

# FOLIA

## PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

Vedecký časopis  
UNIVERZITY VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA  
A FARMÁCIE V KOŠICIACH

ISSN 2585-9609

ISSN 2729-790X



3  
VIII • 2026



**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:**

**Výkonná redaktorka/Deputy/Managing Editor:**

**Redakčná rada/Editorial Board:**

*Jozef Nagy*

*Jana Koščová*

*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 Naggat, El M. B. A. (Damanshour, 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). Šekeroğlu, 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:**

Malcovská, J., tel.: +421 915 991 461, e-mail: jana.malcovska@uvlf.sk

**Grafická úprava/graphic design:**

Báštiová, I.

**ISSN:** 2585-9609, 2729-790X

**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>.

# FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

VYDÁVA  
UNIVERZITA VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA A FARMÁCIE V KOŠICIACH  
SLOVAKIA



FOLIA  
PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA  
VIII., 3, 2026

PUBLISHED BY  
THE UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE AND PHARMACY IN KOŠICE  
2026



O B S A H

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Majtánová, Katarína; Bačkorová Pavlovič, Barbora; Bačkorová, Miriam:<br>ANALÝZA PRESKRIPCIE ANTIHYPERTENZÍV SO ZAMERANÍM NA MONOTERAPIU<br>A FIXNÉ KOMBINÁCIE<br>ANALYSIS OF ANTIHYPERTENSIVE PRESCRIBING WITH A FOCUS ON MONOTHERAPY<br>AND FIXED-DOSE COMBINATIONS .....                                                                                                                                                                | 5   |
| Havdo, Jurij; Váczi, Peter:<br>INCIDENCIA REINFARKTOV MYOKARDU PRI RÔZNYCH MODALITÁCH<br>DUÁLNEJ ANTIAGREGAČNEJ LIEČBY<br>INCIDENCE OF RECURRENT MYOCARDIAL INFARCTIONS IN DIFFERENT<br>MODALITIES OF DUAL ANTIPLATELET THERAPY .....                                                                                                                                                                                                     | 15  |
| Krivjančinová, Sidónia; Szabóová, Renáta; Faixová, Zita:<br>SPÔSOBY DIAGNOSTIKY A FARMAKOTERAPIE REFLUXNEJ CHOROBY PAŽERÁKA<br>U DOSPELÝCH PACIENTOV<br>METHODS OF DIAGNOSTIC AND PHARMACOTHERAPY OF GERD IN ADULT PATIENTS.....                                                                                                                                                                                                          | 23  |
| Faixová, Zita; Boháčiková, Simona; Faixová, Dominika; Szabóová, Renáta:<br>NOVÉ TRENDY V TERAPII KARCINÓMU PRSNÍKA INHIBÍTORMI CDK4/6<br>NOVEL TRENDS IN BREAST CANCER THERAPY USING CDK4/6 INHIBITORS .....                                                                                                                                                                                                                              | 36  |
| Vantová, Jana; Laca Megyesi, Štefánia; Takáč, Peter; Takáčová, Gabriela:<br>PREVENCIA, SKRÍNING A LIEČBA MELANÓMU<br>PREVENTION, SCREENING AND TREATMENT OF MELANOMA.....                                                                                                                                                                                                                                                                 | 47  |
| Kosturíková, Diana; Bhide, Katarína; Bhide, Mangesh:<br>EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS IN <i>IN VITRO</i> BLOOD-BRAIN<br>BARRIER MODELS: A REVIEW .....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 55  |
| Miškufová, Viktória; Zigová, Martina; Budovská, Mariana; Mojžiš, Ján; Kudličková, Zuzana;<br>Vilková, Mária; Michalková, Radka:<br>INDOLY AKO PRIVILEGOVANÁ ŠTRUKTÚRA V ONKOFARMAKOLÓGII: EXPERIMENTÁLNE<br>HODNOTENIE NOVÝCH DERIVÁTOV S REDOXNE ZÁVISLÝM CYTOTOXICKÝM ÚČINKOM<br>INDOLES AS A PRIVILEGED SCAFFOLD IN ONCOPHARMACOLOGY: EXPERIMENTAL<br>EVALUATION OF NOVEL DERIVATIVES WITH REDOX-DEPENDENT<br>CYTOTOXIC ACTIVITY ..... | 75  |
| Homolya, Viktória; Franko, Ondrej; Čižmáriková, Martina; Kello, Martin; Lešková, Beáta; Gabzdilová,<br>Juliana; Homolya, Atila David:<br>INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CALCITRIOL IN RELATION TO ABCB1-MEDIATED<br>DRUG RESISTANCE .....                                                                                                                                                                                                | 86  |
| Novotná Katarína, Falis Marcel:<br>STANOVENIE TOXICITY LÁTOK UŽÍVANÝCH NA LIEČBU VYSOKÉHO CHOLESTEROLU<br>DETERMINATION OF THE TOXICITY OF DRUGS USED FOR THE TREATMENT OF HIGH<br>CHOLESTEROL LEVEL .....                                                                                                                                                                                                                                | 98  |
| Barabášová, Nikola; Mačková, Zuzana; Krivošová, Michaela; Laca Megyesi, Štefánia; Gazdová, Mária:<br>ÚLOHA FARMACEUTA PRI POSKYTOVANÍ LEKÁRENSKEJ STAROSTLIVOSTI<br>O PACIENTOV S OCHORENÍM <i>DIABETES MELLITUS</i> 2. TYPU<br>THE ROLE OF THE PHARMACIST IN THE PHARMACEUTICAL CARE OF PATIENTS WITH<br>TYPE 2 <i>DIABETES MELLITUS</i> .....                                                                                           | 104 |
| Pokyny pre autorov .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 113 |



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

# ANALÝZA PRESKRIPCIE ANTIHYPERTENZÍV SO ZAMERANÍM NA MONOTERAPIU A FIXNÉ KOMBINÁCIE

## ANALYSIS OF ANTIHYPERTENSIVE PRESCRIBING WITH A FOCUS ON MONOTHERAPY AND FIXED-DOSE COMBINATIONS

Majtánová, Katarína<sup>1</sup>; Bačkorová Pavlovič, Barbora<sup>2</sup>; Bačkorová, Miriam<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; <sup>2</sup>Interná klinika, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice, Slovenská republika

### OPEN ACCESS

\*Korešpondenčný autor: [miriam.backorova@uvlf.sk](mailto:miriam.backorova@uvlf.sk)

**Citovanie:** Majtánová, K., Bačkorová Pavlovič, B., Bačkorová, M.: Analýza preskripcie antihypertenzív so zameraním na monoterapiu a fixné kombinácie. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 5 – 14.

**Prijaté:** 02.06.2026

**Akceptované:** 14.06.2026

**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Majtánová, K., Bačkorová Pavlovič, B., Bačkorová, M. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**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.

### ABSTRAKT

Artériová hypertenzia predstavuje najčastejšie sa vyskytujúce ochorenie kardiovaskulárneho systému v populácii a je charakterizovaná zvýšenými hodnotami krvného tlaku (TK) v organizme. Cieľom práce bolo analyzovať preskripčné záznamy (PZ), ktoré obsahovali antihypertenzívne liečivá počas obdobia jedného roka vo verejnej lekárni v Martine. Z celkového množstva 8 005 receptov predpísaných 4 001 pacientom, bola zistená prevaha ženského pohlavia 59,08 % (2

364 pacientiek). Muži predstavovali 40,92 % (1 637 pacientov). Najviac zastúpená skupina pacientov podľa veku bola v rozmedzí 71 – 80 rokov. Z hľadiska diagnózy sa najčastejšie vyskytovala I10.00 - benígna primárna artériová hypertenzia, bez hypertenznej krízy. Najväčší podiel na preskripcii antihypertenzív mali všeobecní lekári 75,64 %. Fixné kombinácie antihypertenzívnych liečiv tvorili 36,22 % (1 940 receptov), zvyšok patrilo stále dominujúcej monoterapii 63,78 % (3 417 receptov). Spomedzi fixných kombinácií bola najčastejšie zaznamenaná dvojkombinácia, inhibítor angiotenzín-konvertujúceho enzýmu (ACEi) + blokátor kalciových kanálov (BKK), ktorá predstavovala 41,33 % (711 receptov).

**Kľúčové slová:** antihypertenzíva; artériová hypertenzia; fixné kombinácie liečiv

### ABSTRACT

Arterial hypertension is the most common cardiovascular disease in the population and is characterized by elevated blood pressure (BP) values in the body. The aim of the study was to analyze prescription records (PRs) containing antihyper-

tensive drugs during a one-year period in a public pharmacy in Martin. Out of a total of 8,005 prescriptions prescribed to 4,001 patients, a female predominance of 59.08% (2,364 female patients) was found. Men accounted for 40.92% (1,637 patients). The most represented group of patients by age was in the range of 71 – 80 years. In terms of diagnosis, the most common was I10.00 - benign primary arterial hypertension, without hypertensive crisis. The largest share of antihypertensive drug prescriptions was held by general practitioners (75.64%). Fixed combinations of antihypertensive drugs accounted for 36.22% (1,940 prescriptions), the rest belonged to the still dominant monotherapy 63.78% (3,417 prescriptions). Among fixed combinations, the most frequently recorded dual combination was angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEi) + calcium channel blocker (CCB), which accounted for 41.33% (711 prescriptions).

**Key words:** antihypertensives; arterial hypertension; fixed-dose antihypertensive combinations

## ÚVOD

Artériová hypertenzia sa radí medzi ochorenia kardiovaskulárneho systému. Charakterizuje ju chronické zvýšenie TK na úroveň 140/90 mmHg a vyššie. Vzhľadom na to, že hypertenzia je často asymptomatická a nespôsobuje výrazné subjektívne ťažkosti, pacienti neraz podceňujú význam pravidelných lekárskeho kontrol a včasnej diagnostiky. Veľa z nich zanedbáva aj pravidelné preventívne prehliadky, ktoré by mohli na zvýšený TK upozorniť. Adekvátnu kontrolu artériovej hypertenzie dosahuje len približne 14 % populácie (Litvinová a kol., 2024). Vysoký TK postihuje aj mladšie vekové kategórie, pričom do veku 50 rokov je frekvencia vyššia u mužov. Výrazný nárast prevalence hypertenzie u žien je najmä po 65. roku života (Yeo a kol., 2024). Artériová hypertenzia sa delí na primárnu a sekundár-

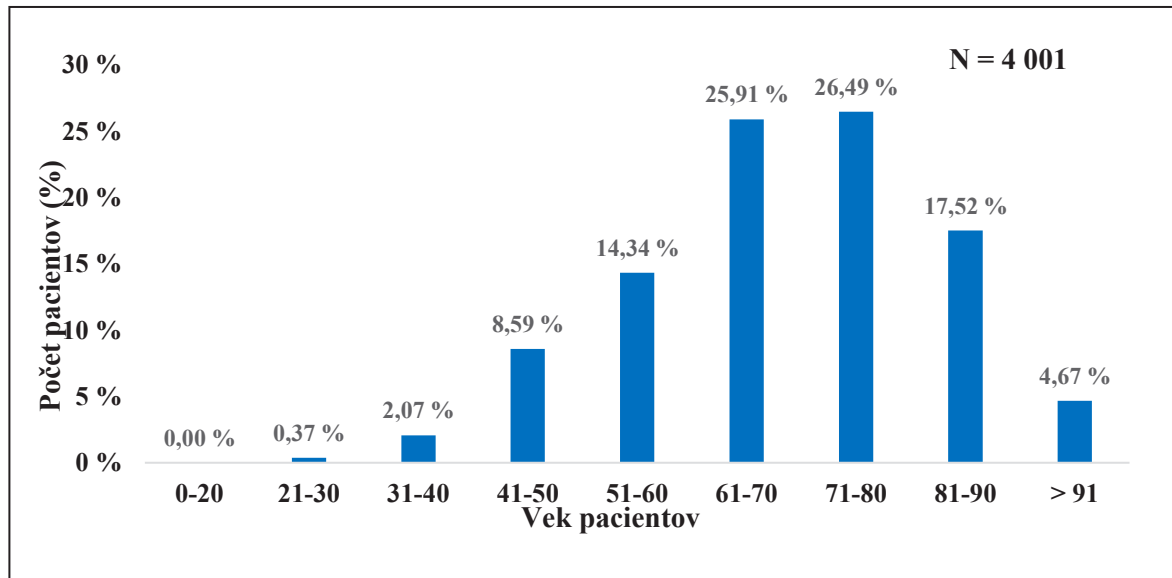
nu. Vo svete prevláda primárna hypertenzia. Na jej vzniku sa môžu podieľať mnohé faktory, napr. poruchy RAAS (systém renín-angiotenzín-aldosterón), hyperaktivita sympatikového nervového systému, zvýšená rezistencia periférnych ciev, nerovnováha hormonálnych mechanizmov a i. Sekundárna hypertenzia sa rozvíja ako dôsledok iných ochorení (ochorenia obličiek, poruchy endokrinného systému) (Mancia a kol., 2023).

Neliečená artériová hypertenzia sa radí k primárnym rizikovým faktorom rozvoja ischemickej choroby srdca, infarktu myokardu a náhlych cievnych mozgových príhod. Kontrola TK je preto esenciálnym krokom v prevencii týchto život ohrozujúcich komplikácií (Litvinová a kol., 2024).

Liečba hypertenzie môže byť farmakologická aj nefarmakologická. Efektívna a správna liečba hypertenzie je založená na dosiahnutí odporúčaných hodnôt TK a aj na ich ďalšom udržiavaní. Zlyhanie pri dosahovaní cieľových hodnôt TK býva podmienené kombináciou nízkej compliance pacienta, neadekvátne zvolenej medikácie či pretrvávajúcimi rizikovými faktormi v správaní pacienta, predovšetkým v oblasti stravovania a fyzickej aktivity. Farmakologická liečba zahŕňa liečbu antihypertenzívami, a to buď v monoterapii alebo v kombinovanej terapii. Súčasné odporúčania odborných spoločností (napr. Európska spoločnosť pre hypertenziu (ESH)) uprednostňujú iniciáciu liečby formou fixných kombinácií, ktoré spájajú viacero účinných látok do jednej tablety. Vďaka súčasnému pôsobeniu rôznych farmakologických skupín je možné dosiahnuť terapeutický cieľ pri nižšom dávkovaní, čo má priamy súvis s redukciou vedľajších účinkov a aj toxicity. Prechod na režim „single-pill“, čiže jednu tabletu denne, je významným faktorom lepšej spolupráce pacienta, čím sa eliminuje riziko vynechania dávky (Mancia a kol., 2023).

Cieľom štúdie bola analýza PZ, ktoré boli zhromaždené vo verejnej lekární v Martine počas obdobia 1 roka. Kľúčovou súčasťou práce bola hĺbková analýza indikovaných antihypertenzív, so zameraním na fixné kombinácie liečiv.

**Graf 1: Grafické znázornenie vekového zloženia pacientov**



## MATERIÁL A METÓDY

Dáta potrebné pre vypracovanie tejto štúdie pochádzali z lekárne situovanej v meste Martin. Lekáreň sa nachádza v budove polikliniky, kde sídli aj niekoľko všeobecných lekárov, internistov a jeden kardiológ. Údaje boli získavané počas 1 roka, v období od 1.4.2024 do 31.3.2025, s využitím lekárenského systému WinLss. Použité boli len údaje z preskripčných záznamov, ktoré obsahovali diagnózy I10.00, I10.01, I10.10, I10.11, I10.90 a I10.91 podľa Medzinárodnej klasifikácie chorôb 10 (MKCH-10 (ICD-10 Version: 2016)).

Celkovo bolo vyselektovaných 8 005 preskripčných záznamov, ktoré boli predpísané 4 001 pacientom s primárnou artériovou hypertenziou. Zo zozbieraných dát sa ďalej analyzoval vek a pohlavie pacientov, diagnóza primárnej artériovej hypertenzie a lekár, ktorý antihypertenzívum predpísal. Spomedzi lekárov boli v sfére záujmu iba recepty od internistov, všeobecných lekárov a kardiológov. Následne sa hodnotila preskripcia liečiv, so zameraním na monoterapeutický režim alebo liečbu prostredníctvom fixných dvojkombinácií a trojkombinácií liečiv v jednej tablete. Získané výsledky boli pomocou programu Microsoft Excel transformované do grafov a tabuliek, a ďalej analyzované. Všetky údaje od pacientov boli

spracované v súlade so zákonom č. 18/2018 Z.z. o ochrane osobných údajov a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov.

## VÝSLEDKY

### Charakterizácia pacientov

Celkový počet pacientov zúčastnených vo výskumnej časti predstavoval 4 001 jedincov. Z hľadiska pohlavia dominovali ženy v počte 2 364 (59,08 %), zatiaľ čo muži tvorili menšiu časť, 1 637 pacientov, čo predstavuje 40,92 % celkovej vzorky. Najviac zastúpená skupina podľa veku bola tvorená pacientmi vo vekovej kategórii 71 – 80 rokov, a to 26,49 % (1 060 pacientov). Druhý početný súbor tvorili účastníci vo vekovej kategórii 61 – 70 rokov: 25,91 % (1 037 pacientov). Ostatné vekové skupiny už boli zastúpené pod úrovňou 20 % a sú zobrazené v grafe 1. Najmladší pacient užívajúci antihypertenzívnu terapiu mal 24 rokov, zatiaľ čo najstarší pacient dosiahol vek až 101 rokov.

### Analýza preskripčných záznamov

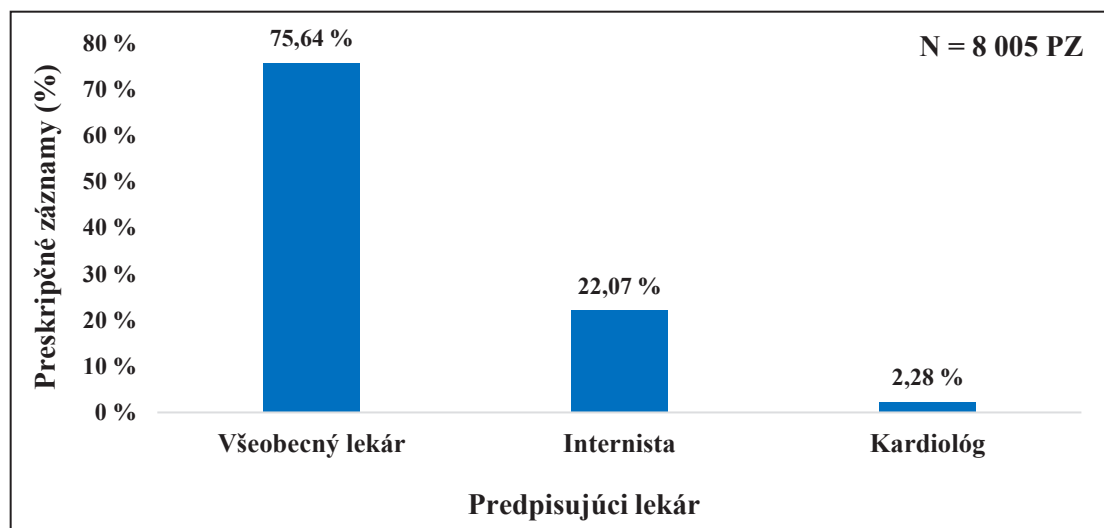
### Diagnózy artériovej hypertenzie

Preskripčné záznamy použité vo výskume zahŕňali výlučne primárnu artériovú hypertenziu. Zároveň mu-

**Tab. 1: Sledované diagnózy primárnej artériovej hypertenzie**

|                                                                                          |         |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| <b>I10.00</b> – Benígna primárna artériová hypertenzia, bez hypertenznej krízy           | 64,11 % |
| <b>I10.01</b> – Benígna primárna artériová hypertenzia, s hypertenznou krízou            | 0,35 %  |
| <b>I10.10</b> – Malígna primárna artériová hypertenzia, bez hypertenznej krízy           | 0,55 %  |
| <b>I10.11</b> – Malígna primárna artériová hypertenzia, s hypertenznou krízou            | 0,01 %  |
| <b>I10.90</b> – Primárna artériová hypertenzia, bližšie neurčená, bez hypertenznej krízy | 34,66 % |
| <b>I10.91</b> – Primárna artériová hypertenzia, bližšie neurčená, s hypertenznou krízou  | 0,31 %  |

**Graf 2: Analýza preskripcie antihypertenzív na základe odbornosti lekára**



sel každý z nich spĺňať zaradenie do určitých skupín na základe diagnózy. Z celkového počtu 8 005 receptov sa najčastejšie vyskytovala benígna primárna artériová hypertenzia, bez hypertenznej krízy (**I10.00**), a to v 64,11 % (5 132 PZ). Naopak najmenej bola zastúpená malígna primárna artériová hypertenzia, s hypertenznou krízou (**I10.11**), ktorou trpel 1 pacient (0,01 %). Druhou najpočetnejšou diagnózou bola (**I10.90**) primárna artériová hypertenzia, bližšie neurčená, bez hypertenznej krízy, ktorá obsiahla 34,66 % (2 775 PZ). Celkové zastúpenie receptov pre spomínané diagnózy je zosumarizované v tabuľke 1.

