsobiaci ako čiastočný agonista 5-HT1A receptorov. Považuje sa za tzv. augmentujúcu látku. V rámci jeho kombinácie s SSRI sú štúdie nejednotné (Praško a Prašková, 2006). Podľa SPC neboli pozorované žiadne závažné prejavy toxicity, avšak u predisponovaných pacientov sa vzácne objavili prípady záchvatov (možný výskyt serotoníového syndrómu – pri jeho výskyte je nutné liečbu prerušiť). Je indikovaný v terapii úzkosti s nízkou mierou vedľajších účinkov, čím vykazuje lepšiu kompliancíu v porovnaní s inými anxiolytickými liečbami, najmä u pacientov, ktorí netolerujú vedľajšie účinky selektívnych inhibítorov spätného vychytávania serotonínu. Na rozdiel od benzodiazepínov alebo barbiturátov, farmakologický mechanizmus buspirónu nie je podmienený receptormi kyseliny gama-aminomaslovej. Závislosť alebo abstinenčné príznaky sú teda zriedkavé. Niektoré faktory však môžu zhoršiť závažné toxické účinky buspirónu, ako napríklad jeho kombinácia s ritonavirom (Zhang a kol., 2022). Podľa Moťovského (2009) neovplyvňuje insomniu, a ako píšeme vyššie, jeho účinnosť je potvrdená len pre generalizovanú úzkostnú poruchu. Naša pacientka napriek týmto zisteniam finálnu terapeutickú schému veľmi dobre toleruje, pričom momentálne sa nachádza v tzv. pokračovacej liečbe depresie.

ZÁVER

V predloženej štúdii sme niekoľkokrát preukázali potenciál farmaceutov zasahovať do liečby pacienta, dokonca aj v diagnóze, ktorá je vyslovene v kompetencii špecialistu. Jeho prínosy vidíme v edukácii, kontrole liekovej anamnézy v zmysle nežiaducich prejavov liečby a možných liekových interakcií, či kontraindikácií. Veľmi dôležitý moment celej terapeutickej schémy je kompliancia pacienta, ktorá neraz rozhoduje o účinnosti/neúčinnosti zvolených postupov.

POĎAKOVANIE

Touto cestou sa chcem poďakovať našej pacientke za spoluprácu a priebežnú konzultáciu zistených skutočností a zároveň ďakujem aj PharmDr. Matúšovi Ondrušovi za získanie podkladov pre napísanie článku.

ZOZNAM LITERATÚRY

Berk, M., Williams, L. J., Jacka, F. N., O'-Neil, A., Pasco J. A., Moylan, S., Allen, N. B., Stuart, A. L., Hayley, A. C., Byrne, M. L., Maes, M.: So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from? *BMC Med*., 2013, 11, 200.

Beurel, E., Toups, M., Nemeroff, CH. B.: The bidirectional relationship of depression and inflammation: double trouble. *Neuron*, 2020, 107 (2), 234 – 256.

Dudek, K. A., Dion-Albert, L., Neutzling Kaufmann, F., Tuck, E., Lebel, M., Menard, C.: Neurobiology of resilience in depression: immune and vascular insights from human and animal studies. *Eur. J. Neurosci*., 2021, 53 (1), 183 – 221.

Heretik, A., Pečeňák, J., Heretik, A. jr., Ritomský, A.: 10 rokov epidemiologického výskumu psychických porúch na Slovensku (štúdie EPIx) [10 years of epidemiological research of psychological disorders in Slovakia (EPIx studies)]. *Psychiatria – Psychoterapia – Psychosomatika*, 2013, 20 (3), 25 – 28.

https://www.drugs.com/. Accessed March 15, 2023.

Keks, N., Hope, J., Keogh, S.: Switching and stopping antidepressants. *Australian Prescriber*, 2016, 39, 76 – 83.

Kořínková, V.: Možnosti diagnostiky a liečby depresie v ambulancii praktického lekára [Diagnostic and treatment possibilities of depression in GP practice]. *Via pract*., 2005, 2 (10), 412 – 416.

Kořínková, V., Novotný, V., Pálová, E.: *Medotické listy racionálnej farmakoterapie* [Methodical sheets of rational pharmacotherapy]. 2002.

Kořínková, V., Novotný, V., Vavrušová, L.: Štandardný diagnostický a terapeutický postup [Standard diagnostic and therapeutic procedure]. *49. metodický list racionálnej farmakoterapie*, 2011, 14, 1 – 2.