### Predpisujúci lekári

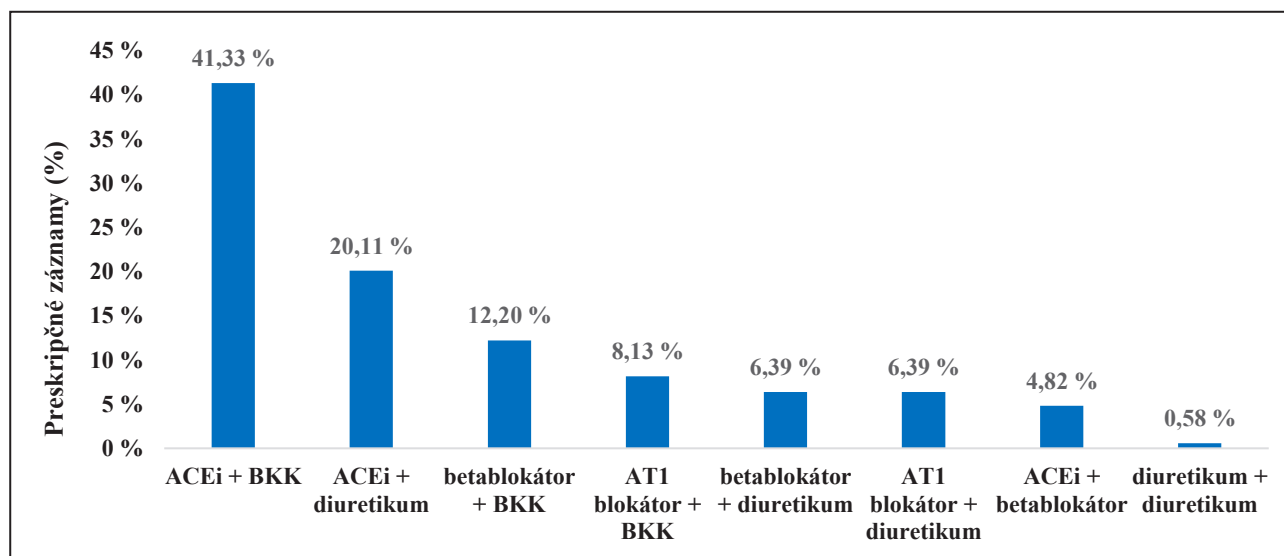
V rámci analýzy preskripčných záznamov bola sledovaná distribúcia receptov podľa odbornosti ošetrojúceho lekára. Dominantné postavenie v procese preskripcie mali všeobecní lekári pre dospelých, ktorí vystavili celkovo 6 055 záznamov (75,64 %).

Druhú najväčšiu skupinu tvorili internisti so 1 767 receptami (22,07 %). V najnižšom zastúpení boli kardiologické ambulancie s podielom 183 záznamov (2,28 %) (viď graf 2).

### Hodnotenie preskripcie jednotlivých antihypertenzív

#### Analýza fixných kombinácií antihypertenzívnych liečiv

Hlavným predmetom analýzy predpisovanej farmakoterapie bolo hodnotenie zastúpenia fixných kombinácií v porovnaní s využívaním monoterapie. V súčasnosti sú odporúčania preferovať fixné kombinácie, pri ktorých dochádza k spojeniu dvoch alebo viacerých liečiv do jednej tablety. Analýza štruktúry receptov preukázala, že takmer jedna tretina všetkých záznamov, presnejšie 32,10 % (1 720 PZ), tvorili fixné dvojkombinácie. Najčastejšie

**Graf 3: Fixné dvojkombinácie antihypertenzív**

Legenda: ACEi – inhibitor angiotenzín-konvertujúceho enzýmu, BKK – blokátor kalciových kanálov, AT1 blokátor – blokátor receptora pre angiotenzín II

**Tab. 2: Fixné trojkombinácie antihypertenzív**

| Fixné trojkombinácie            | Preskripčné záznamy (%) |
|---------------------------------|-------------------------|
| ACEi + BKK + diuretikum         | 98,18 %                 |
| AT1 blokátor + BKK + diuretikum | 1,81 %                  |

Legenda: ACEi – inhibitor angiotenzín-konvertujúceho enzýmu, BKK – blokátor kalciových kanálov, AT1 blokátor – blokátor receptora pre angiotenzín II

využívanou kombináciou bola dvojkombinácia ACEi + BKK, ktorá sa vyskytovala v 41,33 % (711 PZ) (viď graf 3). Čo sa týka zastúpenia jednotlivých liečiv, najčastejšie sa vyskytovalo spojenie látok perindopril a amlodipín (37,96 %), perindopril a indapamid (17,21 %).

Okrem fixných dvojkombinácií sa v PZ nachádzali aj fixné trojkombinácie. Spomedzi všetkých PZ tvorili 4,10 % (220 PZ). Pozorované bolo zastúpenie len dvoch kombinácií antihypertenzívnych skupín: ACEi + BKK + diuretikum 98,18 % (216 PZ) a AT1 blokátor + BKK + diuretikum v prípade 4 preskripčných záznamov (1,81 %) (viď tab. 2). Dominantné postavenie v preskripcii fixných trojkombinácií zaznamenala kombinácia účinných látok perindopril, indapamid a amlodipín s celkovým podielom 95,9 %.

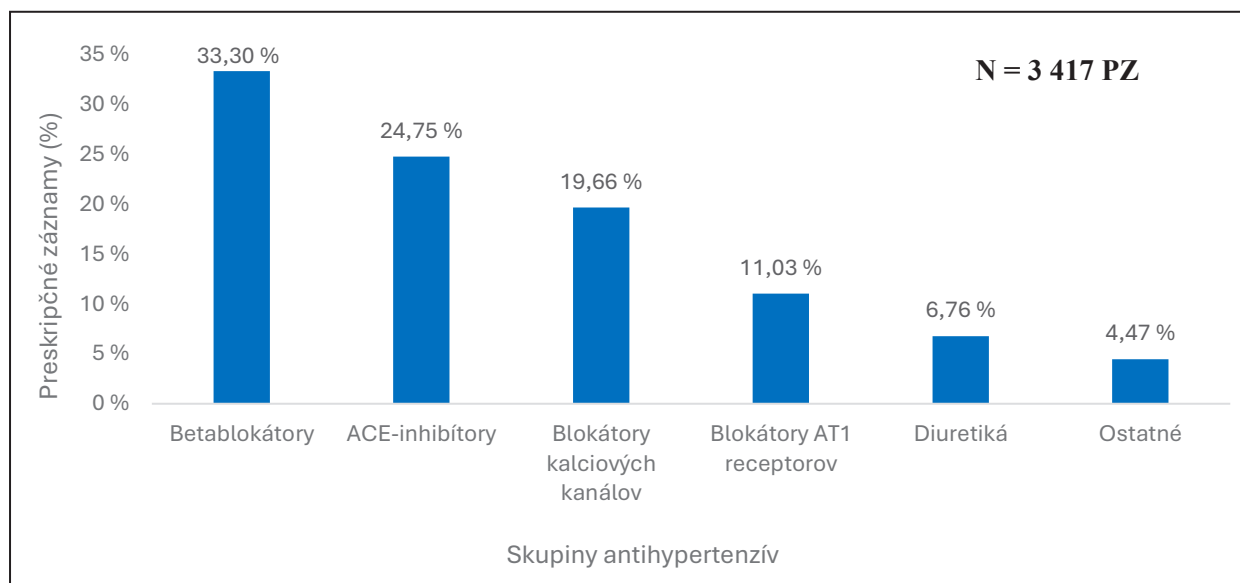
#### Analýza monoterapie antihypertenzívnych liečiv

Monoterapia, podávanie jedného antihyperten-

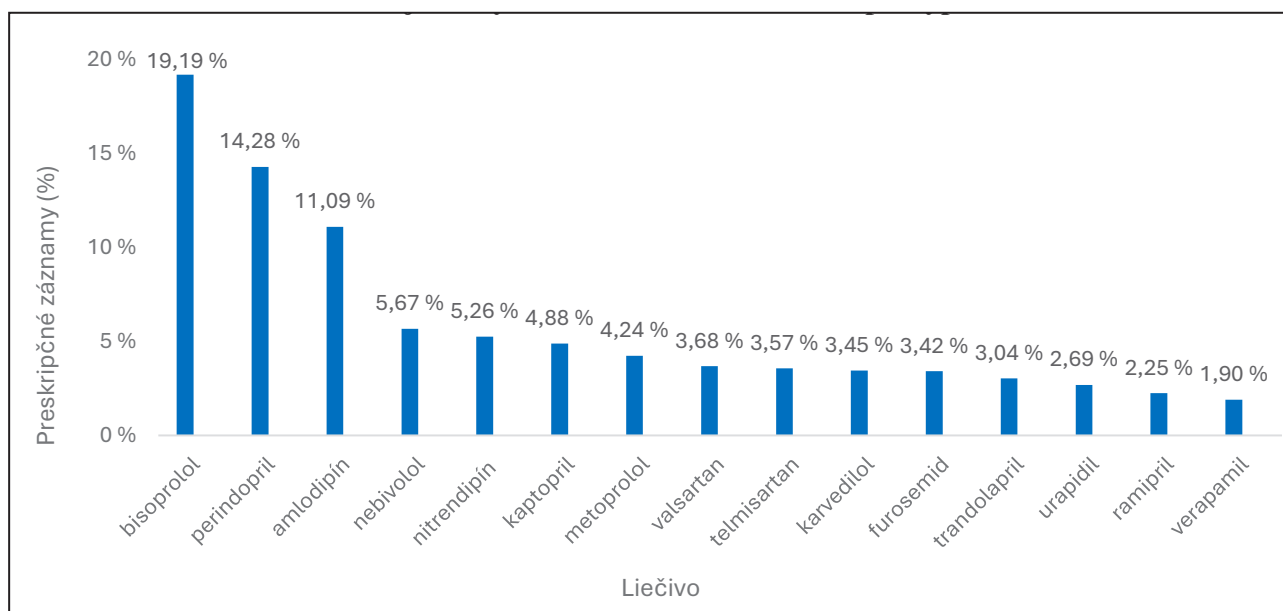
zíva, stále predstavuje vysoký podiel v preskripcii, pričom tvorí 63,78 % (3 417 PZ) zo všetkých PZ. Z hľadiska farmakologických skupín boli najčastejšie predpisovanou farmakologickou skupinou betablokátory, ktoré dosiahli 33,30 % (1 138 PZ). Druhú najpočetnejšiu skupinu predstavovali ACEi, so zastúpením 24,75 % (846 PZ). Tretou skupinou boli BKK, ktoré tvorili 19,66 % (672 PZ). Blokátory AT1 receptorov (sartany) dosiahli podiel 11,03 % (377 PZ). V pomerne malej miere sa objavili aj diuretiká, tvorili najmenší počet 6,76 % (231 PZ) (viď graf 4).

V rámci monoterapie bolo taktiež hodnotené aj predpisovanie jednotlivých liečiv, nielen farmakologických skupín. V analyzovanej vzorke bol najväčší výskyt zaznamenaný v prípade bisoprololu zo skupiny betablokátorov, ktorý tvoril 19,19 % (656 PZ). Za ním nasledoval perindopril (ACEi) s podielom 14,28 % (488 PZ) a v poradí tretí bol amlodipín

**Graf 4: Preferované farmakologické skupiny v monoterapii hypertenzie**



**Graf 5: Najviac využívané liečivá v monoterapii hypertenzie**



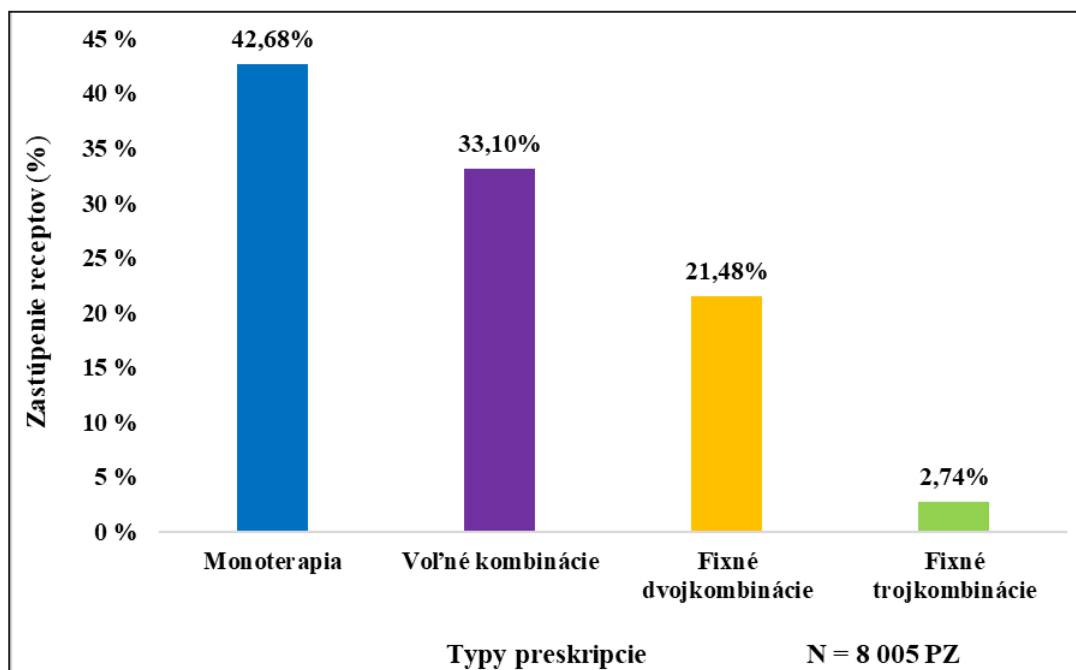
(BKK) s 11,09 % (379 PZ). Ostatné liečivá, ktorých individuálne zastúpenie nepresiahlo 10 %, sú podrobne uvedené v grafe 5.

### Celková analýza preskripcie

Ako dokazuje graf 6, z celkového prehľadu preskripcie antihypertenzív vyplýva jednoznačná dominancia monoterapie. Samostatne predpisované účinné látky tvorili najväčší podiel, a to 42,68 % všetkých prípadov (3 417 PZ). Druhou najčastejšie využívanou

stratégiou bola preskripcia voľných kombinácií, teda podávanie liečiv vo viacerých samostatných tabletách, ktorá predstavovala 33,10 % záznamov (2 644 PZ). V porovnaní s týmto prístupom sa fixné kombinácie využívali vo výrazne menšej miere. V rámci nich prevažovali fixné duálne kombinácie s podielom 21,48 % (1 720 PZ), pričom celkovo najmenšie zastúpenie v analyzovanom súbore vykazovali fixné trojkombinácie s podielom iba 2,74 % prípadov (220 PZ).

**Graf 6: Celkový prehľad preskripcie antihypertenzívnych liečiv**



## DISKUSIA

Artériovú hypertenziu definujeme ako stav prejavujúci sa opakovaným nameraním hodnôt TK siahajúcich na hranicu 140/90 mmHg a vyššie. V súčasnosti ide o najrozšírenejšiu diagnózu kardiovaskulárneho systému v populácii a častejšie sa vyskytuje vo forme primárnej artériovej hypertenzie. Udržiavanie správnej hodnoty TK je nesmierne dôležité pre dostatočné prekrvenie všetkých orgánov a tkanív, a ako prevencia ireverzibilného poškodenia orgánov (Mancia a kol., 2023). Podľa Národného centra zdravotníckych informácií (NCZI) bolo v roku 2024 na Slovensku zaznamenané najvyššie množstvo spotrebovaných liekov, ktoré sú hrazené z verejného zdravotného poistenia, práve pri liekoch určených na kardiovaskulárny systém. Za celý minulý rok (2024) to predstavovalo až 26,6 miliónov balení (NCZI, 2025).

Do obdobia puberty sa hodnoty TK medzi pohlaviami výrazne neodlišujú. Následne zvyknú mať vyššie zastúpenie hypertenzie najmä muži, čo sa potvrdilo aj v našich výsledkoch. Jedným z dôvodov môže byť predpokladaný ochranný účinok ženských

pohlavných hormónov – estrogénov (Connelly a kol., 2022). Hladiny estrogénov však po menopauze klesajú, preto môžu mať ženy v staršom veku vyššie percento výskytu hypertenzie (Yeo et al., 2024). V našej štúdii mali vyššie zastúpenie hypertenzie ženy.

Hypertenzia sa často vyskytuje u pacientov vo veku 65 rokov a viac a predstavuje rizikový faktor pre rôzne kardiovaskulárne ochorenia, ako sú srdcové zlyhávanie, fibrilácia predsiení, cievna mozgová príhoda, ochorenia obličiek a demencia. Okrem toho je hypertenzia u starších ľudí spojená so zrýchleným zhoršovaním zdravotného stavu (Guasti a kol., 2022). Vekové rozloženie potvrdzuje, že starší ľudia trpia vysokým TK častejšie ako mladšie ročníky. V sledovanej skupine pacientov bolo najvyššie zastúpenie hypertonikov vo vekovej kategórii 71 – 80 rokov. Konkrétne to bolo 26,49 % pacientov. Najmladší zaznamenaný pacient mal 24 rokov. V kategórii nad 80 rokov je už pacientov o niečo menej, ako v predošlej skupine, čo môže súvisieť s celkovou dĺžkou prežitia pacientov. Na Slovensku v roku 2024 predstavovala priemerná dĺžka života u mužov 74,7 roka a u žien 81,4 roka, pričom tieto údaje boli zverejnené Štatistickým úradom SR v roku 2025.

V našej štúdii boli PZ posudzované aj na základe predpísanej diagnózy. Celkovo bolo v rámci primárnej AH analyzovaných 6 diagnóz, najväčšie zastúpenie mala I10.00 – benígna primárna artériová hypertenzia, bez hypertenznej krízy, a to 64,11 %. Jedná sa o hypertenziu, ktorá nemá špecifickú príčinu vzniku, zväčša sa rozvíja kvôli kombinácii faktorov životného štýlu a genetiky. Označenie „bez hypertenznej krízy“ súvisí s absenciou momentálne prítomnej život ohrozujúcej situácie, súvisiacej s vysokým TK, ktorá by potrebovala náhlu hospitalizáciu (Mancia a kol., 2023). Druhou najčastejšie zastúpenou diagnózou v sledovanom súbore bola **I10.90** primárna artériová hypertenzia bez hypertenznej krízy (34,66 %). Tento výsledok je v súlade s epidemiologickými údajmi, ktoré poukazujú na vysokú prevalenciu hypertenzie vo vyšších vekových skupinách. Výskyt hypertenzie s vekom narastá v dôsledku fyziologických zmien kardiovaskulárneho systému, najmä zvýšenej tuhosti artérií a zníženej elasticity cievnej steny (Oliveros a kol., 2020).

Pri diagnostikovaní sekundárnej hypertenzie a pri starostlivosti o hypertenziu s komplikáciami je odporúčaná spolupráca so špecialistami. Všeobecní lekári majú v kompetencii komplexnú starostlivosť o pacientov s primárnou hypertenziou a hypertenziou bez komplikácií (Filipová a kol., 2014). Sledovali sme výlučne recepty predpísané všeobecným lekárom, internistom a kardiológom. Najviac PZ určených na terapiu hypertenzie pochádzalo od všeobecných lekárov, ďalej nasledoval internista a najmenej receptov bolo predpísaných kardiológom. Daný jav mohol byť spôsobený tým, že v budove polikliniky, kde sídli lekáreň, sa nachádza 9 všeobecných lekárov, dvaja internisti a len jeden kardiológ. Iným vysvetlením je delegovanie manažmentu pacientov s artériovou hypertenziou od špecialistov do rúk všeobecných lekárov, ktorí predstavujú prvý kontakt pacientov s lekárom.

Kľúčovú zložku predkladanej štúdie tvorila analýza terapie artériovej hypertenzie. Hlavným cieľom bola potreba zistiť či v rámci predpisovanej terapie prevláda monoterapia, čiže liečba jedným liečivom alebo

fixné kombinácie viacerých liečiv v jednej tablete. Po spracovaní dát bola zistená prevaha monoterapie so zastúpením 63,78 %. Fixné kombinácie tvorili zvyšných 36,22 %. V rámci našej analýzy tvorili fixné dvojkombinácie 32,10 % (1720 PZ), najčastejšie bolo zaznamenané spojenie ACEi + BKK a ACEi + diuretikum. Fixné trojkombinácie predstavovali iba 4,10 % (220 PZ) spomedzi všetkých PZ, z toho trojkombinácia ACEi + BKK + diuretikum 98,18 % (216 PZ) a AT1-blokátor + BKK + diuretikum 1,81 % (4 PZ). Iné spojenie troch liečiv v jednej tablete nebolo zaznamenané. Tieto zistenia korešpondujú s výsledkami iných výskumov. Štúdia realizovaná na Slovensku v roku 2024 taktiež potvrdila nižšie percento fixných kombinácií v porovnaní s monoterapiou, pričom fixné kombinácie tvorili 25,29 % predpísaných antihypertenzív (Hatalová a kol., 2024). Ešte nižšia prevalencia bola zaznamenaná v Nemecku. Mahfoud a kol. (2023) sa zaoberali analýzou využívania fixných kombinácií po zverejnení smerníc ESC/ESH o hypertenzii v roku 2018. Dva roky po implementácii smerníc predstavovalo množstvo predpísaných balení kombinovaných liečiv len 10,9 %. Poisťovňa Dôvera zverejnila dáta, ktorých hlavným obsahom bolo podobne ako v našom prípade, zhodnotenie preskripcie fixných kombinácií antihypertenzív. Spracované boli recepty v rokoch 2019 – 2021 na území Slovenska, ktoré spadali pod spomínanú poisťovňu. Preskripcia fixných kombinácií antihypertenzív na Slovensku mala rastúci charakter a v období sledovaných rokov stúpala zo 63,9 % na 66,6 %, čo predstavuje 2,7 %. V číslach to znamenalo navýšenie približne o 50 000 PZ. Najčastejšie sa v našich záznamoch vyskytovala dvojkombinácia ACEi + BKK. V rámci okresu Martin podľa informácií poisťovne, zas prevládala ACEi + diuretikum. Najfrekvencovanejšia trojkombinácia ACEi + BKK + diuretikum sa zhodovala s našim výskumom (Selvek a kol., 2023).

Smernice Európskej spoločnosti pre liečbu hypertenzie odporúčajú začatie terapie vysokého TK kombináciou dvoch liečiv (najčastejšie ACEi alebo AT1-blokátor + BKK alebo diuretikum), a to v jednej tablete. Pokiaľ nenastane úprava TK, zvýši sa

dávka. Ak nepostačuje navýšenie dávky, pridáva sa tretí liek. Vytvára sa najčastejšie kombinácia ACEi + BKK + diuretikum. Danú úpravu potrebuje 15 – 20 % hypertenzných pacientov. V prípade, že TK nie je dostatočne kompenzovaný trojkombináciou, môže sa pridať ešte štvrtý liek, väčšinou spironolaktón. To už hovoríme o rezistentnej hypertenzii (Mancia a kol., 2023). Po začatí terapie antihypertenzívami by mali byť pacienti kontrolovaní v mesačných intervaloch, až kým nedosiahnu odporúčanú hladinu TK. Následne sa interval môže predĺžiť na 3 až 6 mesiacov (Kurtkulagi a kol., 2020).

Výsledky štúdie poukazujú na stále nízke zastúpenie fixných kombinácií antihypertenzív v terapii vysokého TK. Skrínigové dáta navyše dokazujú, že takmer polovica (46 %) pacientov zaradených do antihypertenzívnej liečby, nedosahuje stanovené cieľové hodnoty TK (Beaney a kol., 2018).

## ZÁVER

Artériová hypertenzia predstavuje najviac rozšírené ochorenie kardiovaskulárneho systému vo svete. Nedostatočná, prípadne žiadna liečba hypertenzie, môže viesť k neskoršiemu rozvoju ochorenia, ako napr. ischemická choroba srdca, cievne mozgové príhody či infarkt myokardu. Dáta získavané počas obdobia jedného roka z prostredia verejnej lekárne sledovali využívanie fixných kombinácií liečiv v terapii artériovej hypertenzie. Z celkového množstva 4 001 pacientov, tvorili ženy 59,08 % a muži 40,92 %. Najviac PZ bolo predpísaných pacientom od 71 do 80 rokov. Na prvom mieste z hľadiska preskripcie antihypertenzív sa nachádzali všeobecní lekári. Súčasťou výskumu bolo 6 diagnóz primárnej arteriálnej hypertenzie, pričom najvyššie zastúpenie mala **I10.00** – benígna primárna artériová hypertenzia, bez hypertenznej krízy, ktorá predstavuje hypertenziu bez špecifickej príčiny vzniku. Najnovšie odporúčania kardiologických spoločností poukazujú na preferovanie fixných kombinácií viacerých liečiv v jednej tablete, čo vedie k lepšej adherencii a k nižšiemu výskytu nežiaducich účinkov u pacienta. Vo väčšine

případov však stále prevláda monoterapia. V našom výskume jej patrilo 63,78 % predpísaných receptov. Zvyšných 36,22 % tvorili fixné dvojkombinácie a fixné trojkombinácie. Najčastejšie sa v prípade dvojkombinácie predpisovali ACEi s BKK. Fixné trojkombinácie boli menej zastúpené a tvorené zlúčením farmakologických skupín ACEi + BKK + diuretikum. Hoci predpisovaná terapia fixných kombinácií antihypertenzívnych liečiv zodpovedala súčasným odporúčaniam, jej začlenenie do štandardnej farmakoterapie pacienta je stále nízke. Dôležitý je preto okrem správneho nastavenia terapeutického režimu, aj dohľad nad adherenciou pacienta k liečbe.

## Konflikt záujmov

Autori pre túto štúdiu neudávajú konflikt záujmov.

## Použitie nástrojov umelej inteligencie

Autori nepoužili nástroje generatívnej umelej inteligencie.

## Etické aspekty

Štúdia bola vykonaná v súlade so všetkými etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie.

## Financovanie

Na túto štúdiu nebolo potrebné financovanie.

## Príspevky autorov

K. Majtánová: písanie a úprava pôvodného textu, spracovanie dát, metodológia. B. Pavlovič Bačkorová: konceptualizácia, metodológia, vizualizácia. M. Bačkorová: revízia rukopisu, konceptualizácia, vizualizácia.

## ZOZNAM LITERATÚRY

Beaney, T., Schutte, A. E., Tomaszewski, M., Ariti, C., Burrell, L. M., Castillo, R. R., Charchar, F. J., Damasceno, A., Kruger, R., Lackland, D. T., Nilsson, P. M., Prabhakaran, D., Ramirez, A. J., Schlaich, M. P., Wang, J., Weber, M. A., Poulter, N. R., Napiza-Granada, C., Sevilla, M. R., Soares, M.:

May Measurement Month 2017: an analysis of blood pressure screening results worldwide. *The Lancet Global Health*, 2018, 6 (7), e736 – e743.

Connelly, P. J., Currie, G., Delles, C.: Sex Differences in the Prevalence, Outcomes and Management of Hypertension. *Current Hypertension Reports*, 2022, 24 (6), 185 – 192.

Filipová, S., Dukát, A., Foltán, V., Gajdošík, J., Jonáš, P.: Štandardný diagnostický a terapeutický postup. Odborné odporúčania pre klinickú prax. 59. metodický list racionálnej farmakoterapie. Artériová hypertenzia. *Herba*, 2014, 17, č. 1 – 3, 1 – 16.

Guasti, L., Ambrosetti, M., Ferrari, M., Marino, F., Ferrini, M., Sudano, I., Tanda, M.L., Parrini, I., Asteggiano, R., Cosentino, M.: Management of Hypertension in the Elderly and Frail Patient. *Drugs Aging*, 2022, 39, 763.

Hatalová, J., Kolesárová, M.: Analýza farmakoterapie esenciálnej hypertenzie. *Folia Pharmaceutica Cassoviensia*, 2024, (VI), 37 – 46.

*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision* (ICD-10 Version:2016). <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>.

Accessed October 27, 2016.

Kurtkulagi, O., Aktas, G., Bilgin, S., Meryem Atak, B., Taslamacioglu Duman, T., Emin Demirkol, M.: Combined antihypertensive treatment is better than mono-therapy in hypertensive patients. *Netherlands Journal of Medicine*, 2020, 78, (5), 239 – 243.

Litvinová, A., Litvín, I., Šramková, D.: Neefektívny liečebný režim u pacientov s hypertenziou. *Healthcare and Society*, 2024, 2, (2), 25 – 31.

Mahfoud, F., Kieble, M., Enners, S., Kintscher, U., Laufs, U., Böhm, M., Schulz, M.: Use of fixed-dose combination antihypertensives in Germany between 2016 and 2020: an example of guideline inertia. *Clinical Research in Cardiology*, 2024, 112, (2), 197 – 202.

Mancia, G., Kreutz, R., Brunström, M., Burnier, M., Grassi, G., Januszewicz, A., Muiesan, M. L., Tsioufis, K., Agabiti-Rosei, E., Algharably, E.

A. E., Azizi, M., Benetos, A., Borghi, C., Hitij, J. B., Cifkova, R., Coca, A., Cornelissen, V., Cruickshank, J. K., Cunha, P. G., Kjeldsen, S. E.: ESH Guidelines for the management of arterial hypertension the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension: Endorsed by the International Society of Hypertension (ISH) and the European Renal Associat. *Journal of Hypertension*, 2023, 41 (12), 1874 – 2071.

Národné centrum zdravotníckych informácií. *Zdravotnícka ročenka 2025* [online]. Bratislava: NCZI, 2025 [cit. 2026-03-15]. Dostupné na: <https://www.nczisk.sk/>

Oliveros, E., Patel, H., Kyung, S., Fugar, S., Goldberg, A., Madan, N., Williams, K. A.: Hypertension in older adults: Assessment, management, and challenges. *Clinical cardiology*, 43 (2), 99 – 107.

Selvek, M., Mužik, R., Saal, B., Tkáč, I.: The use of fixed dose combinations of antihypertensive drugs in Slovakia in 2019 – 2021. *Cardiology Letters*, 2023, 32, (1), 14 – 21.

Yeo, W. J., Abraham, R., Surapaneni, A. L., Schlosser, P., Ballew, S. H., Ozkan, B., Flaherty, C. M., Yu, B., Bonventre, J. V., Parikh, C. R., Kimmel, P. L., Vasan, R. S., Coresh, J., Grams, M. E.: Sex Differences in Hypertension and Its Management Throughout Life. *Hypertension*, 2024, 81 (11), 2263 – 2274.



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

# INCIDENCIA REINFARKTOV MYOKARDU PRI RÔZNYCH MODALITÁCH DUÁLNEJ ANTIAGREGAČNEJ LIEČBY

## INCIDENCE OF RECURRENT MYOCARDIAL INFARCTIONS IN DIFFERENT MODALITIES OF DUAL ANTIPLATELET THERAPY

Havdo, Jurij<sup>1</sup>; Váczi, Peter<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Lekáreň VÚSCH, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, Košice; <sup>2</sup>Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

### OPEN ACCESS

\*Korešpondenčný autor: [peter.vaczi@uvlf.sk](mailto:peter.vaczi@uvlf.sk)

**Citovanie:** Havdo, J., Váczi, P.: Incidencia reinfarktov myokardu pri rôznych modalitách duálnej antiagregačnej liečby. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 15 – 22.

**Prijaté:** 15.06.2026

**Akceptované:** 18.06.2026

**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Havdo, J., Váczi, P. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**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.

### ABSTRAKT

Infarkt myokardu je závažné ochorenie srdca, pri ktorom je časť srdcového svalu poškodená v dôsledku nedostatočného prívodu krvi koronárnymi artériami. Najčastejším mechanizmom tohto procesu je zablokovanie cievy trombom na podklade aterosklerotických zmien. Pretrvávajúce poškodenie môže viesť k zlyhaniu srdca, trvalému oslabeniu jeho funkcie, a tým k zvýšeniu incidence reinfarktov aj napriek prebiehajúcej duálnej antiagregačnej liečbe (DAPT).

V predkladanej štúdii sme analyzovali výskyt opakovaných infarktov myokardu (reinfarktov) a porovnali ich incidenciu pri rôznych modalitách DAPT, predovšetkým pri kombinácii kyseliny acetylsalicylovej (ASA) s inhibítormi P2Y<sub>12</sub> receptora (tikagrelor, prasugrel, klopido-grel). V rámci štúdie boli získané a vyhodnotené dáta pacientov hospitalizovaných vo Východoslovenskom ústave srdcových a cievnych chorôb v Košiciach. Hlavným cieľom bolo zistiť, aké konkrétne kombinácie antiagregačných látok sa používajú najčastejšie, a či existuje rozdiel v incidencii reinfarktov podľa veku, pohlavia alebo závažnosti klinického stavu.

Výsledky potvrdzujú, že najviac predpisovaná kombinácia je ASA + klopido-grel, ktorá sa spája s vysokým rizikom opakovaných kardiovaskulárnych príhod práve pre pacientov s diagnózami I21.4 – *Akútny subendokardiálny infarkt* a I21.0 – *Akútny transmurálny infarkt prednej steny*. Významnú časť tvoria aj kombinácie ASA + tikagrelor, zvlášť pri akútnej fáze ochorenia u mužov. Pri perzistujúcich infarktoch, či vysokom riziku trombózy sa ako možnosť voľby ukazuje ASA + prasugrel.

**Kľúčové slová:** antiagregačná liečba; infarkt myokardu; klopidogrel; kyselina acetylsalicylová; prasugrel; receptor P2Y12; tikagrelor

## ABSTRACT

Myocardial infarction (MI) is a serious cardiac condition in which part of the heart muscle is damaged due to insufficient blood supply through the coronary arteries. This deficiency usually arises from thrombus formation on a background of atherosclerotic changes. Persistent damage can lead to heart failure or permanent dysfunction, thus increasing the incidence of re-infarctions, even with dual antiplatelet therapy (DAPT).

This study investigates the occurrence of recurrent myocardial infarctions (re-infarctions) and compares their incidence under various DAPT modalities – primarily combinations of acetylsalicylic acid (ASA) with P2Y12 receptor inhibitors (ticagrelor, prasugrel, clopidogrel). We collected and evaluated real-world patient data from the East Slovak Institute of Cardiovascular Diseases in Košice, aiming to determine which specific antiplatelet combinations are most frequently prescribed, and whether differences in re-infarction rates correlate with age, sex, or severity of the clinical profile.

The results confirm that the most frequently prescribed combination is ASA + clopidogrel, particularly in patients with 10th International Classification of Diseases diagnoses I21.4 – *Acute subendocardial infarction* and I21.0 – *Acute transmural infarction of the anterior segment*, reflecting a higher risk of recurrent cardiac events. In addition, ASA + ticagrelor is often favored for acute disease phases in males, while ASA + prasugrel appears to be the combination of choice in persistent infarctions or in patients with a high risk of thrombosis.

**Keywords:** acetylsalicylic acid; antiplatelet therapy; clopidogrel; myocardial infarction; prasugrel; receptor P2Y12; ticagrelor

## ÚVOD

Infarkt myokardu je vážny zdravotný problém, ktorý postihuje populáciu na celom svete. Správna a rýchla diagnostika a manažment sú rozhodujúce pre dosiahnutie dobrej prognózy pre zabránenie alebo zníženie morbiditu a mortality. Infarkt myokardu je náhla ischemia tkaniva srdcového svalu v dôsledku nedostatku alebo obštrukcie koronárneho prietoku krvi, čo vedie k jeho poškodeniu (Abuzaid a kol., 2018; Thygesen a kol., 2018).

Obštrukcia alebo stenóza niektorej z ciev myokardu vedie k zníženiu koronárneho prietoku krvi a tým k rozvoju infarktu myokardu, ktorý je hlavnou príčinou smrti v rozvojových krajinách a stal sa, okrem infekčných chorôb, jedným z najviac rastúcich zdravotných problémov (Gaziano a kol., 2010). Zistilo sa, že úmrtnosť na ischemickú chorobu srdca u mužov je vyššia ako u žien vo veku do štyridsať päť rokov, často však konverguje s vekom (Gaziano a kol., 2010; Bots a kol., 2017). Keďže poškodenie infarktomyokardu je prevažne ireverzibilné, je nevyhnutné správne diagnostikovať a resuscitovať srdce čo najskôr. Ak sa liečba uskutoční do 6 hodín po objavení sa akútnych symptómov, tak sa prognóza zlepšuje (Mechanic a kol., 2021).

Reperfúzna terapia je liečebný manažment, ktorého cieľom je obnoviť koronárny prietok krvi po akútnom infarkte myokardu (AIM) buď cez zablokovanú cievu, alebo okolo nej. Zahŕňa lieky a operačný zákrok – perkutánnu koronárnu intervenciu (PCI), prípadne koronárny bypass okolo zablokovanej časti cievy (McCoy a kol., 2013). Správne načasovanie reperfúznej interferencie by mohlo znížiť poškodenie myokardu, a tým aj veľkosť infarktu a minimalizovať morbiditu a mortalitu (Bagai a kol., 2014).

Vo všetkých prípadoch reperfúzie sa odporúča protidoštičková liečba, ako aj parenterálne antikoagulancia. Pred prepustením z nemocnice môže byť

pacientom s AIM podaná kyselina acetylsalicylová (ASA), betablokátory, vysoké dávky statínov a/alebo ACE inhibítor. Súčasné odporúčania zvyčajne indikujú kombináciu ASA s jedným z inhibítorov P2Y12 receptorov (tikagrelor, prasugrel, klopido­grel). Výber konkrétneho inhibítora je však neraz ovplyvnený viacerými faktormi – vek, pohlavie, pridružené diagnózy, riziko krvácania atď. (Mechanic a kol., 2021). Celkovo majú inhibítory P2Y12 receptorov menej liekových interakcií, menej génových interakcií a celkovo lepšie kardiovaskulárne výsledky. Ukázalo sa, že prasugrel spôsobuje vyššiu mieru krvácania a užívanie tikagreloru je oproti klopido­grelu spojené s významne zníženým výskytom závažných nežiaducich kardiovaskulárnych príhod a úmrtnosti (Briasoulis a kol., 2016).

V tejto práci sa zameriavame na analýzu incidence reinfarktov pri rôznych kombináciách duálnej antiagregačnej liečby (DAPT), pričom vychádzame z reálnych dát pacientov hospitalizovaných vo Východoslovenskom ústave srdcových a cievnych chorôb (VÚSCH) v Košiciach. Hlavným zámerom je porovnať, či a ako sa líšia klinické výsledky pri rôznych modalitách antiagregačnej liečby, predovšetkým pri opakovaných hospitalizáciách s diagnózami akútneho infarktu myokardu (I21.x).

## MATERIÁL A METÓDY

V rokoch 2020 – 2025 sme sledovali 6983 pacientov hospitalizovaných vo Východoslovenskom ústave srdcových a cievnych chorôb v Košiciach. Na podrobnejšiu analýzu výskytu reinfarktov sme sa zamerali na obdobie 2020 – 2023, kedy bolo možné identifikovať len prvé reinfarkty a zároveň vylúčiť opakované prípady.

Do retrospektívnej analýzy bolo zahrnutých 5199 pacientov hospitalizovaných s infarktom myokardu v rokoch 2020 – 2023. Všetci pacienti užívali duálnu antiagregačnú liečbu (ASA + inhibítor P2Y12). Hlavným sledovaným parametrom bola opakovaná hospitalizácia s diagnostikovaným reinfarktom (rovnaká alebo iná forma I21.x) počas stanoveného obdobia.

Pacienti boli rozdelení podľa pohlavia, veku a konkrétnej modality DAPT: ASA + klopido­grel, ASA + tikagrelor, ASA + prasugrel.

Na vyhodnotenie rozdielov medzi jednotlivými skupinami sa použili základné metódy deskriptívnej analýzy programu MS Excel. Štúdia bola postavená výlučne na druhotne spracovaných, anonymizovaných klinických údajoch, ktoré neboli získané priamym kontaktom s pacientom. Všetky záznamy boli analyzované v súlade s platnou legislatívou a etickými smernicami (Zákon č. 18/2018 Z.z. o ochrane osobných údajov).

## VÝSLEDKY

### Výskyt hospitalizácií a typ diagnózy

Celkovo bolo v sledovanom období zaznamenaných 5199 hospitalizácií s akútnym infarktom myokardu (AMI). Z toho 73,85 % tvorili muži a 26,15 % ženy.

Z celkového počtu 5199 pacientov v sledovanom období prekonalo iba jednu epizódu AIM bez následného reinfarktu 4698 pacientov (90,36 %), avšak 501 pacientov (9,64 %) bolo hospitalizovaných opakovane z dôvodu reinfarktu, čo poukazuje na významné riziko rekurencie u časti populácie. Tieto údaje naznačujú, že približne každý desiaty pacient po infarkte myokardu sa v rámci sledovaného obdobia vrátil do nemocnice s ďalšou epizódou AIM, čo predstavuje dôležitý ukazovateľ pre hodnotenie účinnosti sekundárnej prevencie a nastavenej liečby.