Králová, M., Kubašovská, K., Vavrušová, L.: *Depresívna epizóda – diagnosticko-liečebný štandard* [Depressive episode – diagnostic/treatment standard]. Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky, 2020.

Marko, P. : Depresívne poruchy v praxi všeobecného lekára pre dospelých – I. časť [Depressive disorders in general practicioners practice – part I]. *Via pract*., 2009, 6 (10), 407 – 413.

Ménard, C., Hodes, G. E., Russo, S. J.: Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. *Neuroscience*, 2016, 3 (321), 138 – 162.

Moťovský, B.: Hypnotiká a anxiolytiká [Hypnotics and anxiolytics]. *Psychiatr. Prax*., 2009, 10 (1), 42 – 45.

Ngasa, S. T., Sama, C. B., Dzekem , B. S., Nforchu , K. N., Tindong, M., Aroke , D., Dimala , Ch. A.: Prevalence and factors associated with depression among medical students in Cameroon: a cross-sectional study. *BMC Psychiatry*, 2017, 17, 216.

Praško, J., Prašková, H.: Farmakoterapie deprese [The pharmacotherapy of depression]. *Psychiat. pro Praxi*., 2006, 5, 214 – 224.

Vavrušová, L.: Depresia – spúšťací faktor

narušenia nauroplasticity [Depression – disturb turning on factor of neuroplasticity]. *Psychiatria pre prax*, 2004, 1, 21 – 22.

Zhang, B. W., Pang, N. H., Xu , R. A., Qu, G. E., Tang, C. R.: Inhibition of axitinib on buspirone metabolism *in vitro* and *in vivo*. *Drug Des. Devel. Ther*., 2022, 16, 2031 – 2042.

POKYNY PRE AUTOROV

ZAMERANIE ČASOPISU

Folia Pharmaceutica Cassoviensia je vedecký časopis založený v roku 2019 a vydávaný Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, SR. Časopis je vydávaný štvrťročne a uverejňuje pôvodné štúdie prinášajúce najnovšie poznatky z farmaceutickej a biomedicínskej oblasti, prehľadové články a kazuistiky z lekárenskej a z klinickej praxe. Okrem toho sa v časopise publikujú aj krátke oznámenia zamerané na rýchle uverejnenie poznatkov o aktuálnych vedeckých problémoch a objavoch vo farmácii a medicíne. Časopis neuverejňuje správy o vedeckých podujatiach a redakciou nevyžiadané recenzie.

Autori sú zodpovední za originalitu zaslaných príspevkov, správnosť ich obsahu a za to, že predkladaná práca alebo jej časti neboli publikované alebo zaslané na publikovanie inde.

Autori zasielajú príspevky elektronicky vo formáte textového procesora MS Word alebo vo formáte RTF. O zaradení príspevkov do časopisu rozhoduje redakčná rada na základe posudkov aspoň dvoch anonymných recenzentov. Príspevky schválené na publikovanie sa zasielajú autorovi spolu s recenznými posudkami na prípadné doplnenie alebo prepracovanie. Autor vráti redakcii upravený rukopis a pripojí písomné stanovisko k návrhom a pripomienkam recenzentov. Rozhodnutie redakčnej rady o prijatí alebo zamietnutí príspevku je konečné.

Za uverejnenie článku v časopise sa nevyžadujú žiadne poplatky.

VŠEOBECNÉ ZÁSADY

Príspevky sa uverejňujú v slovenskom, českom alebo anglickom jazyku. Ak je príspevok písaný v inom ako anglickom jazyku, vyžaduje sa názov práce, abstrakt a kľúčové slová v angličtine.

Kompletný text rukopisu vrátane fotografií, obrázkov, tabuliek a grafov sa zasiela v elektronickej forme na nasledovnú adresu: **folia.pharma@uvlf.sk** alebo **zuzana.holeckova@uvlf.sk**. Ak rukopis nespĺňa pokyny pre autorov, redakčná rada si vyhradzuje právo vrátiť rukopis autorom pred jeho posúdením recenzentmi.

Pri písaní príspevku (včítane grafov, tabuliek a pod.) je potrebné zachovávať jednotný štýl a formát práce (**Times New Roman**, veľkosť písma 12 bodov, riadkovanie 1,5, okraje 2,5 cm, zarovnanie podľa okrajov).

Pri zasielaní rukopisu autori pripájajú prehlásenie, že ich článok je pôvodný, nebol publikovaný ani zaslaný na publikáciu inde.

Ak štúdia hodnotí farmaceutický produkt, lekárske alebo vedecké zariadenie/pomôcku, alebo iný komerčný výrobok, autori informujú vydavateľa dôverným listom o akomkoľvek finančnom zainteresovaní, ktoré existuje v rámci spoločnosti, ktorá takýto produkt vyrába, alebo prípadnej konkurenčnej spoločnosti.

Používanie jednotiek. V texte sa zásadne používa medzinárodný systém jednotiek (SI). Iné jednotky je nevyhnutné vysvetliť a definovať.

Skratky a symboly. Pri voľbe fyzikálnych alebo fyzikálno-chemických symbolov je záväzný IUPAC Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units (Pergamon Press, Oxford, 1993). Používajú sa len štandardné skratky. Odporúča sa vyhýbať sa skratkám v názve a v abstrakte. Skratky by sa mali používať len pri ich častom opakovaní. Pri prvom použití skratky v texte sa pripojí jej vysvetlenie v zátvorke, pokiaľ sa nejedná o štandardnú jednotku merania.

Názvoslovie a terminológia. V texte je potrebné používať štandardné slovenské názvoslovie v zmysle platných odporúčaní IUPAC. Detailné inštrukcie pre

anglicky písaný text sa nachádzajú v publikáciách IUPAC *Brief Guide to the Nomenclature of Inorganic Chemistry IUPAC 2015, Pure App. Chem. 87, 1039-1049*, © IUPAC & De Gruyter 2015 and *Nomenclature of Organic Chemistry, IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2014. Je vhodné vyhnúť sa novým triviálnym názvom. Nové zlúčeniny musia byť pomenované systémovým názvoslovím podľa IUPAC.

Pri uvádzaní látok izolovaných z prírodných zdrojov sa latinsky uvedie názov zdroja (napr. rodový a druhový názov rastliny) a príslušná čeľaď. Liečivá sa uvádzajú INN názvom v slovenskej, českej, resp. v anglickej mutácii a to podľa jazyka, v ktorom je rukopis napísaný. Ak je známy liekopisný názov, tak sa uprednostní, resp. prípustné sú obidva.

Príklady: paracetamol (nie acetaminofén), bisfosfonát (nie bifosfonát), adrenalín/liekopis (nie epinefrín/INN), hydroxykarbamin (nie hydroxyurea), kromoglykán (nie chromoglykán), cholestyramín (nie colestyramín, kolestyramín), lítium (lithium), manitol (nie mannitol).
Latinské termíny sa píšu kurzívou.

V texte treba rozlišovať pojmy „liečivo“ a „účinná látka“. „Účinná látka“ je látka alebo zmes použitá ako vstupná surovina pri výrobe lieku, ktorá sa po skončení výrobného procesu lieku stane liečivom. „Liečivo“ je chemicky jednotná alebo nejednotná látka ľudského, rastlinného, živočíšneho alebo chemického pôvodu, ktorá je nositeľom biologického účinku využiteľného na ochranu pred chorobami, na diagnostiku chorôb, liečenie chorôb alebo na ovplyvňovanie fyziologických funkcií.

Pre lieky sa uvádza firemný názov a držiteľ registrácie, resp. výrobca a krajina (pri ich prvom použití), *Príklad:* Panadol Junior (GlaxoSmithKline Consumer Healthcare Czech Republic s.r.o., Česká republika), IMMODIN (IMUNA PHARM, a.s., Slovensko), Azibiot (KRKA, d.d., Novo mesto, Slovinsko).

Fotografie, obrázky, grafy. Aby sa vyhlo prípadným nepresnostiam či chybám, odporúčame zaslať fotografie, obrázky a grafy zvlášť v osobitnej prílohe (aj v prípade, že ich už autori majú v texte) a uviesť zdrojový program, v ktorom boli vypracované (napr. tabuľka – MS Word, graf – MS Excel). V texte sa uvádza odkaz na príslušnú fotografiu, obrázok a graf, napr. (viď obr. 1). Odkaz sa uvedie aj vtedy, keď autor zašle fotografie, obrázky a grafy iba v prílohe, aby bolo jasne označené miesto, kde sa má príslušná fotografia, obrázok alebo graf v texte nachádzať. Fotografie majú mať minimálne rozlíšenie na úrovni 300 dpi a musia byť jasné a ostré. Vzhľadom na technické komplikácie, ku ktorým môže dôjsť pri konvertovaní farebných obrázkov pre potreby čiernobielej tlače sa odporúča zaslať obrázky a ilustrácie vo verzii vhodnej pre takúto tlač. V časopise môžu mať obrázky a ilustrácie šírku len 8,5 cm a nachádzať sa na strane širokej 17,5 cm, preto by veľkosť písmen v legende mala zodpovedať týmto rozmerom (Times New Roman 10). Obrázky, fotografie a grafy majú byť orámované, priebežne očíslované a má k nim byť pripojený príslušný text týkajúci sa obsahu a prípadne aj zdroja. Číslo a text nemá byť súčasťou fotografie/obrázku/grafu. Číslo a názov obrázku, fotografie a grafu sa má umiestniť nad a príslušný text týkajúci sa obsahu a prípadne aj zdroja (legenda) sa má umiestniť pod nimi. Pri mikrofotografiách text obsahuje aj údaje o mierke a technike farbenia. Hlavné objekty, zmeny a zistenia sa v mikrofotografiách označujú šípkou alebo iným symbolom, ktorý je vysvetlený v legende.