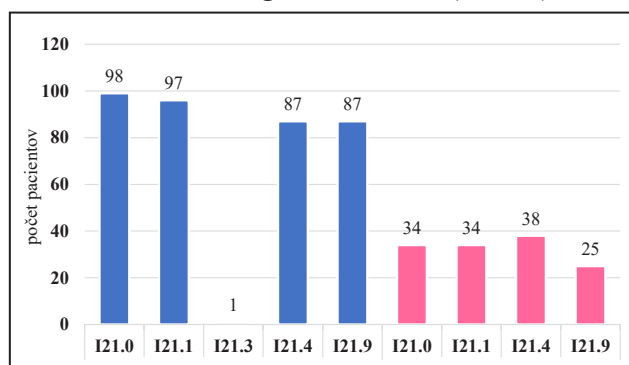
Rozdelenie reinfarktov podľa klasifikácie I21.x je znázornené v grafe 1. Najčastejšie boli diagnostikované I21.4 – *Infarkt myokardu bližšie nešpecifikovaný* a I21.0 – *Infarkt prednej stený*. Priemerný čas opakovanej hospitalizácie od primárneho infarktu bol 8,3 mesiacov.

### Najčastejšie predpisované DAPT režimy

Analýza frekvencie podania kombinácií liekov v rámci DAPT u pacientov s reinfarktom ukázala nasledujúce výsledky:

**ASA + klopido­grel** bola najčastejšie používanou

**Graf 1: Počet a rozdelenie reinfarktov podľa klasifikácie diagnóz MKCH-10 (n = 501)**



Vysvetlivky: M – muži, Ž – ženy, I 21.0 – Akútny transmurálny infarkt myokardu prednej steny, I 21.1 – Akútny transmurálny infarkt myokardu spodnej steny, I 21.3 – Akútny transmurálny infarkt myokardu bez bližšieho určenia miesta, I 21.4 – Akútny subendokardiálny infarkt myokardu, I 21.9 – Akútny infarkt myokardu, bližšie neurčený

kombináciou. Podaná bola 249 pacientom (49,7 % všetkých reinfarktov), z toho 154 mužom a 95 ženám. Najviac prípadov bolo zaznamenaných pri diagnózach I21.0 – Akútny transmurálny infarkt myokardu prednej steny, I21.1 – Akútny transmurálny infarkt myokardu spodnej steny a I21.9 – Akútny infarkt myokardu, bližšie neurčený (Graf 2).

ASA + tikagrelor bola druhou najčastejšou kombináciou. Podaná bola 151 pacientom (30,1 %), z toho 135 mužom a len 16 ženám, čo poukazuje na výraznú preferenciu použitia tikagreloru u mužov. Najčastejšie diagnózy boli I21.0 – Akútny transmurálny infarkt

myokardu prednej steny, I21.1 – Akútny transmurálny infarkt myokardu spodnej steny a I21.4 – Akútny subendokardiálny infarkt myokardu (Graf 2).

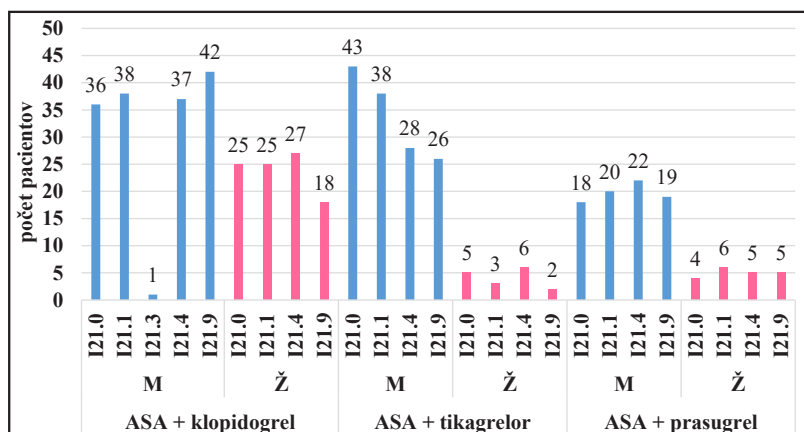
ASA + prasugrel bola podaná 99 pacientom (19,8 %), z toho 79 mužom a 20 ženám. Zaznamenané boli najmä pri diagnózach I21.4 – Akútny subendokardiálny infarkt myokardu, I21.1 – Akútny transmurálny infarkt myokardu spodnej steny, I21.9 – Akútny infarkt myokardu, bližšie neurčený. V 2 prípadoch (0,4 %) chýbal záznam o podaní liekov – obaja pacienti boli muži s diagnózou I21.0 – Akútny transmurálny infarkt myokardu prednej steny (Graf 2).

Uvedené výsledky ukazujú, že klopidoagrel zostáva najčastejšie používaným P2Y12 inhibítorom v kombinácii s ASA u pacientov s reinfarktom. Tikagrelor a prasugrel sú predpisované menej často, aj keď tikagrelor má výrazné zastúpenie najmä u mužov s transmurálnymi infarktmi. Prasugrel bol používaný selektívne a s menším podielom, pravdepodobne vzhľadom na špecifickejšie indikácie alebo vyššiu mieru opatrnosti pri predpisovaní.

#### Podávanie antiagregačnej liečby pri reinfarktoch v závislosti od pohlavia

Muži tvorili 74 % pacientov s reinfarktom (370 z 501), pričom práve oni častejšie užívali ASA + tikagrelor, najmä pri akútnejších stavoch. U žien bol

**Graf 2: Kombinácie liečiv v rámci duálnej antiagregačnej liečby pre reinfarkty (n = 501)**



Vysvetlivky: M – muži, Ž – ženy, I 21.0 – Akútny transmurálny infarkt myokardu prednej steny, I 21.1 – Akútny transmurálny infarkt myokardu spodnej steny, I 21.3 – Akútny transmurálny infarkt myokardu bez bližšieho určenia miesta, I 21.4 – Akútny subendokardiálny infarkt myokardu, I 21.9 – Akútny infarkt myokardu, bližšie neurčený

**Tab. 1: Rozdelenie liečby podľa pohlavia pacientov**

| Kombinácia liečiv                | Muži (n/%)   | Ženy (n/%) |
|----------------------------------|--------------|------------|
| ASA + klopido <span>g</span> rel | 154 (30,7 %) | 95 (19 %)  |
| ASA + prasugrel                  | 79 (15,8%)   | 20 (4 %)   |
| ASA + tikagrelor                 | 135 (26,9 %) | 16 (3,2 %) |
| Bez záznamu                      | 2 (0,4 %)    | 0 (0 %)    |

zaznamenaný vyšší podiel kombinácie ASA + klopidogrel. Kombinácia ASA + prasugrel bola podávaná podobne u oboch pohlaví, mierne častejšie u mladších mužov (Tabuľka 1). Výber liečby odráža klinický stav a rizikový profil – agresívnejšia liečba bola častejšia u mužov.

Tieto výsledky poukazujú na rozdielny prístup v predpisovaní DAPT u mužov a žien. Kým u mužov sa častejšie volili modernejšie P2Y12 inhibítory (tikagrelor, prasugrel), u žien prevažoval klopidogrel.

#### Veková distribúcia pacientov s opakovanou hospitalizáciou a ich zaradenie do liečebných režimov

Graf 3 znázorňuje rozloženie pacientov s reinfarktom podľa vekových skupín a modality DAPT. Muži dostávali intenzívnejšie liečebné režimy (častejšie ASA + tikagrelor, prípadne vyššie dávky klopidogrelu). Priemerný vek všetkých pacientov s reinfarktmi bol  $67 \pm 21$  rokov, pričom staršie vekové kategórie mali vyšší podiel kombinácie ASA + klopidogrel.

## DISKUSIA

Výsledky tejto štúdie poskytujú cenný pohľad na reálne používanie duálnej antiagregačnej liečby u pacientov s akútnym infarktom myokardu, pričom sa zameriavajú na výskyt reinfarktov, rozdiely v terapii medzi pohlaviami a vekovými skupinami, ako aj preferenciu protidoštičkových liečiv podľa typu diagnózy.

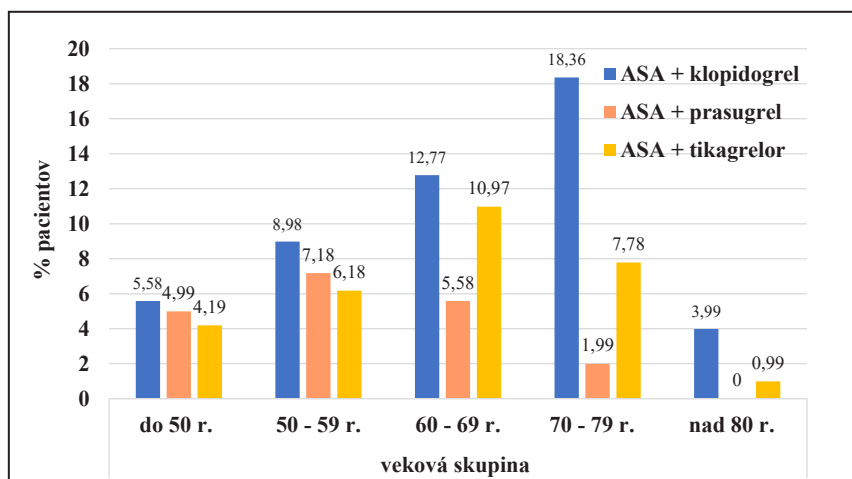
#### Podávanie liečby a preferované kombinácie

V súbore reinfarktov bola najčastejšie podávaná kombinácia ASA + klopidogrel (249 prípadov), nasledovaná kombináciami ASA + tikagrelor (151) a ASA + prasugrel (99). Klopidogrel si tak udržal pozíciu najčastejšie používaného P2Y12 inhibítora v kombinovanej liečbe. Tieto výsledky zodpovedajú aj súčasným klinickým odporúčaniam, podľa ktorých je klopidogrel indikovaný u stabilnejších pacientov alebo tam, kde existuje vyššie riziko krvácania, zatiaľ čo tikagrelor a prasugrel sú preferované pri akútnejších stavoch alebo u mladších pacientov s nižším krvávacím rizikom (Rao a kol., 2025).

#### Rozdiely medzi pohlaviami

Z analýzy vyplýva, že muži tvorili až 73,85 % pacientov s reinfarktom, pričom vo všetkých liečebných kombináciách prevažoval vyšší podiel podaní u mu-

**Graf 3: Počet pacientov (v %) s reinfarktom podľa vekových skupín a typu duálnej antiagregačnej liečby**



žov oproti ženám. Kombinácia ASA + tikagrelor bola napríklad podaná 135 mužom, no len 16 ženám, čo poukazuje na nižšiu mieru použitia moderných inhibítorov P2Y12 u ženskej populácie.

Nižšia frekvencia podania prasugrelu a tikagreloru u žien môže súvisieť s vyšším priemerným vekom žien pri AIM, s vyšším rizikom krvácania v staršom veku, zhoršenou motorikou tráviacej sústavy a nedodržiavanie liečebného režimu, alebo aj s konzervatívnejším prístupom lekárov pri ich predpisovaní ženám.

Tento rozdiel možno vysvetliť niekoľkými faktormi. Biologické rozdiely medzi pohlaviami, ako je vyšší výskyt infarktu myokardu u mužov a nižší výskyt trombóz u žien, môžu hrať kľúčovú rolu v tomto rozhodovaní. Takýto trend je v súlade s predchádzajúcimi štúdiami, ktoré naznačujú, že muži častejšie dostávajú intenzívnejšiu antitrombotickú liečbu ako ženy, najmä v prípade akútnych kardiovaskulárnych príhod (Van der Pol a kol., 2019).

### Veková štruktúra a diagnózy

Vek je ďalší dôležitý faktor, ktorý zohráva úlohu pri výbere liečby. Starší pacienti (nad 60 rokov) sú najviac liečenou skupinou v tejto štúdii, čo je v súlade s predchádzajúcimi výskumami, ktoré ukazujú na zvýšený výskyt kardiovaskulárnych príhod v tejto vekovej kategórii (Wang a kol., 2025).

Z grafickej vizualizácie bolo zrejmé, že najvyšší počet podaní DAPT u žien sa vyskytoval vo veku nad 70 rokov, pričom najčastejšie bola podaná kombinácia ASA + klopido­grel. U mladších žien (50 – 65 rokov) sa častejšie podávali aj moderné lieky (tikagrelor, prasugrel), čo zodpovedá ich lepšej tolerancii a nižšiemu riziku krvácania v tejto vekovej kategórii.

Najčastejšie podávané DAPT kombinácie boli zaznamenané pri diagnózach: I21.0 – *Akútny infarkt prednej steny*, I21.1 – *Akútny transmuralný infarkt myokardu spodnej steny*, I21.4 – *Akútny subendokardiálny infarkt myokardu*.

Tieto formy AIM si podľa platných odporúčaní vyžadujú najintenzívnejšiu antitrombotickú liečbu, čo sa potvrdilo aj vo výbere predpísaných kombinácií v tejto práci (Mechanic a kol., 2021).

### Mechanizmus účinku a racionálny výber liečby

Zvolená DAPT terapia využíva komplementárne mechanizmy účinku. ASA inhibuje tromboxán  $A_2$  – znižuje agregáciu trombocytov, zatiaľ čo tikagrelor, prasugrel a klopido­grel blokujú P2Y12 receptory – zabráňujú aktivácii trombocytov.

Kombinácia týchto liečiv poskytuje synergický antitrombotický efekt, ktorý je podstatný najmä v akútnych fázach ischemických príhod. Z našich dát vyplýva, že vo väčšine prípadov bola zvolená kombinácia s klopido­grelom, no u pacientov s akútnejšími a rizikovejšími stavmi bola preferovaná liečba s tikagrelom alebo prasugrelom.

Kyselina acetylsalicylová blokuje syntézu tromboxánu  $A_2$ , čo vedie k inhibícii agregácie trombocytov. Tento mechanizmus je základom jej účinnosti v prevencii ischemických príhod, kde pri jej kombinácii s tikagrelom (ktorý blokuje P2Y12 receptory trombocytov a potláča ich aktiváciu) dosahujú silnejší antitrombotický účinok (Jourdi a kol., 2021). ASA sa už dlho považuje za neoddeliteľnú súčasť antiagregačnej liečby na prevenciu opakovaných aterotrombotických príhod. Znižuje výskyt vaskulárneho úmrtia po AIM, a cievnych a koronárnych príhod vrátane IM a mozgovej príhody. Hoci užívanie ASA sa tradične považovalo za celoživotné, u vybraných pacientov sa v udržiavacej fáze po 1 až 3 mesiacoch môže zväžiť stratégia jej vysadenia namiesto vysadenia inhibítora P2Y12, aby sa znížilo riziko krvácania (Rao a kol., 2025).

Okrem užívania ASA by sa preto pacienti s akútnym koronárnym syndrómom mali liečiť nárazovou dávkou perorálneho inhibítora P2Y12, po ktorej nasleduje jeho denné dávkovanie. Z klinicky dostupných perorálnych inhibítorov P2Y12 je klopido­grel najmenej účinný a vyžaduje si viac času na dosiahnutie maximálnej inhibície krvných doštičiek po nárazovej dávke, pretože sa musí biotransformovať v pečeni na aktívny metabolit (Yusuf a kol., 2001; O'Donoghue a Wiviott, 2006). Tikagrelor a prasugrel sú zasa účinnejšie a dosahujú rýchlejší nástup inhibície krvných doštičiek, ale so zvýšeným rizikom krvácania v porovnaní s klopido­grelom (Wallentin a kol., 2009).

Zvýšené riziko krvácania hrozí aj u pacientov užívajúcich inhibítory P2Y12 s inými liekmi, najmä s perorálnymi antikoagulanciami (apixabán, rivaroxabán), nesteroidnými antiflogistikami (ibuprofén, naproxén), so selektívnymi inhibítormi spätného vychytávania serotonínu (escitalopram, sertralín, fluoxetín) a inhibítormi spätného vychytávania serotonínu a noradrenalinu (venlafaxín, duloxetín). Naopak oslabenie účinku môžeme očakávať pri súčasnom podávaní klopidoogrelu s inhibítormi protónovej pumpy (najmä omeprazolom a ezomeprazolom). Naoko klopidoogrel vyžaduje aktiváciu izoenzýmom CYP2C19, prostredníctvom ktorého sa aktivujú aj inhibítory protónovej pumpy, dochádza k výraznej kompetícii a už spomínanému oslabeniu antiagregačného účinku klopidoogrelu (Bigagli a kol., 2025).

## ZÁVER

Na základe výsledkov získaných v tejto štúdii môžeme konštatovať, že kombinácia ASA + klopidoogrel je najrozšírenejšou formou duálnej antiagregačnej liečby, no nezaručuje nižšiu mieru reinfarktu u všetkých pacientov. ASA + tikagrelor sa javia vhodnejšie pri akútnej fáze infarktu myokardu, zvlášť u pacientov mužského pohlavia s vyšším trombotickým rizikom. ASA + prasugrel sa využívajú pri závažnejších formách a pri vysokom riziku pretrvávajúcich trombóz. Pre zníženie miery reinfarktov je rozhodujúca nielen voľba vhodnej kombinácie antiagregačných liečiv, ale aj dlhodobá adherencia pacienta, monitoring možných komplikácií a ďalšie individuálne faktory (vek, komorbidita, genetika).

## Konflikt záujmov

Autori pre túto štúdiu neudávajú konflikt záujmov.

## Použitie nástrojov umelej inteligencie

Autori nepoužili nástroje generatívnej umelej inteligencie.

## Etické aspekty

Štúdia bola vykonaná v súlade so všetkými etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie.

## Financovanie

Na túto štúdiu nebolo potrebné financovanie.

## Príspevky autorov

J. Havdo – konceptualizácia, zber údajov, metódika, formálna analýza, štatistické spracovanie výsledkov

P. Váci – konceptualizácia, metódika, jazyková úprava, grafické spracovanie výsledkov

## ZOZNAM LITERATÚRY

Abuzaid, A., Fabrizio, C., Felpel, K., Al Ashry, H. S., Ranjan, P.: Oxygen Therapy in Patients with Acute Myocardial Infarction: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Am. J. Med.*, 2018, 131 (6), 693 – 701.

Bagai, A., Dangas, G. D., Stone, G. W., Granger, C. B.: Reperfusion strategies in acute coronary syndromes. *Circ Res.*, 2014, 114 (12), 1918 – 2028.

Bigagli, E., Angelini, J., Mugelli, A., Rocca, B.: Oral P2Y12 Inhibitors: Victims or Perpetrators? A Focused Review on Pharmacokinetic, Clinically Relevant Drug Interactions, *Eur. Cardiol. Rev.*, 2025, 20:e17.

Bots, S. H., Peters, S. A. E., Woodward, M.: Sex differences in coronary heart disease and stroke mortality: a global assessment of the effect of ageing between 1980 and 2010. *BMJ Global Health*, 2017, 2:e000298.

Briasoulis, A., Telila, T., Palla, M., Siasos, G., & Tousoulis, D.: P2Y12 Receptor Antagonists: Which One to Choose? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr. Pharm. Des.*, 2016, 22 (29), 4568 – 4576.

Gaziano, T. A., Bitton, A., Anand, S., Abrahams-Gessel, S., Murphy, A.: Growing Epidemic of Coronary Heart Disease in Low- and Middle- Income

Countries. *Current Problems in Cardiology*, 2010, 35, 72 – 115.

Jourdi, G., Lordkipanidzé, M., Philippe, A., Bachelot-Loza, C., Gaussem, P.: Current and Novel Antiplatelet Therapies for the Treatment of Cardiovascular Diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22 (23), 13079.

McCoy, S. S., Crowson, C. S., Maradit-Kremers, H., Therneau, T. M., Roger, V. L., Matteson, E. L., Gabriel, S. E.: Longterm outcomes and treatment after myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.*, 2013, 40 (5), 605 – 610.

Mechanic, O. J., Gavin, M., Grossman, S. A.: Acute Myocardial Infarction. In: *StatPearls* [Internet]. 2021, Treasure Island (FL).

O'Donoghue, M., Wiviott, S. D.: Clopidogrel response variability and future therapies: clopidogrel: does one size fit all?. *Circulation*. 2006, 114 (22), e600 – e606.

Rao, S. V., O'Donoghue, M. L., Ruel, M., Rab, T., Tamis-Holland, J. E., Alexander, J. H., Baber, U., Baker, H., Cohen, M. G., Cruz-Ruiz, M., Davis, L. L., de Lemos, J. A., DeWald, T. A., Elgendy, I. Y., Feldman, D. N., Goyal, A., Isiadinso, I., Menon, V., Morrow, D. A., Mukherjee, D., Platz, E., Promes, S. B., Sandner, S., Sandoval, Y., Schunder, R., Shah, B., Stoppyra, J. P., Talbot, A. W., Taub, P. R., Williams, M. S.: 2025 ACC/AHA/ACEP/NAEMSP/SCAI Guideline for the Management of Patients With Acute Coronary Syndromes: A Report of the American Col-

lege of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 2025, 151(13), e771 – e862

Thygesen, K., Alpert, J. S., Jaffe, A. S., Chaitman, B. R., Bax, J. J., Morrow, D. A., White, H. D.: Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction. *Circulation*, 2018, 138(20), e618 – e651.