Ak sa nejedná o vlastný obrázok/fotografiu, pre každý obrázok/fotografiu sa v legende uvádza zdroj.

Tabuľky je kvôli prípadným technickým komplikáciám potrebné vyhotoviť v programe MS Word (nesmú byť do textu vložené ako obrázok).

Etické aspekty. Pri popise experimentov vykonávaných na zvieratách sa uvádza, či boli schválené etickou komisiou a či boli dodržané príslušné aktuálne legislatívne opatrenia, ktoré sa vzťahujú na túto oblasť ako aj číslo povolenia Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR. Pri klinických štúdiách sa uvádza, či boli schválené príslušnou etickou komisiou.

Štatistika. Pri opise použitých štatistických metód sa uvádzajú informácie potrebné na to, aby si informovaný čitateľ mohol na základe pôvodných výsledkov overiť ich správnosť.

ŠTRUKTÚRA PRÍSPEVKOV

Každý príspevok má byť tematicky kompletný. Odporúčaný rozsah pre odborný článok (pôvodnú štúdiu) je 12 strán, pre prehľadový článok 15 strán a pre kazuistiku 7 strán.

Hlavný text príspevku sa začína názvom príspevku v slovenskom alebo v českom jazyku a následne sa uvedie názov v jazyku anglickom, ktorý má byť stručný a výstižný (veľké tučné písmená, veľkosť písma 14, zarovnanie na stred). Pod názvom sa uvádzajú celé mená autorov (priezvisko, krstné meno/mená), pod nimi pracovné zaradenie autorov (inštitúcia) a štát a nakoniec e-mailová adresa prvého/korešpondujúceho autora (všetko zarovnané na stred). Pri empiricky orientovaných štúdiách je potrebné dodržať usporiadanie rukopisu do nasledovných častí: **ABSTRAKT, ÚVOD, MATERIÁL A METÓDY, VÝSLEDKY, DISKUSIA, ZÁVERY, (POĎAKOVANIE), ZOZNAM LITERATÚRY**.

Každý nadpis sa uvádza na osobitnom riadku (veľké tučné písmo, veľkosť 12). Nad ním a pod ním sa vynechá voľný riadok. Každý odsek začína zarážkou

ABSTRAKT

Vyžaduje sa abstrakt v angličtine (tučné písmo, veľkosť 12). Jeho dĺžka by nemala presiahnuť 250 slov. Abstrakt stručne prezentuje cieľ a relevantnosť štúdie, základné postupy, hlavné zistenia a vyvodené závery. Zdôrazňuje nové a dôležité aspekty štúdie a pozorovaní.

Key words: Kľúčové slová (3−10) sa uvádzajú v slovenskom resp. českom a v anglickom jazyku v abecednom poradí pod abstraktom, od ktorého sú oddelené jedným voľným riadkom. Oddeľujú sa bodkočiarkou.

ÚVOD

Uvádza sa stručný prehľad problematiky. Namiesto podrobného literárneho prehľadu je vhodnejšie sústrediť sa na striktne relevantné zdroje bez zahrnutia podrobných údajov a záverov prezentovaných v týchto zdrojoch. Úvod sa má končiť cieľom, ktorý si autori vytýčili.