Van der Pol, A., Van Gilst, W. H., Voors, A. A., Van der Meer, P.: Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *Eur. J. Heart Fail*, 2019, 21 (4), 425 – 435.

Wallentin, L., Becker, R. C., Budaj, A., Cannon, C. P., Emanuelsson, H., Held, C., Horrow, J., Husted, S., James, S., Katus, H., Mahaffey, K. W., Scirica, B. M., Skene, A., Steg, P. G., Storey, R. F., Harrington, R. A., Freij, A., Thorsén, M.: Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *The New England Journal of Medicine*, 2009, 361 (11), 1045 – 1057.

Wang, Z., Zhu, S., Zhu, J., Jiang, Z., Ren, Y.: Comparison of P2Y12 inhibitors and aspirin in secondary prevention of coronary events: a meta-analysis of RCTs. *BMC Cardiovasc. Disord.*, 2025, 25, 207.

Yusuf, S., Zhao, F., Mehta, S. R., Chrolavicius, S., Tognoni, G., Fox, K. K.: Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *The New England Journal of Medicine*, 2001, 345 (7), 494 – 502.



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

# SPÔSOBY DIAGNOSTIKY A FARMAKOTERAPIE REFLUXNEJ CHOROBY PAŽERÁKA U DOSPELÝCH PACIENTOV

## METHODS OF DIAGNOSTIC AND PHARMACOTHERAPY OF GERD IN ADULT PATIENTS

Krivjančinová, Sidónia; Szabóová, Renáta\*; Faixová, Zita

Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, Slovenská republika

### OPEN ACCESS

\*Korešpondenčný autor: [renata.szaboova@uvlf.sk](mailto:renata.szaboova@uvlf.sk)

**Citovanie:** Krivjančinová, S., Szabóová, R., Faixová, Z.: Spôsob diagnostiky a farmakoterapie refluxnej choroby pažeráka u dospelých pacientov. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 23 – 35.

**Prijaté:** 18.06.2026

**Akceptované:** 29.06.2026

**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Krivjančinová, S., Szabóová, R., Faixová, Z. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**Etické aspekty:** Práca bola vykonaná v súlade s etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie, pričom údaje boli poskytnuté z dekurzov pacientov gastroenterologickej ambulancie v Snine pri zachovaní všeobecného nariadenia o ochrane údajov.

### ABSTRAKT

Štúdia pojednáva o sledovaní anamnézy a symptómov pacientov ( $n = 20$ ), ktorým bola diagnostikovaná refluxná ezofagitída v stupňoch A, B, C, D alebo Barrettov pažerák ako najčastejších foriem gastroezofageálnej refluxnej choroby pažeráka (GERD). Diagnóza u pacientov bola potvrdená endoskopickým vyšetrením sliznice pažeráka, žalúdka a dvanástnika – ezofagogastroduodenoskopiou. Každému pacientovi po 1. návšteve u lekára bola nasadená farmakoterapia pomocou inhibítorov protónovej pumpy (IPP) v podobe

omeprazolu, pantoprazolu alebo ezomeprazolu po dobu 4 týždňov. Následne po 1. kontrolnom vyšetrení bola niektorým pacientom ( $n = 7$ ; 35 %) daná udržiavacia dávka v kombinácii s H2RA a prokinetikom. Zlepšenie zdravotného stavu bolo pozorované u väčšiny pacientov ( $n = 13$ ; 65 %), kde došlo k vysadeniu liečby po 2. kontrolnom vyšetrení u lekára. Niektorí pacienti museli podstúpiť alebo bol im odporúčaný chirurgický zákrok ( $n = 7$ ; 35 %), nakoľko liečba pomocou IPP bola neúspešná. V ďalšej časti práce sa porovnáva výdaj troch účinných látok IPP počas dvoch rokov, kde najviac vydávaný v lekárni bol pantoprazol, potom omeprazol a nakoniec ezomeprazol. V porovnaní sily (20 mg a 40 mg) jednotlivých účinných látok typov IPP boli vydané vo väčšom množstve balenia o sile 40 mg v porovnaní s 20 mg silou každej účinnej látky IPP. Prognóza farmakoterapie u pacientov s GERD je priaznivá, pokiaľ je ochorenie dostatočne včas diagnostikované a následne liečené, čo zodpovedá výsledkom v sledovanej skupine pacientov.

**Kľúčové slová:** diagnostika; pažerák; refluxná ezofagitída; terapia

## ABSTRACT

The study discusses the monitoring of anamnesis and symptoms of patients ( $n = 20$ ) with diagnosed reflux esophagitis in A, B, C, D grades and/or Barrett's esophagus as the most common forms of gastroesophageal reflux disease (GERD). The patients diagnosis was confirmed by endoscopic examination of esophagus, stomach and duodenum mucosa – esophagogastroduodenoscopy. The treatment of each patient was using with proton pump inhibitors (PPI) in the form of omeprazole, pantoprazole or esomeprazole for 4 weeks after the the first visit. Subsequently, after the first control examination, some patients ( $n = 7$ ; 35%) were given a maintenance dose in combination with H2RA and a prokinetics. Improvement in health status was observed in most patients ( $n = 13$ ; 65%), where treatment was discontinued after the second control examination. In some patients was recommended surgery therapy ( $n = 7$ ; 35%) because treatment with PPI was unsuccessful. The next part of the work compares the expedition of three PPI active substances over two years, where the most dispensed substance was pantoprazole, then omeprazole and finally esomeprazole. In comparing the strengths (20 mg and 40 mg) of the individual PPI active substances, a larger number of packages with a strength of 40 mg were dispensed in comparison with 20 mg strength of each PPI. The prognosis of pharmacotherapy in patients with GERD is favorable if the disease is diagnosed early and subsequently treated, which corresponds to the results in the observed group of patients.

**Keywords:** diagnostics; esophagus; reflux esophagitis; therapy

## ÚVOD

Vznik a vývoj refluxnej choroby pažeráka je definovaný ako prítomnosť symptómov alebo komplikácií,

ktoré priamo súvisia so spätným tokom obsahu žalúdka do pažeráka. Patogenéza zahŕňa zmeny v expozícii refluxu, epitelovej rezistencii a viscerálnej citlivosti. Spätne vracajúca sa žalúdočná tekutina/žalúdočný obsah poškodzuje sliznicu pažeráka v súčinnosti so vznikom príslušných symptómov – pálenie záhy, regurgitácia, bolesť v epigastriu, vracanie, poruchy spánku, chrapot, dysfónia, bolesť hrdla, laryngospazmus a astma (Lin a kol., 2019). Toto poškodenie vzniká narušením antirefluxnej bariéry. Ide o komplexnú anatomickú zónu, ktorá vzniká synergiou medzi dolným pažerákovým zvieračom a krurálnou bránicou, t. j. *pars lumbalis diaphragmatis*. Závažnosť refluxu závisí od dysfunkcie jednotlivých zložiek bariéry (Tack a Pandolfino, 2018).

Gastroezofageálna refluxná choroba (GERD) je najviac rozšírená u pacientov stredného a vyššieho veku v západných krajinách (Európa, USA), pričom najtypickejším príznakom je pálenie záhy (10 % až 30 %), nízka prevalencia je pozorovaná v ázijských krajinách (< 10 %) (Yamasaki a kol., 2018; Zheng a kol., 2021). Ukázalo sa, že prevalencia ochorenia sa zvyšuje paralelne s výskytom nadváhy a/alebo obezity. Existujú dva hlavné fenotypové prejavy GERD: erozívna refluxná choroba a neerozívna refluxná choroba, pričom táto zahŕňa väčšinu pacientov (70 % a viac) (Savarino a kol., 2017a; Mirossay a kol., 2021). Barrettov pažerák ako dôsledok chronickej GERD sa považuje za stav, pri ktorom metaplastický cylindrický epitel nahrádza skvamózny epitel, ktorý lemuje distálny pažerák vo fyziologických podmienkach (Schoofs a kol., 2017).

Reflux sa zvyčajne objavuje prostredníctvom 4 mechanizmov: prechodnej relaxácie dolného pažerákového zvierača (LES), nízkeho tlaku LES, relaxácie LES spojenej s prehĺtaním a namáhania sa počas intervalu s nízkym tlakom LES. Mechanizmy, ktoré bránia refluxu, sa líšia v závislosti od fyziologických okolností a anatómie (Tack a Pandolfino, 2018).

Doba, počas ktorej zostáva sliznica pažeráka vystavená pôsobeniu žalúdočnej šťavy sa nazýva doba expozície refluxu alebo doba kontaktu sliznice pažeráka s bolusom. Hlavné príčiny predĺženej expozície

refluxu a vylučovania kyseliny sú napr. zhoršené vyprázdňovanie pažeráka prostredníctvom dysfunkcie jeho peristaltiky ako aj hyposialia/asialia a xerostómia. Neutralizácia chýmu prostredníctvom slín patrí medzi dôležité ochranné funkcie slín pri refluxe. Sliny obsahujú pufrovací systém na báze hydrogénuhličitanu, ktorý tlmí efekt HCl a rastové faktory akým je napr. epidermálny rastový faktor, ktorý podporuje obnovu a obranyschopnosť slizníc (Tack a Pandolfino, 2018).

Chlopňový mechanizmus vyskytujúci sa medzi pažerákom a žalúdkom vytvára v pokojových podmienkach vysokotlakovú zónu (15 – 30 mmHg nad vnútrožalúdočnými tlakmi), čím sa zabráni refluxu žalúdočného obsahu. Niektorí pacienti s gastroezofagálnou refluxnou chorobou (GERD) má extrémne nízky LES (< 6 mmHg). U väčšiny pacientov s GERD je príčinou abnormálneho gastroezofageálneho refluxu vysoká frekvencia spontánnych prechodných relaxácií LES trvajúcich 10 – 60 sekúnd, ktoré nesúvisia s prehĺtaním (Argyrou a kol., 2018). Pohyb žalúdočnej šťavy zo žalúdka do pažeráka je určený tlakovým gradientom medzi brušnou a hrudníkovou dutinou (Tack a Pandolfino, 2018).

Príčinou ochorenia môžu byť rôzne faktory, napr. prítomnosť *Helicobacter pylori*, genetické faktory, nadváha a obezita, vyšší príjem sýtených sladených nápojov, alkoholu, čaju a kávy, fajčenie a lieky (napr. sedatíva, antidepresíva, lieky proti bolesti) (Bor a kol., 2017). Obezita sa považuje za kľúčový rizikový faktor vzniku GERD, pričom výskyt príznakov refluxu stúpa so zvyšujúcim sa BMI. Nadmerná telesná hmotnosť a zväčšený obvod brucha spôsobujú vyšší intraabdominálny tlak, čím sa znižuje tlak LES. Aj krátkodobý prírastok hmotnosti je spojený s troj až štvornásobne vyšším rizikom symptómov GERD (Argyrou a kol., 2018). Pacienti s centrálnou obezitou v tvare jablka majú 1,87- násobné riziko vzniku erozívnej ezofagitídy v porovnaní s pacientmi s normálnou hmotnosťou (Camilleri a kol., 2017). Ďalším rizikovým faktorom pre vznik GERD je fajčenie. Pri spotrebe cigariet nad 20 kusov denne sa riziko refluxu zvyšuje u žien o 37 % a u mužov o 53 % v porovna-

ní s nefajčiarmi (Taraszewska, 2021). Taktiež príjem alkoholu ako aj príjem potravy s vysokým obsahom tuku, čokolády a sýtených sladených nápojov môže znížiť tlak pažerákového zvierača a spôsobiť jeho dysfunkciu, poruchu motility, podráždenie sliznice a zvýšiť sekréciu kyseliny prostredníctvom stimulácie gastrínu (Kelliçi a Kraja, 2014; Herdiana, 2023).

Cieľom štúdie je opis stanovenia diagnózy gastroezofágová refluxová choroba pažeráka u dospelých pacientov ( $n = 20$ ) na základe symptómov a diagnostických vyšetrení a následne stanovenie liečby, či už farmakologickej za pomoci inhibítorov protónovej pumpy (IPP), kombinácie IPP s blokátormi histamínových H<sub>2</sub> receptorov (H<sub>2</sub>RA) a prokinetika alebo chirurgickej terapie. Zároveň sa v tejto práci nachádza opis výdaja liečiv IPP v kamennej lekární počas dvoch rokov, t. j. od januára 2023 do decembra 2024.

## MATERIÁL A METÓDY

Cieľom práce je základný opis stanovenia diagnózy a terapie pacientov ( $n = 20$ ) s GERD vo veku 25 – 84 rokov trpiacich na refluxnú erozívnu ezofagitídu alebo Barrettov pažerák pri prvom vyšetrení a ďalších dvoch kontrolných vyšetreniach (1. kontrolné vyšetrenie bolo absolvované po 1. mesiaci od prvého vyšetrenia, 2. kontrolné vyšetrenie bolo absolvované po 7. mesiacoch od prvého vyšetrenia). Údaje boli poskytnuté z dekurzov pacientov gastroenterologickej ambulancie v Snine pri zachovaní GDPR. Pri prvom vyšetrení sa na základe anamnézy (pohlavie, vek, prítomnosť/neprítomnosť pyrózy a refluxu, bolesť na hrudníku, pocit škriabania a pálenia na krku s laryngitídou, bolesť v žalúdku spojená s kŕčami a vracaním, suchý dráždivý kašeľ), prezencie rizikových faktorov podieľajúcich sa na vzniku gastroezofagálnej refluxovej choroby (obezita, aktívne fajčenie, príjem alkoholu a kávy, nevhodná strava), symptómov a diagnostických zobrazovacích vyšetrení (ezofago-gastroduodenoskopia a test na prítomnosť okultného krvácania – FOB test – faecal occult blood test) u pacientov stanovila diagnóza Barrettov pažerák alebo refluxná erozívna ezofágia, a to na základe Los

**Tab. 1: Klasifikácia refluxnej ezofagitídy – Los Angeles**

|          |                                                                                                                   |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Stupeň A | Jedna alebo viac erózií sliznice nie dlhšie ako 5 mm, ktorá nepresahuje vrcholy 2 rias sliznice                   |
| Stupeň B | Jedna alebo viac erózií dlhšie ako 5 mm, ktorá nepresahuje vrcholy 2 rias sliznice                                |
| Stupeň C | Jedna alebo viac erózií, ktorá presahuje 2 alebo viac slizničných rias, ale zahŕňa menej ako 75 % obvodu pažeráka |
| Stupeň D | Jedna alebo viac erózií, ktorá zahŕňa najmenej 75 % obvodu pažeráka                                               |

Zdroj: Muthusamy a kol., 2015

**Tab. 2: Údaje o anamnéze pacientov (n = 20) s GERD**

| Pacient | Pohlavie | Vek | Pyróz,<br>reflux | Bolesť<br>na hrudníku | Laryngitída,<br>škriabanie v krku | Bolesť žalúdka,<br>vracanie, kŕče | Suchý dráždivý<br>kašeľ |
|---------|----------|-----|------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| 1       | žena     | 27  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 2       | žena     | 37  | N                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 3       | žena     | 39  | A                | N                     | N                                 | A                                 | A                       |
| 4       | žena     | 44  | N                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 5       | žena     | 56  | N                | N                     | N                                 | N                                 | N                       |
| 6       | žena     | 60  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 7       | žena     | 84  | A                | N                     | N                                 | N                                 | N                       |
| 8       | muž      | 25  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 9       | muž      | 25  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 10      | muž      | 27  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 11      | muž      | 35  | A                | N                     | A                                 | N                                 | N                       |
| 12      | muž      | 40  | N                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 13      | muž      | 42  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 14      | muž      | 48  | A                | N                     | N                                 | N                                 | N                       |
| 15      | muž      | 55  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 16      | muž      | 56  | N                | A                     | N                                 | N                                 | N                       |
| 17      | muž      | 59  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 18      | muž      | 63  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |
| 19      | muž      | 70  | N                | A                     | N                                 | N                                 | N                       |
| 20      | muž      | 76  | A                | N                     | N                                 | A                                 | N                       |

A – prítomný, N – neprítomný

Angeles klasifikácie (typ A, B, C, D; Tab. 1; Muthusamy a kol., 2015).

FOB test bol použitý na detekciu krvi v stolici, ktorá nie je makroskopicky viditeľná ako skriningový test na prítomnosť kolorektálneho karcinómu (Košícielniak-Merak a kol., 2018).

Endoskopické vyšetrenie patologických zmien na sliznici pažeráka, žalúdka, prípadne dvanástnika sa vykonalo pomocou videoendoskopického zariadenia, gastroskopu Olympus EVIS EXERA III GIF XP 170 N OPTERA (Olympus America, USA), pričom pacientom bolo aplikované pred vyšetrením lokálne

anestetikum (lidokaín v sprejovej forme – Lidocain EGIS 10 %). Následne bola stanovená odporúčaná terapia, a to farmakologická, t. j. liečba za pomoci IPP, kombinácie IPP + H2RA + prokinetika a chirurgická terapia. Ďalšie dve vyšetrenia pacientov, t. j. 1. a 2. kontrolné vyšetrenie, boli vykonané v rámci kontroly terapie a zdravotného stavu pacientov.

Druhá časť praktickej časti práce sa zameriava na výdaj IPP (omeprazolu, pantoprazol a ezomeprazol) v časovom intervale dvoch rokov od januára roku 2023 do decembra roku 2024 v kamennej lekární v okrese Ružomberok.

**Tab. 3: Najčastejšie a najmenej časté rizikové faktory u pacientov ( $n = 20$ ) s GERD**

| Pacient | Obezita      | Aktívne fajčenie | Príjem alkoholu | Pitie kávy | Nevhodná strava |
|---------|--------------|------------------|-----------------|------------|-----------------|
| 1       | N            | N                | N               | N          | N               |
| 2       | A; 1. stupeň | N                | N               | N          | A               |
| 3       | N            | N                | N               | N          | N               |
| 4       | N            | N                | N               | N          | N               |
| 5       | N            | N                | A               | A          | N               |
| 6       | N            | N                | N               | N          | N               |
| 7       | N            | N                | N               | N          | N               |
| 8       | N            | A                | A               | N          | N               |
| 9       | A; 1. stupeň | A                | A               | A          | A               |
| 10      | N            | A                | N               | N          | N               |
| 11      | A; 1. stupeň | N                | N               | N          | A               |
| 12      | A; 1. stupeň | N                | N               | N          | A               |
| 13      | A; 1. stupeň | N                | N               | A          | A               |
| 14      | A; 1. stupeň | N                | N               | N          | A               |
| 15      | A; 1. stupeň | N                | N               | N          | A               |
| 16      | N            | A                | A               | N          | N               |
| 17      | N            | N                | N               | N          | N               |
| 18      | A; 1. stupeň | N                | N               | N          | A               |
| 19      | N            | N                | N               | N          | N               |
| 20      | N            | A                | N               | N          | N               |

A – prítomný, N – neprítomný

## VÝSLEDKY

Stručná charakteristika anamnézy ako aj vyskytujúcich sa symptómov u pacientov ( $n = 20$ ) pri prvom vyšetrení liečených v gastroenterologickej ambulancii v Snine je uvedená v tab. 2 a prehľad najčastejších rizikových faktorov podieľajúcich sa na vzniku GERD u pozorovaných pacientov je zaznamenaný v tab.3.

U sledovaných pacientov sa vyskytovala GERD častejšie u mužov ( $n = 13$ ; 65 %) ako u žien ( $n = 7$ ; 35 %). Najčastejšie vyskytujúce sa symptómy akými sú pyrôza a reflux boli pozorované u 14 pacientov (70 %) v skupine. Bolesť na hrudníku bola prítomná u 3 pacientov (15 %), laryngitída, škriabanie v krku a suchý dráždivý kašeľ u 1 pacienta. Bolesť žalúdka, vracanie a kŕče sa vyskytli u 13 pacientov (65 %). Piatí pacienti (č. 5, 6, 9, 18, 20) mali pozitívny FOB test, v ktorom bola stanovená prítomnosť krvi v stolici.

Medzi najčastejšie vyskytujúce sa rizikové faktory

podieľajúce sa na vzniku GERD boli u pacientov zaradené: obezita 1. stupňa u 8 pacientov (40 %), príjem nevhodnej stravy (8 pacientov; 40 %), aktívne fajčenie (5 pacientov; 25 %), pravidelný príjem malého množstva alkoholu (4 pacienti; 20 %) a pravidelné pitie kávy (3 pacienti; 15 %) (Tab. 3).

Ezofagogastroduodenoskopia (EGD) – endoskopické vyšetrenie sliznice pažeráka, žalúdka a dvanástnika, bolo vykonané u všetkých pacientov a je zaznamenané opisom nálezov u všetkých pacientov v tab. 4.