MATERIÁL A METÓDY

Prezentuje sa podrobný popis a charakteristika objektov pozorovania/experimentov, vrátane kontrol. Identifikujú sa použité metódy, prístroje (meno a adresa výrobcu v zátvorke) a postupy s dostatočnými podrobnosťami na to, aby ich bolo možné reprodukovať. Citujú sa zavedené metódy a ich zdroje a stručne sa opisujú metódy, ktoré boli publikované, ale nie sú veľmi známe. Poskytuje sa kompletný opis nových alebo podstatne modifikovaných metód, dôvody ich použitia a ich prípadné obmedzenia. Presne sa identifikujú všetky použité liečivá a chemikálie vrátane ich generického názvu, dávky a spôsobu podávania.

Poskytujú sa kompletné informácie o štatistických metódach a opatreniach použitých vo výskume.

VÝSLEDKY

Pri uvádzaní výsledkov sa používa medzinárodný systém jednotiek (SI).

Prezentácia výsledkov má byť výstižná, s logickou nadväznosťou a využívaním tabuliek a názorných grafov. V tabuľkách a grafoch je potrebné vyhnúť sa duplicite prezentovaných výsledkov. V texte sa zdôrazňujú a sumarizujú len dôležité pozorovania. Tam, kde je to vhodné/potrebné, tabuľky majú obsahovať výsledky štatistickej analýzy (hladiny významnosti

DISKUSIA

Zdôrazňujú sa nové a dôležité aspekty štúdie, ktoré vedú ku konečným záverom. Je potrebné sa vyhnúť podrobnému opakovaniu údajov už spomenutých v častiach Úvod a Výsledky. Diskusia má obsahovať zhrnutie prezentovaných zistení,

relevantné obmedzenia a význam týchto zistení pre ďalší výskum. Výsledky štúdie sú porovnávané s publikovanými výsledkami iných autorov.

ZÁVERY

Dávajú sa do súvislosti závery s cieľom štúdie. Je potrebné sa vyhnúť nekvalifikovaným vyhláseniam a záverom, ktoré nie sú plne podporované získanými údajmi. Tam, kde je to vhodné, môžu sa uvádzať odporúčania.

POĎAKOVANIE

(Kurzívou) Ak je to potrebné, uvádza sa poďakovanie (grant, špeciálne analýzy, technická podpora...).

ZOZNAM LITERATÚRY

Všetky zdroje uvedené v zozname musia byť citované v texte.

Použité zdroje sa v zozname uvádzajú v abecednom poradí (podľa priezviska prvého autora), a každý z nich sa začína písať na nový riadok s odsadením. Zdroje musia obsahovať priezviská a iniciály všetkých autorov. Neodporúča sa použiť nadmerný počet citácií na podporu jedného vyhlásenia.

Od autorov sa vyžaduje použitie iba overiteľných a recenzovaných zdrojov z celosvetovo akceptovaných vedeckých databáz.

V texte sa cituje/ú autor/i priezviskom a rok publikovania. V slovenskom a českom jazyku sa používajú spojky „a“ a „a kol.“, ak je rukopis v anglickom jazyku spojky „and“ a „et al.“. Viacnásobné citácie sa uvádzajú v chronologickom poradí (od najstaršej po najnovšiu).

Pri písaní zdrojov štýl a interpunkcia má zodpovedať príkladom uvedeným nižšie:

Časopis (vedecký/odborný): Priezvisko/á a iniciála/y autora /ov. Celý názov článku, názov časopisu (kurzívou), rok publikácie, ročník a príslušné strany. Číslo časopisu sa uvedie (v zátvorke) len vtedy, keď sa v časopise neuvádza ročník. Možno uviesť skrátený názov časopisu, ak sa takýto nachádza v štandardnom ISO zozname skrátených názvov časopisov. ISSN číslo sa nevyžaduje:

Bagirova, V. L., Miťkina, L. I.: Determination of Tartrazine in drugs. *Pharm. Chem. J.* 2003, 37, 558 – 559.

Vetulani, J.: Drug addiction, part II. Neurobiology of addiction. *Pol. J. Pharmacol.*, 2001, 53 (4), 303 – 317.

Pri zdrojoch v slovenskom alebo českom jazyku je potrebné do hranatej zátvorky uviesť názov článku/ knihy a i.

Zummerová, A., Kolesárová, M.: Adherencia pacientov k liečbe reumatoidnej artritídy [Adherence of patients to the therapy of rheumatoid arthritis]. *Folia Pharmaceutica Cassoviensia*, 2020, 2 (3), 69 – 78.

Kniha (editovaná, needitovaná):

Mená a iniciály autorov citovanej časti knihy, autori/editori knihy, názov knihy (kurzívou), miesto vydania, vydavateľ, rok vydania, celkový počet strán alebo citované strany (ISBN sa nevyžaduje):

Choi, C. K., Dong, M. W.: Chapter 5 – Sample preparation for HPLC analysis of drug products. In Ahuja, S., Dong, M. W. (Eds.). *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. United Kingdom: Elsevier, 2005. 123–144.

Podczeck, F., Jones, B. E.: Pharmaceutical Capsules, 2nd edn., *Pharmaceutical Press*, 2004. 66–67.

Zborník z konferencie: Mená a iniciály autorov. Celý názov článku. Názov zborníka/konferencie, miesto a dátum konania, rok publikácie, celkový počet strán alebo citované strany:

Canganella, F., Balsamo, R.: Isolation and selection of probiotic microorganisms with antagonistic activity against *Paenicibacillus larvae* and *Paenicibacillus alvei*. In *Proceedings of the International Probiotic Conference: Probiotics for the 3rd Millenium, High Tatras*, Slovakia, June 4 – 7, 2008, 28 – 29.

Online časopis:

Simon, J. A., Hudes, E. S.: Relationship of

ascorbic acid to blood lead levels. *JAMA* 1999, 281, 2289 – 2293. http://url. Accessed July 11, 2009.

Pri zdroji v slovenskom/českom jazyku sa uvádza [cit. 2021-01-30].

Online website:

King, M. W.: *The Medical Biochemistry Page*. http://themedicalbiochemistrypage.org. Updated July 14, 2009. Accessed July 14, 2009.

PREHĽADOVÉ ČLÁNKY

Publikujú sa aj články, ktoré prezentujú súhrnné informácie o významných aspektoch vo farmácii a medicíne s relevantnou historickou perspektívou. Odporúčaná štruktúra prehľadových článkov je nasledovná:

NÁZOV/AUTORI – názov (aj v angličtine) má byť stručný a informatívny.

ABSTRAKT (v angličtine) – uvádza ciele a výsledky prehľadu s kľúčovými slovami (3-10).

ÚVOD – poskytuje informácie o kontexte, indikuje motiváciu autora/autorov prehľadu, definuje príslušné zameranie a otázky pre výskum a vysvetľuje štruktúru textu.

MATERIÁL A METÓDY – opisuje/sumarizuje metódy použité pre lokalizáciu, získavanie, selekciu a syntetizovanie údajov.

Hlavná časť prehľadového článku – pre prehľadnosť sa používajú relevantné podnadpisy.

ZÁVER – Zodpovedanie otázok pre výskum, položených v úvode.

ZOZNAM LITERATÚRY – Potvrdzuje práce iných vedcov – zabraňuje obvineniam z plagiátorstva. Neodporúča sa použiť viac ako 100 literárnych zdrojov.

KAZUISTIKY

Publikujú sa aj články, ktoré prezentujú správy o výnimočnom prípade určitého liečiva, resp. substancie či zmesi a jej neobvyklého účinku alebo opis zaujímavého klinického prípadu, choroby a pod. Odporúčaná štruktúra kazuistík je nasledovná:

NÁZOV/AUTORI – názov (aj v angličtine) má byť stručný a informatívny.

ABSTRAKT (v angličtine) – skrátená verzia celého textu s kľúčovými slovami (3-10)

ÚVOD – vysvetľuje dôvody, pre ktoré bol daný prípad opísaný

OPIS PRÍPADU/PRÍPADOV – hlavná časť kazuistiky - uvádza sa priebeh, liečba, prognóza a ukončenie prípadu

DISKUSIA – zdôrazňujú sa zaujímavé aspekty prípadu

ZÁVER – opisujú sa súvislosti medzi hlavnými zisteniami/pozorovaniami a cieľom práce

ZOZNAM LITERATÚRY

RECENZIA

Publikujú sa aj kritické rozbory odborného diela (napr. knihy, článku), ktoré obsahujú odôvodnené hodnotenie. Odporúčaná štruktúra recenzie je nasledovná:

ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE – uvádza sa názov knihy (článku, časopisu), mená autorov (priezvisko, iniciály), miesto vydania a názov vydavateľstva, rok vydania, počet strán, odporúčaná cena, ISBN

OBSAH KNIHY (ČLÁNKU, ČASOPISU) – opisujú sa dôležité informácie, napr. čím kniha (článok, časopis) recenzenta zaujala/sklamala.

VÝZNAM KNIHY (ČLÁNKU, ČASOPISU) – uvádza sa jej využitie pre odbornú verejnosť.

Redakčná rada