Po absolvovaných vyšetreniach sa následne stanovila pacientom diagnóza, ktorá je uvedená v tab. 5. Môžeme konštatovať, že našim sledovaným pacientom bola potvrdená diagnóza K21.0 (Gastroezofágová refluxová choroba s ezofagitídou) – refluxná ezofagitída ( $n = 18$ ; 90 %), alebo K22.7 – Barrettov pažerák ( $n = 2$ ; 10 %). Typ refluxnej ezofagitídy sa stanovil na základe rozdelenia refluxnej ezofagitídy

**Tab. 4: Opis patologických nálezov na základe ezogastroduodenoskopie pacientov (n = 20) s GERD**

| Opis nálezov                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Pažerák:</b> kardia nedomyká, známky erozívnej ezofagitídy typu A a B, známky ťažkej erozívno-ulceróznej ezofagitídy typu D, vybiehajúce erytematózne ostrovčeky sliznice zadnej steny distálneho pažeráka, axiálna hiátová hernia, v distálnej tretine nález erozívno-ulceróznych lézií hĺbky 32 cm do 40 cm, histologicky overený Barrettov pažerák – prejavy intestinálnej metaplázie a známky glandulárnej dysplázie, dlhosegmentový Barrettov pažerák |
| <b>Žalúdok:</b> riasy autoplastické, v prepylorickej oblasti prítomná erytematózna lézia, axiálna hiátová hernia, výraznejšie erytematózno-edematózne zmeny zadnej steny korpoantrálnej oblasti s drobnou ulceráciou do 0,5 cm, pylorus spastický, erytematózno-nodulárne zmeny v oblasti zadnej steny linea serrata, recidivujúca hiátová hernia, chronická gastritída                                                                                       |
| <b>Duodenum:</b> erytematózna a edematózna sliznica, bulbitída                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

A – prítomný, N – neprítomný

**Tab. 5: Diagnózy pacientov (n = 20)**

| Pacient | Diagnóza                                                      |
|---------|---------------------------------------------------------------|
| 1       | Refluxná erozívna ezofagitída typu A                          |
| 2       | Refluxná erozívna ezofagitída typu A + axiálna hiátová hernia |
| 3       | Refluxná erozívna ezofagitída typu B                          |
| 4       | Refluxná erozívna ezofagitída typu A                          |
| 5       | Refluxná erozívna ezofagitída typu A                          |
| 6       | Refluxná erozívna ezofagitída typu C + hiátová hernia         |
| 7       | Refluxná erozívna ezofagitída typu D + axiálna hiátová hernia |
| 8       | Refluxná erozívna ezofagitída typu B                          |
| 9       | Refluxná erozívna ezofagitída typu A                          |
| 10      | Refluxná erozívna ezofagitída typu A                          |
| 11      | Refluxná erozívna ezofagitída typu A                          |
| 12      | Refluxná erozívna ezofagitída typu A + axiálna hiátová hernia |
| 13      | Refluxná erozívna ezofagitída typu A + axiálna hiátová hernia |
| 14      | Refluxná erozívna ezofagitída typu B + axiálna hiátová hernia |
| 15      | Refluxná erozívna ezofagitída typu D                          |
| 16      | Barrettov pažerák                                             |
| 17      | Refluxná erozívna ezofagitída typu B                          |
| 18      | Refluxná erozívna ezofagitída typu A                          |
| 19      | Barrettov pažerák                                             |
| 20      | Refluxná erozívna ezofagitída typu B                          |

dy podľa Los Angeles stupnice (stupeň A, B, C, D; Tab. 1). Refluxná ezofagitída typu A bola prítomná u 10 pacientov (50 %), typu B u 5 pacientov (25 %), typu C u 1 pacienta (5 %) a typu D u 2 pacientov (10 %). Niektorým pacientom bola stanovená aj hiátová hernia, a to 6 pacientom (30 %; najčastejšie zastúpená v kombinácii s refluxnou ezofagitídou typu A, a to u 3 pacientov).

Pacienti navštívili ambulanciu opakovane, pričom pri 1. vyšetrení u lekára-spezialistu bol vyšetrený ich zdravotný stav, na základe ktorého bola stanovená

diagnóza (Tab. 5) ako aj odporúčaná farmakologická terapia pomocou IPP, diéta a zmena životného štýlu. Diagnóza bola pacientom potvrdená vykonaním EGD vyšetrenia (Tab. 4). Farmakoterapia po 1. vyšetrení bola podávaná dlhodobo, a to užívaním IPP (Tab. 6), pričom na základe následných opakovaných kontrolných vyšetrení (1. a 2. kontrolné vyšetrenie) bolo v rámci terapie u niektorých pacientov odporúčané kombinované podávanie liečiv – IPP s prokinetikom (Tab. 7, 8).

Všetci pacienti užívali na začiatku farmakoterapie

**Tab. 6: Terapia pacientov pri 1. vyšetrení u lekára**

| Pacient | Liečba            | Dávkovanie      | Doba          |
|---------|-------------------|-----------------|---------------|
| 1       | IPP (omeprazol)   | 20 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 2       | IPP (pantoprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 3       | IPP (ezomeprazol) | 20 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 4       | IPP (omeprazol)   | 20 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 5       | IPP (pantoprazol) | 20 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 6       | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 7       | IPP (pantoprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 8       | IPP (pantoprazol) | 20 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 9       | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 10      | IPP (pantoprazol) | 20 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 11      | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 12      | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 13      | IPP (pantoprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 14      | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 15      | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 16      | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 17      | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 18      | IPP (pantoprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 19      | IPP (ezomeprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |
| 20      | IPP (pantoprazol) | 40 mg 2 x denne | min. 4 týždne |

IPP – inhibitor protónovej pumpy, min. – minimálne

IPP po dobu viac ako 4 týždňov: omeprazol o sile 20 mg užívali 2 pacienti (10 %), pantoprazol o sile 20 mg 2 pacienti (10 %) a o sile 40 mg 6 pacienti (30 %) a ezomeprazol o sile 20 mg 1 pacient (5 %) a o sile 40 mg 9 pacienti (45 %). Úvodná liečba spočívala vo vyšších dávkach IPP, následne po 1. kontrolnom vyšetrení sa prešlo na udržiavaciu dávku (napr. o sile 20 mg pantoprazolu u 35 % pacientov; 40 mg ezomeprazolu u 15 % pacientov; v kombinácii ezomeprazolu s prokinetikom itoprid u 15 % pacientov; v kombinácii ezomeprazolu s prokinetikom itoprid a H2RA u 15 % pacientov) (Tab. 7). Po dlhodobej liečbe (po 2. kontrolnom vyšetrení) sa zlepšil zdravotný stav u 13 pacientov (65 %), pričom u spomínaných pacientov došlo k vysadeniu liečby (Tab. 8).

Terapiu chirurgickým zákrokom absolvovali 2 pacienti, u ktorých došlo k recidíve hiátovej hernie. Plánovaný chirurgický zákrok je indikovaný u 3 pacientov, pričom z toho 1 pacient (pacient č. 7) operáciu

odmietol a rádionekvencia ablácia sa má vykonať u pacienta č. 19.

Na základe údajov získaných z kamennej lekárene môžeme skonštatovať, že z troch druhov IPP bol časovom intervale 2 roky (január 2023 až december 2024) najviac vydávaný prípravok s účinnou látkou pantoprazol (množstvo balení 1243) v porovnaní s omeprazolom (počet balení 1089) a ezomeprazolom (počet balení 260) (Tab. 9, 10, 11). V porovnaní sily (20 mg a 40 mg) jednotlivých účinných látok typov IPP boli vydané vo väčšom množstve balenia o sile 40 mg v porovnaní s 20 mg silou každej účinnej látky IPP (Tab. 9).

## DISKUSIA

Refluxná choroba pažeráka je ochorenie, pri ktorom dochádza k spätnému pohybu žalúdočného obsahu zo žalúdka do pažeráka alebo ústnej dutiny

**Tab. 7: Terapia pacientov pri 1. kontrolnom vyšetrení u lekára**

| Pacient | Symptómy      | Liečba a dávkovanie                                                                                        |
|---------|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 20 mg 1 x denne                                                                          |
| 2       | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 40 mg 1 x denne                                                                          |
| 3       | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) + prok. (itoprid); 20 mg 1 x denne + 50 mg 3 x denne                                     |
| 4       | pretrvávajúce | IPP (omeprazol) 20 mg 1 x denne                                                                            |
| 5       | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 20 mg 1 x denne                                                                          |
| 6       | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) + H2RA (famotidín) + prok. (itoprid) 40 mg 1 x denne + 40 mg 1 x denne + 50 mg 3 x denne |
| 7       | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) + H2RA (famotidín) + prok. (itoprid) 40 mg 1 x denne + 20 mg 1 x denne + 50 mg 3 x denne |
| 8       | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 20 mg 1 x denne                                                                          |
| 9       | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) 40 mg 1 x denne                                                                          |
| 10      | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 20 mg 1 x denne                                                                          |
| 11      | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) + H2RA (famotidín) + prok. (itoprid) 40 mg 1 x denne + 40 mg 1 x denne + 50 mg 3 x denne |
| 12      | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) + H2RA (famotidín) + prok. (itoprid) 40 mg 1 x denne + 40 mg 1 x denne + 50 mg 3 x denne |
| 13      | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 20 mg 2 x denne                                                                          |
| 14      | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) 40 mg 1 x denne                                                                          |
| 15      | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) + H2RA (famotidín) + prok. (itoprid) 40 mg 1 x denne + 20 mg 1 x denne + 50 mg 3 x denne |
| 16      | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) 20 mg 2 x denne                                                                          |
| 17      | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) + prok. (itoprid), 40 mg 1 x denne + 50 mg 3 x denne                                     |
| 18      | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 20 mg 1 x denne                                                                          |
| 19      | pretrvávajúce | IPP (ezomeprazol) 40 mg 1 x denne                                                                          |
| 20      | pretrvávajúce | IPP (pantoprazol) 20 mg 2 x denne                                                                          |

IPP – inhibitor protónovej pumpy, H2RA – blokátor histamínových H2 receptorov, prok. – prokinetikum

(Richter a Rubenstein, 2018). Čoraz častejšie postihuje toto ochorenie mladšiu generáciu, a to z dôvodu zmien stravovacích návykov, pôsobenia stresu a celosvetového nárastu obezity u pediatrickej populácie (Savarino a kol., 2017b).

Podľa Bor a kol. (2017) bol pozorovaný za posledných 20 rokov celosvetový nárast prevalencie GERD. Väčšina štúdií poukazuje na najvyššiu prevalenciu v južnej Ázii a juhovýchodnej Európe a najnižšiu v Kanade a Francúzsku (Bor a kol., 2017).

Richter a Rubenstein (2018) uvádzajú, že typickými príznakmi GERD sú pálenie záhy a regurgitácia kyseliny chlorovodíkovej (z našej skupiny pacientov boli potvrdené spomínané symptómy u 14 pacientov, t. j. 70 %). Medzi menej časté príznaky patrili: bolesť na hrudníku (u 15 % pacientov), laryngitída/škriaba-

nie v krku (1 pacient), bolesť žalúdka/vracanie, kŕče (u 13 pacientov, t. j. 65 %), suchý dráždivý kašeľ (1 pacient) a pozitívny FOB test (u 5 pacientov, t. j. 25 %). Niektorí pacienti s GERD môžu byť asymptomatickí, hlavne sa jedná o starších pacientov (Richter a Rubenstein, 2018), čo sa v našej práci nepotvrdilo.

Podľa Taraszewska (2021) k rozvoju ochorenia môže prispieť mnoho faktorov. Môžu to byť faktory, ktoré nedokážeme ovplyvniť, akými sú napr. vek, pohlavie a genetické faktory; alebo faktory ovplyvniteľné ako obezita (pozorovaná prítomnosť u 40 % nami sledovaných pacientov), aktívne fajčenie (u 25 % pacientov), príjem alkoholu (u 20 % pacientov) a kávy (u 15 % pacientov), prípadne konzumácia nevhodnej stravy (u 40 % pacientov). Niektoré štúdie ukazujú, že toto ochorenie sa vyskytuje v rovnakom pomere

**Tab. 8: Terapia pacientov pri 2. kontrolnom vyšetrení u lekára**

| 3. návšteva u lekára |               |                                                                  |
|----------------------|---------------|------------------------------------------------------------------|
| Pacient              | Symptómy      | Liečba a dávkovanie                                              |
| 1                    | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 2                    | pretrvávajúce | operácia – absolvovaná, recidivujúca hiátová hernia              |
| 3                    | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 4                    | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 5                    | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 6                    | pretrvávajúce | operácia – absolvovaná, recidivujúca hiátová hernia              |
| 7                    | pretrvávajúce | plánovaný chirurgický zákrok – odmietnutý, pokračovanie v liečbe |
| 8                    | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 9                    | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 10                   | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 11                   | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 12                   | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 13                   | pretrvávajúce | operácia – plánovaná                                             |
| 14                   | pretrvávajúce | operácia – plánovaná                                             |
| 15                   | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 16                   | pretrvávajúce | plánovaný chirurgický zákrok – dlhodobá liečba                   |
| 17                   | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 18                   | ústup         | vysadenie liečby                                                 |
| 19                   | pretrvávajúce | plánovaný chirurgický zákrok – rádiovlnová ablácia               |
| 20                   | ústup         | vysadenie liečby                                                 |

IPP – inhibitor protónovej pumpy, H2RA – blokátor histamínových H2 receptorov, prok. – prokinetikum

**Tab. 9: Prehľad celkového výdaja liečiv IPP za obdobie rokov 2023 – 2024 v lekární v Ružomberku**

| Obdobie<br>2023 – 2024     | Ezomeprazo |       | Omeprazol |       | Pantoprazol |       |
|----------------------------|------------|-------|-----------|-------|-------------|-------|
|                            | 20 mg      | 40 mg | 20 mg     | 40 mg | 20 mg       | 40 mg |
| Rok 2023                   | 38         | 107   | 249       | 274   | 241         | 347   |
| Rok 2023 spolu             | 145        |       | 523       |       | 588         |       |
| Rok 2024                   | 40         | 75    | 281       | 285   | 310         | 345   |
| Rok 2024 spolu             | 115        |       | 566       |       | 655         |       |
| Obdobie 2023 – 2024        | 78         | 182   | 530       | 559   | 551         | 692   |
| Obdobie 2023 – 2024, spolu | 260        |       | 1089      |       | 1243        |       |

u žien aj u mužov, pričom refluxná ezofagitída sa vyskytuje častejšie u mužov (Taraszewska, 2021), čo sa nám potvrdilo aj v našej štúdii, kde pacienti č. 1 – 7 boli ženy (35 %) a 8 – 20 muži (65 %). Prevalencia GERD je vyššia u ľudí vo veku 35 – 59 rokov ako u ľudí vo veku 18 – 34 rokov (Taraszewska, 2021). V našej práci sa toto tvrdenie potvrdilo, kde vzorku 18 – 34 rokov tvorili iba 4 pacienti (20 %). Častej-

ší výskyt GERD je pozorovaný u mužov ako u žien, pričom nižšia prevalencia u ženského pohlavia súvisí s účinkom estrogénu. Pokiaľ ide o symptómy GERD, ženy majú väčšiu pravdepodobnosť výskytu pálenia záhy, regurgitácie, grgania a extraezofageálnych symptómov ako muži (Kim a kol., 2016). Ďalšie štúdie poukazujú, že prevalencia symptómov GERD je vyššia u osôb vo veku nad 50 rokov v porovnaní

**Tab. 10: Výdaj liečiva IPP za rok 2023 v lekárni v Ružomberku**

| Rok 2023  | Ezomeprazol |       | Omeprazol |       | Pantoprazol |       |
|-----------|-------------|-------|-----------|-------|-------------|-------|
|           | 20 mg       | 40 mg | 20 mg     | 40 mg | 20 mg       | 40 mg |
| január    | 2           | 1     | 17        | 24    | 30          | 35    |
| február   | 1           | 9     | 24        | 27    | 15          | 31    |
| marec     | 0           | 5     | 22        | 18    | 19          | 37    |
| apríl     | 2           | 4     | 20        | 21    | 17          | 20    |
| máj       | 3           | 3     | 31        | 29    | 33          | 17    |
| jún       | 1           | 16    | 21        | 14    | 12          | 16    |
| júl       | 5           | 4     | 18        | 17    | 18          | 32    |
| august    | 2           | 9     | 20        | 22    | 26          | 23    |
| september | 13          | 9     | 15        | 25    | 22          | 39    |
| október   | 2           | 18    | 22        | 31    | 14          | 30    |
| november  | 1           | 9     | 24        | 27    | 24          | 38    |
| december  | 6           | 20    | 15        | 19    | 11          | 29    |

**Tab. 11: Výdaj liečiva IPP za rok 2024 v lekárni v Ružomberku**

| Rok 2024  | Ezomeprazol |       | Omeprazol |       | Pantoprazol |       |
|-----------|-------------|-------|-----------|-------|-------------|-------|
|           | 20 mg       | 40 mg | 20 mg     | 40 mg | 20 mg       | 40 mg |
| január    | 0           | 4     | 32        | 22    | 25          | 38    |
| február   | 10          | 7     | 18        | 15    | 31          | 40    |
| marec     | 4           | 5     | 24        | 19    | 28          | 32    |
| apríl     | 1           | 1     | 19        | 28    | 19          | 36    |
| máj       | 2           | 1     | 27        | 30    | 15          | 18    |
| jún       | 2           | 9     | 17        | 24    | 23          | 25    |
| júl       | 4           | 2     | 15        | 16    | 35          | 33    |
| august    | 1           | 7     | 24        | 25    | 25          | 17    |
| september | 1           | 12    | 33        | 26    | 34          | 20    |
| október   | 13          | 7     | 26        | 33    | 32          | 28    |
| november  | 0           | 11    | 28        | 26    | 25          | 37    |
| december  | 2           | 9     | 18        | 21    | 18          | 21    |

s osobami vo veku do 50 rokov. Zaujímavosťou je, že príznaky GERD (pálenie záhy a regurgitácia) sa s pribúdajúcim vekom znižujú. V súčasnosti je veľký nárast ochorenia u mladých pacientov vo veku 30 – 39 rokov, nakoľko sú v dnešnej dobe vystavení väčšiemu počtu a vplyvu rizikových faktorov podieľajúcich sa na vzniku GERD v porovnaní s obdobím pred 10 rokmi (Yamasaki a kol., 2018).

Diagnostika GERD závisí od klinického obrazu pacienta a terapeutickej odpovede po liečbe IPP. Empi-

rická liečba za pomoci IPP by mala byť prvým farmakoterapeutickým krokom u pacientov s typickými príznakmi GERD (Vayal-Veettil a Gyawali, 2025).

Závažnosť refluxnej ezofagitídy je klasifikovaná podľa stupnice Los Angeles v 4 stupňoch A, B, C, D; kde stupeň D je najhorší (Clarrett a Hachem, 2018). Naším pacientom bola diagnostikovaná refluxná ezofagitída v nasledovnej klasifikácii: typ A (pacient č. 1, 2, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 18; 50 %), typ B (pacient č. 3, 8, 14, 17, 20; 25 %), typ C (pacient č. 6; 5 %), typ D

(pacient č. 7, 15; 10 %) a Barrettov pažerák (pacient č. 16, 19; 10 %).

Základom farmakologickej liečby GERD sú liečivá, ktoré znižujú tvorbu žalúdočnej kyseliny – inhibítory protónovej pumpy (IPP), blokátory histamínových H<sub>2</sub> – receptorov a prokinetiká. Najpoužívanejším liečivom sú IPP, ktoré sú na trhu už viac ako 25 rokov. U pacientov s erozívnu refluxnou ezofagitídou je rýchlosť hojenia sliznice a úľava od symptómov vyššia u pacientov užívajúcich IPP v porovnaní s H<sub>2</sub>RA. Priemerný podiel vyliečenia pacientov pomocou IPP je 83,6 % v porovnaní s podávaním H<sub>2</sub>RA (51,9 %) (Shi a kol., 2019). Katz a kol. (2022) uvádzajú, že pomocou IPP došlo k výrazne rýchlejšej úľave od pálenia záhy (11,5 %/týždeň) v porovnaní s H<sub>2</sub>RA (6,4 %/týždeň). V našej vzorke pacientov sa po 7-mesačnej dlhodobej liečbe zlepšil zdravotný stav u 13 pacientov (65 %) s refluxnou erozívnu ezofagitídou, pričom u spomínaných pacientov došlo k vysadeniu liečby.

Udržiavacia liečba za pomoci IPP by mala byť podávaná pacientom trpiacim GERD vrátane závažnej ERD (stupeň C alebo D) a Barrettovým pažerákom. Pri refluxnej ezofagitíde typu C dochádza k návratu ochorenia do 6 mesiacov u takmer 100 % pacientov (Katz a kol., 2022). Niektorí pacienti ukončia liečbu hneď po ústupe príznakov. Rettura a kol. (2021) uvádzajú, že 55 % pacientov užívalo pri liečbe GERD IPP raz alebo dvakrát denne počas 4 týždňov podľa predpisu (v našej vzorke pacientov ich užívalo 100 %), pričom až 37 % užívalo liek 12 dní alebo menej, čo spôsobilo rekurenciu ochorenia.

Refraktérna GERD je definovaná ako prítomnosť pretrvávajúcich príznakov GERD napriek optimálnej liečbe s IPP, ktorá pozostáva z dvojnásobnej dávky IPP počas najmenej ôsmich týždňov. Americký úrad pre kontrolu potravín a liečiv odporúča užívanie jednorazovej dávky počas 4 – 8 týždňov (Yadlapati a DeLay, 2018). Odhaduje sa, že až 40 % pacientov nereaguje na liečbu IPP. Takýmto pacientom, kde zlyhá farmakologická liečba, je odporúčaná chirurgická terapia (Moore a kol., 2016). V našej vzorke pacientov sa spomínané odporúčanie navrhlo 7 pacientom, t.

j. 35 %. Chirurgický zákrok je pacientom indikovaný aj po úspešnej farmakologickej liečbe, najmä pacientom s indikáciou Barrettovho pažeráka (Moore a kol., 2016) (v našej štúdii indikovaný u 2 pacientov, t. j. u 10 %) a pacientom, ktorí majú zdravotné ťažkosti spôsobené hiátovou herniou (Moore a kol., 2016) (v našej štúdii indikovaný u 6 pacientov, t. j. u 30 %). Moore a kol. (2016) tvrdia, že u väčšiny pacientov po antirefluxnej operácii (69 mesiacov po operácii) sa sledovalo zlepšenie zdravotného stavu a došlo k vymiznutiu pálenia záhy, a to u 90 % pacientov, regurgitácie u 92 % pacientov a dysfágie u 75 % pacientov. Dôležitým zistením je fakt, že u pacientov s Barrettovým pažerákom podrobených chirurgickej terapii došlo k ústupu gastroezofageálneho refluxu u 79 % pacientov.

Celková prognóza u pacientov s GERD je priaznivá, pokiaľ je ochorenia dostatočne včas diagnostikované a následne liečené (Vayal-Veettil a Gyawali, 2025), čo zodpovedá výsledkom v sledovanej skupine pacientov, v ktorej bol pozorovaný ústup symptómov ako aj vysadenie farmakoterapie po 2. kontrolnom vyšetrení, a to u 13 pacientov, čo pomerne predstavuje 65 %.

## ZÁVER

Gastroezofágová refluxová choroba patrí v súčasnosti medzi rozšírené gastroenterologické ochorenia u dospelých pacientov. Príčinou ochorenia môžu byť rôzne mechanické poškodenia pažeráka alebo životný štýl pacienta súvisiaci hlavne so zložením prijímanej potravy pacienta.

Pri nedostatočnej liečbe ochorenia môže dôjsť k závažnejším komplikáciám ako napr. vznik vredov, chronického zápalu a/alebo adenokarcinómu pažeráka. Liečba je u väčšiny pacientov dlhodobá a vyžaduje si endoskopické pozorovanie, u niektorých pacientov aj chirurgický zákrok. Hlavným cieľom liečby je odstrániť symptómy, ktoré pacientom znižujú kvalitu života. Najúčinnnejšou možnosťou liečby je užívanie inhibítorov protónovej pumpy, kde maximálny účinok liečby sa dosiahne pri podaní liečiva nalačno, t.

j. minimálne 30 minút pred konzumáciou potravy. Pri udržiavacej liečbe sa môžu IPP kombinovať s inými liečivami ako sú blokátory H<sub>2</sub> receptorov a prokinetiká.

Priaznivý účinok IPP v kombinácii s inými liečivami bol pozorovaný aj v našej práci, kde u väčšiny pacientov bolo zaznamenané potlačenia symptómov ochorenia ako aj ukončenie farmakoterapie.

### Konflikt záujmov

Autori tejto práce čestne vyhlasujú a deklarujú, že nie sú v konflikte záujmov v súvislosti s touto prácou.

### Použitie nástrojov umelej inteligencie

Autori prehlasujú, že pri práci na tejto štúdii neboli použité nástroje generatívnej umelej inteligencie.

### Etické aspekty

Práca bola vykonaná v súlade s etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie, pričom údaje boli poskytnuté z dekurzov pacientov gastroenterologickej ambulancie v Snine pri zachovaní všeobecného nariadenia o ochrane údajov.

### Financovanie

Táto práca vznikla za podpory Kultúrnej a edukačnej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky KEGA, a to projektu KEGA 010UVLF-4/2025.

### Príspevky autorov

Szabóová Renáta a Sidónia Krivjančinová navrhli koncepciu štúdie, zozbierali a analyzovali údaje. Zároveň sa Szabóová Renáta, Krivjančinová Sidónia a Faixová Zita podieľali na príprave ako aj tvorbe textu a formálnej ako aj rozsahovej úprave práce. Zároveň sa celý autorský kolektív podieľal na revízii rukopisu práce.

## ZOZNAM LITERATÚRY

Argyrou, A., Legaki, E., Koutserimpas, C., Gazouli, M., Papaconstantinou, I., Gkiokas, G., Kara-

manolis, G.: Risk factors for gastroesophageal reflux disease and analysis of genetic contributors. *World Journal of Clinical cases*, 2018, 6 (8), 176 – 182. DOI: 10.12998/wjcc.v6.i8.176.

Bor, S., Kitapcioglu, G., Kasap, E.: Prevalence of gastroesophageal reflux disease in a country with a high occurrence of *Helicobacter pylori*. *World Journal of Gastroenterology*, 2017, 23 (3), 525 – 532. DOI: 10.3748/wjg.v23.i3.525.

Camillieri, M., Malhi, H., Acosta, A.: Gastrointestinal Complications of Obesity. *Gastroenterology*, 2017, 152 (7), 1656 – 1670. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.12.052.

Clarrett, D. M., Hachem, Ch.: Gastroesophageal Reflux Disease (GERD). *Missouri Medicine*, 2018, 115 (3), 214 – 218. PMCID: PMC6140167.

Herdiana, Y.: Functional Food in Relation to Gastroesophageal Reflux Disease (GERD). *Nutrients*, 2023, 15 (16), 3583. DOI: 10.3390/nu15163583.

Katz, P., Dunbar, K. B., Schnoll-Sussman, F. H., Greer, K. B., Yadlapati, R., Spechler, S. J.: ACG Clinical Guideline for the Diagnosis and Management of Gastroesophageal Reflux Disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 2022, 117 (1), 27 – 56. DOI: 10.14309/ajg.0000000000001538.

Këllici, I., Kraja, B.: Smoking, alcohol, physical activity and gastroesophageal reflux disease: A literature review and the Albanian experience. *Albanian Medical Journal*, 2014, 4, 91 – 98.

Kim Y. S., Kim, N., Kim, G. H.: Sex and Gender Differences in Gastroesophageal Reflux Disease. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 2016, 22 (4), 575 – 588. DOI: 10.5056/jnm16138.

Kościelniak-Merak, B., Radosavljević, B., Zajac, A.: Faecal Occult Blood Point-of-Care Tests. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 2018, 49, 402 – 405. DOI: 10.1007/s12029-018-0169-1.

Lin, S., Li, H., Fang, X.: Esophageal Motor Dysfunctions in Gastroesophageal Reflux Disease and Therapeutic Perspectives. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 2019, 25 (4), 499 – 507. DOI: 10.5056/jnm19081.

Mirossay, L., *Základná farmakológia a far-*

makoterapia. Košice: EQUILIBRIA, 2021. 1156 s. ISBN 978-80-8143-273-6.

Moore, M., Afaneh, C., Benhuri, D., Antonacci, C., Abelson, J., Zarnegar, R.: Gastroesophageal reflux disease: A review of surgical decision making. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2016, 8 (1), 77 – 83. DOI: 10.4240/wjgs.v8.i1.77.

Muthusamy, R.V., Lightdale, J. R., Acosta, R. D., Chandrasekhara, V., Chathadi, K. V., Eloubeidi, M. A., Fanelli, R. D., Fonkalsrud, L., Faulx, A. L., Khashab, M. A., Saltzman, J. R., Shaukat, A., Wang, A., Cash, B., DeWitt, J. M.: The role of endoscopy in the management of GERD. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2015, 81 (6), 1305 – 1310. DOI: 10.1016/j.gie.2015.02.021.

Rettura, F., Bronzini, F., Campigotto, M., Lambiase, C., Pancetti, A., Berti, G., Marchi, S., de Bortoli, N., Zerbib, F., Savarino, E., Bellini, M.: Refractory Gastroesophageal Reflux Disease: A Management Update. *Frontiers in medicine*, 2021, 8:765061. DOI: 10.3389/fmed.2021.765061.

Richter, J. E., Rubenstein, J. H.: Presentation and Epidemiology of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology*, 2018, 154 (2), 267 – 276. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.07.045.

Savarino, E., Marabotto, E., Bodini, G., Pellegatta, G., Coppo, C., Giambruno, E.: Epidemiology and natural history of gastroesophageal reflux disease. *Minerva gastroenterology*, 2017a, 63 (3), 83 – 175. DOI: 10.23736/S1121-421X.17.02383-2.

Savarino, E., de Bortoli, N., De Cassan, C., Della Coletta, M., Bartolo, O., Furnari, M., Ottonello, A., Marabotto, E., Bodini, G., Savarino, V.: The natural history of gastro-esophageal reflux disease: a comprehensive review. *Diseases of the Esophagus*, 2017b, 30, 1 – 9. DOI: 10.1111/dote.12511.

Shi, Y. Ch., Cai, S.T, Tian, Y. P, Zhao, H. J, Zhang, Y. B, Chen, J., Ren, R. R, Luo, X., Peng, L. H, Sun, G., Yang, Y. S.: Effects of Proton Pump Inhibitors on the Gastrointestinal Microbiota in Gastroesophageal Reflux Disease. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 2019, 17 (1), 52 – 63. DOI: 10.1016/j.gpb.2018.12.004.

Schoofs, N., Bisschops, R., Prenen, H.: Progression of Barrett's esophagus toward esophageal adenocarcinoma: an overview. *Annals of Gastroenterology*, 2017, 30 (1), 1 – 6. DOI: 10.20524/aog.2016.0091.

Tack, K. J., Pandolfino, J. E.: Pathophysiology of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology*, 2018, 154 (2), 277 – 288. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.09.047.

Taraszevska, A.: Risk factors for gastroesophageal reflux disease symptoms related to lifestyle and diet. *Journal of the National Institute of Public Health*, 2021, 72 (1), 21 – 28. DOI: 10.32394/rpzh.2021.0145.

Vayal-Veettil, A., Gyawali, P.: Diagnosis and Management of Gastroesophageal Reflux Disease: Current Insights. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 2025, 18, 149 – 162. DOI: 10.2147/CEG.S507237.

Yadlapati, R., Delay, K.: PPI Refractory Gastroesophageal Reflux Disease. *Medical Clinics of North America*, 2018, 103 (1), 15 – 27. DOI: 10.1016/j.mcna.2018.08.002.

Yamasaki, T., Hemond, C., Eisa, M., Ganocy, S., Fass, R.: The Changing Epidemiology of Gastroesophageal Reflux Disease: Are Patients Getting Younger? *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 2018, 24 (4), 559 – 569. DOI: 10.5056/jnm18140.

Zheng, Z., Shang, Y., Wang, N., Liu, X., Xin, C., Yan, X., Zhai, Y., Yin, J., Zhang, J., Zhang, Z.: Current Advancement on the Dynamic Mechanism of Gastroesophageal Reflux Disease. *International Journal of Biological Sciences*, 2021, 17 (15), 4154 – 4164. DOI: 10.7150/ijbs.65066.



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

### NOVÉ TRENDY V TERAPII KARCINÓMU PRSNÍKA INHIBÍTORMI CDK4/6

### NOVEL TRENDS IN BREAST CANCER THERAPY USING CDK4/6 INHIBITORS

**Faixová, Zita<sup>1\*</sup>; Boháčiková, Simona<sup>1</sup>; Faixová, Dominika<sup>2</sup>; Szabóová, Renáta<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra biológie a fyziológie, <sup>2</sup>Katedra farmaceutickej technológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

#### OPEN ACCESS

\*Korešpondenčný autor: [zita.faixova@uvlf.sk](mailto:zita.faixova@uvlf.sk)

**Citovanie:** Faixová, Z., Boháčiková, S., Faixová, D., Szabóová, R.: Nové trendy v terapii karcinómu prsníka inhibítormi CDK4/6. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 36 – 46.

**Prijaté:** 03.07.2026

**Akceptované:** 27.07.2026

**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Faixová, Z., Boháčiková, S., Faixová, D., Szabóová, R. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-Non-Commercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**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.

#### ABSTRAKT

Karcinóm prsníka predstavuje najčastejšie diagnostikované zhubné ochorenie u žien a zároveň patrí medzi hlavné príčiny onkologickej mortality celosvetovo, aj na Slovensku. Napriek pokrokom v skríningu a včasnej diagnostike u časti pacientok dochádza k rozvoju lokálne pokročilého alebo metastatického ochorenia, ktoré si vyžaduje dlhodobú systémovú liečbu. Najčastejším biologickým podtypom je hormonálne receptor-pozi-

tívny (HR+) a negatívny na receptor 2 pre ľudský epidermálny rastový faktor (HER2-) karcinóm prsníka (HR+/HER2-), pri ktorom predstavuje endokrinná terapia základ liečby. Zavedenie inhibítorov cyklín-dependentných kináz CDK4/6 významne rozšírilo terapeutické možnosti tejto skupiny pacientok. Cieľom práce bolo zhodnotiť klinické a farmaceutické aspekty terapeutického využitia inhibítorov CDK4/6. Práca je založená na analýze troch klinických kazuistík pacientok s HR+/HER2- lokálne pokročilým alebo metastatickým karcinómom prsníka liečených palbociklibom, ribociklibom alebo abemaciklibom v kombinácii s endokrinnou terapiou. Hodnotená bola terapeutická odpoveď, tolerancia liečby, výskyt nežiaducich účinkov a faktory ovplyvňujúce výber konkrétnej molekuly v klinickej praxi. Výsledky poukazujú na význam individualizovaného prístupu pri voľbe liečby a potrebu komplexného hodnotenia účinnosti a bezpečnosti inhibítorov CDK4/6 v reálnej klinickej praxi.

**Kľúčové slová:** abemaciklib; CDK4/6 inhibítory; endokrinná terapia; HR+/HER2-; karcinóm prsníka; palbociklib; ribociklib

## ABSTRACT

**Breast cancer is the most frequently diagnosed malignant disease in women and remains one of the leading causes of cancer-related mortality both, worldwide and in Slovakia. Despite advances in screening and early diagnosis, a proportion of patients develop locally advanced or metastatic disease requiring long-term systemic treatment. The most common biological subtype is hormone receptor-positive (HR+) and human epidermal growth factor receptor 2 negative (HER2-) breast cancer (HR+/HER2-), in which endocrine therapy represents the cornerstone of treatment. The introduction of cyclin-dependent kinase 4 and 6 (CDK4/6) inhibitors has significantly expanded the therapeutic options for this group of patients. The aim of this study was to evaluate the clinical and pharmaceutical aspects of therapeutic use of CDK4/6 inhibitors. The study is based on the analysis of three clinical case studies of patients with HR+/HER2- locally advanced or metastatic breast cancer treated with palbociclib, ribociclib, or abemaciclib in combination with endocrine therapy. Treatment response, tolerability, adverse events, and factors influencing the selection of a specific molecule in clinical practice were evaluated. The results highlight the importance of an individualized treatment approach and the need for comprehensive assessment of the efficacy and safety of CDK4/6 inhibitors in real-world clinical practice.**

**Key words: abemaciclib; breast cancer; CDK4/6 inhibitors; endocrine therapy; HR+/HER2-; palbociclib; ribociclib**

## ÚVOD

Karcinóm prsníka je najčastejším zhubným ochorením u žien a významnou príčinou ich mortality. Ide o komplexné, multifaktoriálne ochorenie, ktorého výskyt a prognóza sa líšia medzi jednotlivými regiónmi v dôsledku rozdielov v demografii, život-

nom štýle, genetickej predispozícii a dostupnosti zdravotnej starostlivosti. V posledných desaťročiach sa zaznamenal nárast výskytu karcinómu prsníka, čo súvisí so zmenami v expozícii rizikovým faktorom aj s pokrokom v diagnostike (Nascimento a Otoni, 2020).

Zavedenie skríningových programov prispelo k včasnejšiemu záchytu ochorenia a zlepšeniu prognózy, zároveň však poukázalo na potrebu individualizovaného prístupu k prevencii a liečbe.

Významným posunom v pochopení ochorenia je rozvoj molekulárnej klasifikácie, ktorá odhalila biologickú heterogenitu karcinómu prsníka a umožnila rozvoj cielej liečby.

Na základe rozsiahlych štúdií génovej expresie boli definované štyri klinicky významné molekulárne podtypy: luminal A, luminal B, HER2-pozitívny (HER2+) a trojnásobne negatívny (TN) karcinóm prsníka (Nascimento a Otoni, 2020).

HER2+ karcinóm predstavuje približne 15 – 20 % novo diagnostikovaných prípadov karcinómu prsníka a je charakterizovaný zvýšenou expresiou HER2 (> 10 %), negativitou estrogénového receptora (ER) (< 1 %), nízkou alebo neprítomnou expresiou progesterónového receptora (PR) (< 20 %) a vysokou proliferáčnou aktivitou, vyjadrenou zvýšenými hodnotami Ki-67 (> 20 %) (Nascimento a Otoni, 2020).

V hormonálne dependentných nádoroch zohráva kľúčovú úlohu regulácia bunkového cyklu, ktorej poruchy vedú k nekontrolovanej proliferácii nádorových buniek. Moderná liečba sa preto zameriava na cieleňú inhibíciu týchto mechanizmov. Inhibítory CDK4/6 v kombinácii s endokrinnou terapiou predstavujú významný pokrok v liečbe hormonálne receptor pozitívneho (HR+) a HER2- karcinómu prsníka, keďže zlepšujú kontrolu ochorenia, predlžujú prežívanie bez progresie a oddávajú potrebu chemoterapie (Trapani a kol., 2025).

Endokrinná terapia predstavuje základnú systémovú liečbu hormonálne receptor-pozitívneho (HR+) a HER2-negatívneho metastatického karcinómu prsníka. Jej cieľom je potlačenie estrogénovej signalizácie prostredníctvom blokády ER, inhibície syntézy

estrogénu alebo degradácie receptorov, čím dochádza k spomaleniu proliferácie nádorových buniek.

Selektívne modulátory ER sa viažu na estrogénové receptory a vykazujú tkanivovo špecifický účinok. Môžu pôsobiť ako agonisty alebo antagonisty v závislosti od cieľového tkaniva. V súčasnej dobe nachádzajú uplatnenie najmä v terapii estrogén-dependného karcinómu prsníka, osteoporózy a prejavov menopauzy. Do tejto skupiny liečiv patrí tamoxifén. Tamoxifén sa kompetitívne viaže na ER a v prsnom tkanive blokuje ich aktiváciu estrogénom, čím inhibuje proliferáciu nádorových buniek a spomaľuje bunkový cyklus. Tým sa vysvetľuje jeho cytostatický účinok. Naopak, v kostnom tkanive vyazuje parciálny estrogénový agonizmus, čím prispieva k udržiavaniu kostnej denzity. Tamoxifén je spojený so širokým spektrom nežiaducich účinkov, pričom závažné alebo fatálne komplikácie sú zriedkavé.

Zavedenie účinnejších inhibítorov aromatázy a vývoj selektívnych degradátorov estrogénového receptora (SERD) postupne zúžili terapeutické využitie tamoxifénu. Spomedzi inhibítorov aromatázy zohráva významnú úlohu najmä letrozol, ktorý sa etabloval ako štandardná súčasť adjuvantnej aj paliatívnej liečby hormonálne receptor-pozitívneho karcinómu prsníka u postmenopauzálnych žien. Letrozol patrí medzi nesteroidné inhibítory aromatázy tretej generácie a pôsobí ako kompetitívny inhibítor aromatázy väzbou na hémový ión cytochrómu P450, čím znižuje sérové hladiny estrogénu a estradiolu. U premenopauzálnych žien sú inhibítory aromatázy účinné len v kombinácii so supresiou alebo abláciou vaječníkov (Bradley a kol., 2022).

SERD predstavujú novú generáciu antiestrogénov využívaných v endokrinnej terapii. Tieto liečivá sa viažu na ER a podporujú jeho proteazomálnu degradáciu, čím dochádza k zníženiu jeho celkovej funkčnej aktivity. SERD pôsobia konzistentne ako čisti antagonisti ER. Do tejto triedy patrí fulvestrant, ktorý bol do januára 2023 jediným zástupcom schváleným americkým Úradom pre kontrolu potravín a liečiv (FDA) (Neupane a kol., 2024).

Inhibítory CDK4/6 sú deriváty pyridopyrimidínu

alebo pyrazol-pyrimidínu, ktoré sú chemicky optimalizované na selektívnu inhibíciu kináz CDK4 a CDK6 oproti iným serín-treonínovým kinázam. FDA a Európska lieková agentúra (EMA) schválili tri selektívne inhibítory CDK4/6 – palbociklib, ribociklib a abemaciklib na liečbu hormonálne receptor-pozitívneho, HER2-negatívneho karcinómu prsníka (Liu a kol., 2025).

Palbociklib je v súčasnosti indikovaný v kombinácii s inhibítorom aromatázy ako hormonálna liečba prvej línie, ako aj v kombinácii s fulvestrantom u pacientok s progresiou ochorenia po predchádzajúcej endokrinnej terapii. Farmakokinetické parametre môžu byť ovplyvnené faktormi, ako sú telesná hmotnosť, rasa, porucha funkcie pečene či adherencia k liečbe. Najčastejším nežiaducim účinkom je neutropénia, ktorá často vedie k úprave dávky alebo prerušeniu liečby (Courlet a kol., 2022).

Ribociklib je perorálne podávaný inhibítor CDK4/6 a je prvý liek tejto triedy určený pre premenopauzálnu ženu s lokálne pokročilým alebo metastatickým karcinómom prsníka HR+/HER2-. Používa sa v kombinácii s inhibítormi aromatázy ako iniciálna forma endokrinnej liečby, pričom u premenopauzálnych a perimenopauzálnych pacientok je nevyhnutné súčasné podávanie agonistov hormónu uvoľňujúceho luteinizačný hormón (LHRH). Najčastejšie nežiaduce účinky ribociklibu zahŕňajú neutropéniu a iné hematologické poruchy, gastrointestinálne ťažkosti, únavu, infekcie a zvýšenú aktivitu pečeneových enzýmov, pričom menej často sa vyskytuje predĺženie QT intervalu či pneumónia (Gao a kol., 2025).

Abemaciklib je perorálny inhibítor CDK4/6 a je indikovaný pri karcinóme prsníka HR+/HER2- v skorom aj pokročilom štádiu. V adjuvantnej liečbe sa podáva v kombinácii s endokrinnou terapiou u pacientov s pozitívnymi lymfatickými uzlinami a vysokým rizikom recidívy, zatiaľ čo v pokročilom alebo metastatickom štádiu sa používa ako monoterapia alebo v kombinácii s fulvestrantom. U premenopauzálnych a perimenopauzálnych pacientok je potrebné súbežné podávanie agonistov hormónu uvoľňujúceho gonadotropín. Bezpečnostný profil abemaciklibu je cha-

rakterizovaný najmä výskytom hnačky, neutropénie a únavy (Gao a kol., 2025).

Cieľom práce bolo zhodnotiť terapeutické využitie inhibítorov CDK4/6 na základe klinických kazuistik pacientok s HR+, HER2-negatívnym karcinómom prsníka.

## MATERIÁL A METÓDY

Do analýzy boli zaradené tri klinické kazuistiky pacientok s HR+, HER2-negatívnym lokálne pokročilým alebo metastatickým karcinómom prsníka. Pacientky boli liečené inhibítormi CDK4/6 v prvej línii v kombinácii s endokrinnou terapiou. Údaje boli získané zo zdravotnej dokumentácie pacientok liečených v Ambulancii klinickej onkológie. Predmetom hodnotenia bola odpoveď na liečbu, výskyt nežiaducich účinkov, potreba úpravy dávkovania alebo prerušenia liečby, ako aj klinické faktory ovplyvňujúce terapeutické rozhodovanie. Získané údaje boli spracované opisnou a analytickou metódou.

Práca je v súlade s požiadavkami Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/679 (GDPR) a s príslušnými ustanoveniami zákona č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov. Spracovanie údajov bolo schválené príslušným zdravotníckym zariadením a je v súlade s etickými zásadami zdravotného zariadenia. Poskytnuté údaje boli použité výlučne na účely vypracovania retrospektívnej štúdie a neboli poskytnuté tretím stranám.

## VÝSLEDKY

Na základe analyzovaných lekárskeho záznamov pacientiek liečených inhibítormi CDK4/6 boli spracované tri kazuistiky. V jednotlivých kazuistikách je opísaný klinický priebeh ochorenia, biologické charakteristiky nádoru, zvolená systémová liečba a jej tolerancia počas sledovania pacientok. Súčasťou kazuistik je aj zhodnotenie priebehu liečby a vývoja ochorenia u pacientok č. 1, 2 a 3.

### Kazuistika č. 1

Pacientka č. 1 narodená v roku 1971, postmenopauzálna, bola diagnostikovaná s lokálne pokročilým karcinómom ľavého prsníka v klinickom štádiu III.C (T4N3Mx). Primárny nádor predstavoval tumoróznú masu presahujúcu 2 – 3 cm, ktorá vyplňovala takmer celý ľavý prsník. Klinicky bola prítomná retrakcia podkožia, čo zodpovedalo klasifikácii T4 podľa TNM klasifikácie, pričom súčasne boli prítomné pakety pozitívnych lymfatických uzlín v axilárnej oblasti, klasifikované ako N3. V osobnej anamnéze pacientky bola prítomná arteriálna hypertenzia I. až II. stupňa.

Dňa 7. novembra 2022 bola realizovaná biopsia tumoru ľavého prsníka, ktorá potvrdila invazívny karcinóm prsníka typu NST (no special type), histologického stupňa G2. Imunohistochemické vyšetrenie preukázalo pozitivitu ER približne v jednej tretine nádorových buniek a PR približne v dvoch tretinách buniek, HER2-negatívny status a proliferatívny index Ki-67 približne 20 %. Na základe biologických charakteristík nádoru a klinického štádia ochorenia bola indikovaná systémová liečba.

Od 13. decembra 2022 bola zahájená systémová liečba kombináciou inhibítora aromatázy letrozolu a CDK4/6 inhibítora abemaciclibu v dávke 150 mg, podávaná ako prvá línia liečby hormonálne receptor-pozitívneho HER2- negatívneho karcinómu prsníka. Výber abemaciclibu bol ovplyvnený viacerými faktormi, najmä relatívne nižším vekom pacientky, veľkosťou primárneho tumoru, postihnutím axilárnych lymfatických uzlín a prítomnosťou arteriálnej hypertenzie. Počas celej liečby pacientka nepodstúpila chemoterapiu. V priebehu liečby dochádzalo k postupnej regresii nádorového procesu, čo bolo potvrdené zobrazovacími vyšetreniami.

Po približne dvoch rokoch systémovej liečby bola realizovaná radikálna mastektómia ľavého prsníka s disekciou axilárnych lymfatických uzlín. Histopatologické vyšetrenie operačného preparátu preukázalo kompletnú patologickú regresiu primárneho tumoru bez prítomnosti reziduálneho nádorového tkaniva, pričom v jednej lymfatickej uzline bola prítomná metastáza veľkosti 4 mm. Na základe týchto nálezov

**Tab.1: Základná charakteristika kazuistiky č. 1**

| Charakteristika  | Údaj                                                |
|------------------|-----------------------------------------------------|
| Pacientka        | 1971, postmenopauza                                 |
| Diagnóza         | Karcinóm ľavého prsníka, štádium III.C              |
| Histológia       | Invazívny karcinóm NST, G2                          |
| Biomarkery       | ER+, PR+, HER2–, Ki-67 ~20 %                        |
| Liečba           | Letrozol + abemaciclib → mastektómia → rádioterapia |
| Nežiaduce účinky | Hnačky počas liečby abemaciclibom 150 mg            |
| Výsledok         | Kompletná regresia tumoru, mikrometastáza 4 mm      |
| Aktuálny stav    | Bez metastáz, liečba pokračuje                      |

bola pacientke indikovaná adjuvantná rádioterapia.

Pacientka následne absolvovala rádioterapiu na hrudnú stenu a regionálne lymfatické oblasti vrátane axilárnych a supraklavikulárnych uzlín, s celkovou dávkou 70 Gy. Počas rádioterapie bol abemaciclib dočasne prerušený, pričom letrozol bol podávaný kontinuálne. Po ukončení ožarovania bol abemaciclib približne po dvoch týždňoch opätovne nasadený.

Po približne dvojročnom podávaní abemaciclibu sa u pacientky objavili nežiaduce gastrointestinálne účinky vo forme hnačiek, ktoré znižovali toleranciu liečby. Z tohto dôvodu bola v novembri 2025 dávka abemaciclibu redukovaná na 100 mg, čo viedlo k ústupu hnačiek a výraznému zlepšeniu tolerancie liečby.

V súčasnosti je pacientka bez známk metastatického ochorenia. Kontrolné zobrazovacie vyšetrenia vrátane CT a sonografického vyšetrenia pľúc a brušnej dutiny opakovane nepreukázali prítomnosť vzdialených metastáz. Súčasťou pravidelného sledovania bolo aj vyšetrenie nádorových markerov karcinoembryonálny antigén CEA a nádorový antigén CA 15-3, ktorých hodnoty sa počas sledovania pohybovali v referenčných medziach. Pacientka pokračuje v liečbe abemaciclibom v dávke 100 mg dvakrát denne v kombinácii s letrozolom 1x denne, pričom liečba je dobre tolerovaná a bez aktuálnych gastrointestinálnych ťažkostí. Základné charakteristiky kazuistiky č. 1 uvádza tab. 1.

## Kazuistika č. 2

Pacientka č. 2, narodená v roku 1938, postmenopauzálna, bola diagnostikovaná s lokálne pokročilým a metastatickým karcinómom prsníka vľavo (štádium IV). Diagnóza bola stanovená na základe biopsie realizovanej 20.4.2022, ktorá potvrdila prítomnosť invazívneho karcinómu prsníka s infiltráciou kože a hrudnej steny. Súčasne boli pri stagingových vyšetreniach potvrdené pľúcne metastázy s prítomným fluidotoraxom.

Imunohistochemické vyšetrenie tumoru preukázalo hormonálnu pozitivitu ER a PR, pričom HER2 receptor bol negatívny. Proliferačný index Ki-67 bol približne 15 %, čo zodpovedá strednej proliferacej aktivite tumoru. Na základe uvedených charakteristík bol nádor klasifikovaný ako hormonálne dependentný HER2-negatívny karcinóm prsníka.

Pri výbere systémovej liečby sa zohľadňoval vyšší vek pacientky, obezita a prítomnosť viacerých komorbidít vrátane kardiologického ochorenia s mierne zníženou ejekčnou frakciou. Z uvedených dôvodov bol ako najvhodnejší CDK4/6 inhibítor zvolený palbociklib, ktorý má priaznivejší profil nežiaducich účinkov.

V máji 2022 bola začatá hormonálna liečba letrozolom, pričom od 12. júla 2022 bola liečba rozšírená o CDK4/6 inhibítor palbociklib v rámci prvej línie liečby metastatického ochorenia. Napriek dobrému terapeutickému efektu bola liečba palbociklibom komplikovaná výraznou hematologickou toxicitou, najmä leukopéniou, neutropéniou a trombocytopé-

**Tab. 2: Základná charakteristika kazuistiky č. 2**

| Charakteristika  | Údaj                                                               |
|------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Pacientka        | 1938, postmenopauza                                                |
| Diagnóza         | Lokálne pokročilý metastatický karcinóm ľavého prsníka, štádium IV |
| Histológia       | Invazívny karcinóm prsníka s infiltráciou kože a hrudnej steny     |
| Biomarkery       | ER+, PR+, HER2-, Ki-67 ~15 %                                       |
| Liečba           | Letrozol + palbociklib → zmena na abemaciclib                      |
| Nežiaduce účinky | Leukopénia, neutropénia, trombocytopenia                           |
| Výsledok         | Regresia primárneho tumoru a pľúcnych metastáz                     |
| Aktuálny stav    | Bez zobraziteľných pľúcnych metastáz, stabilizovaný krvný obraz    |

niou. V dôsledku tejto toxicity bolo potrebné liečbu prerušiť. Základné charakteristiky kazuistiky č. 2 uvádza tab. 2.

Z uvedeného dôvodu bola v decembri 2022 liečba modifikovaná a palbociklib bol nahradený abemaciclibom v plnej dávke 100 mg dvakrát denne, pričom hormonálna liečba letrozolom pokračovala.

Počas liečby došlo k postupnému zlepšeniu klinického aj zobrazovacieho nálezu. Kontrolné CT vyšetrenie z októbra 2022 dokumentovalo parciálnu regresiu primárneho tumoru v prsníku a následné zobrazovacie vyšetrenia potvrdili regresiu pľúcnych metastáz, sprevádzanú výrazným poklesom nádorových markerov CEA a CA 15-3 až k ich normalizácii. Pacientka pokračuje v liečbe abemaciclibom v dávke 100 mg dvakrát denne v kombinácii s letrozolom, pričom liečba prebieha bez nutnosti prerušenia a s dobrou toleranciou. Hematologické parametre sú stabilizované a krvný obraz je primeraný. Posledné kontrolné CT a ultrasonografické vyšetrenie z 7.11.2025 nepreukázali prítomnosť pľúcnych metastáz ani známky progresie ochorenia.

### Kazuistika č. 3

Pacientka č. 3, narodená v roku 1975, bola dovtedy bez závažnej osobnej anamnézy, bez kardiovaskulárnych ochorení, arteriálnej hypertenzie či iných chronických ochorení.

V auguste 2020 bola hospitalizovaná na neurologickom oddelení v období od 6.8.2020 do 26.8.2020 pre chronickú pravostrannú hemiparézu a približne

dvojmesačné pretrvávajúce bolesti v lumbosakrálnej oblasti. V rámci diagnostického procesu bolo zobrazovacími vyšetreniami zistené metastatické postihnutie tela stavca L5.

Dňa 11.8.2020 bola vykonaná biopsia tumoru ľavého prsníka, pričom prvotný histologický nález popisoval fibrosklerózu. Na základe klinického obrazu a zobrazovacích vyšetrení však vzniklo podozrenie na metastatické ochorenie, preto bola pacientka následne odoslaná na onkologické vyšetrenie.

Po multidisciplinárnom konzíliu onkológa a neurochirurga bola pacientka indikovaná k chirurgickému riešeniu metastatického postihnutia chrčtice.

Dňa 31.8.2020 podstúpila neurochirurgický výkon zahŕňajúci transpedikulárnu fixáciu stavcov L4 až S1 a laminektómiu stavcov L4 a L5. Histologické vyšetrenie operačného materiálu potvrdilo metastázu karcinómu prsníka typu NST s imunohistochemickým profilom ER+, PR+ a HER2-negatívny. Na základe týchto výsledkov bolo ochorenie klasifikované ako metastatický karcinóm prsníka v IV. klinickom štádiu.

Systémová onkologická liečba bola začatá 30.9.2020. Vzhľadom na hormonálnu senzitivitu nádoru bola indikovaná hormonálna liečba doplnená o liečbu kostných metastáz. Liečebná schéma zahŕňala denosumab určený na liečbu a prevenciu komplikácií kostných metastáz a goserelín (Tereseligo) na supresiu ovariálnej funkcie, keďže pacientka bola v tom čase premenopauzálna. Dňa 24.11.2020 bola do liečby zaradená cielená terapia inhibítorom CDK4/6

**Tab. 3: Základná charakteristika kazuistiky č. 3**

| Charakteristika  | Údaj                                                                           |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Pacientka        | narodená 1975                                                                  |
| Diagnóza         | Metastatický karcinóm ľavého prsníka, štádium IV, metastázy kosti (L5) a pľúca |
| Histológia       | Karcinóm prsníka typu NST                                                      |
| Biomarkery       | ER+, PR+, HER2–                                                                |
| Liečba           | Operácia metastázy chrbtice (L4–S1), ribociklib + letrozol + denosumab         |
| Nežiaduce účinky | Neutropénia, leukopénia, mierna hepatopatia                                    |
| Výsledok         | Regresia metastáz, stabilizácia ochorenia                                      |
| Aktuálny stav    | Bez metastáz na CT, pacientka klinicky stabilná                                |

ribociklibom (Kisqali), pôvodne v štandardnej dávke 600 mg denne. Liečba bola komplikovaná hematologickou toxicitou v podobe leukopénie a neutropénie, preto bolo dávkovanie postupne redukované na 400 mg denne, pri ktorom bola liečba pacientkou dobre tolerovaná.

Kontrolné CT vyšetrenie z 5.2.2021 preukázalo vznik nových kostných metastáz, avšak zároveň regresiu metastatického ložiska v oblasti stavca L5. V ďalšom priebehu liečby dochádzalo k postupnej stabilizácii ochorenia a následne k regresii metastatických ložísk. Od marca 2021 pacientka pokračovala v liečbe denosumabom v pravidelných intervaloch. Opakované CT vyšetrenia postupne preukázali regresiu metastáz v pľúcach aj kostiach bez vzniku nových metastatických ložísk.

Vzhľadom na premenopauzálny stav pacientky a potrebu optimalizácie hormonálnej liečby bola pacientke následne vykonaná laparoskopická hysterektómia s bilaterálnou adnexektómiou. Po chirurgickom odstránení maternice a vaječníkov bolo možné ukončiť liečbu goserelínom a pokračovať v hormonálnej liečbe letrozolom. Základné charakteristiky kazuistiky č. 3 uvádza tab. 3.

Po operácii chrbtice bola pacientka spočiatku mobilná len s pomocou francúzskych barlí. V priebehu rehabilitácie však došlo k výraznému zlepšeniu motorických funkcií a postupnej úprave neurologického stavu. V súčasnosti pacientka chodí samostatne bez opory, je plne sebestačná a zvláda bežné domáce aktivity. Napriek prekonanej hemiparéze je neurologický náález stabilizovaný.

Počas liečby ribociklibom bola okrem hematologickej toxicity zaznamenaná aj mierna hepatopatia s ľahkým zvýšením hepatálnych enzýmov, čo predstavuje známy nežiaduci účinok tejto liečby. Pacientka užíva hepatoprotektívnu liečbu silymarínom (Lagosa) a vzhľadom na stabilné hodnoty pečeňových testov nie je indikovaná zmena onkologickej liečby. Počas liečby je pacientka pravidelne kardiologicky sledovaná pomocou EKG a echokardiografického vyšetrenia, pričom doposiaľ nebol zistený patologický náález.

V súčasnosti pacientka pokračuje v kombinovanej systémovej liečbe pozostávajúcej z ribociklibu v dávke 400 mg denne, letrozolu a denosumabu. Posledné kontrolné CT vyšetrenie z 11.11.2025 nepreukázalo prítomnosť metastatického ochorenia ani vznik nových ložísk. Metastatické postihnutie pľúc a kostí regredovalo a pacientka je v súčasnosti klinicky stabilizovaná, bez rádiologických známk aktívneho metastatického ochorenia a v dobrom funkčnom stave.

## DISKUSIA

Inhibitory cyklín-dependentných kináz CDK4/6 dnes predstavujú štandardnú súčasť liečby pacientok s hormonálne receptor-pozitívnym a HER2-negatívnym lokálne pokročilým alebo metastatickým karcinómom prsníka. Ich prínos bol potvrdený viacerými randomizovanými klinickými štúdiami, ktoré preukázali významné predĺženie prežívania bez progresie ochorenia pri kombinácii s endokrinnou terapiou (Liu

a kol., 2025). V klinickej praxi je však výber konkrétneho inhibítora CDK4/6 a jeho dávkovanie často individualizované podľa celkového zdravotného stavu pacientky, komorbidít a tolerancie liečby (Glaviano a kol., 2024). Analýza prezentovaných kazuistík poukazuje na význam takéhoto individualizovaného prístupu, ktorý sa môže v niektorých aspektoch líšiť od podmienok klinických štúdií.

Všetky analyzované kazuistiky zahŕňali pacientky s hormonálne receptor-pozitívnym a HER2-negatívnym karcinómom prsníka, čo je najčastejší biologický podtyp ochorenia. V klinickej praxi sú inhibítory CDK4/6 indikované predovšetkým pri lokálne pokročilom ochorení s postihnutím regionálnych lymfatických uzlín alebo pri metastatickom karcinóme prsníka. Podmienkou je dostatočná expresia hormonálnych receptorov, spravidla nad 10 %. V prípade nižšej expresie hormonálnych receptorov sa nádor biologicky správa skôr ako trojnásobne negatívny karcinóm prsníka, a preto sa liečebná stratégia mení (Yang a kol., 2023). V praxi sa zároveň kladie dôraz na správne patologické hodnotenie receptorového statusu, keďže kombinácia ER negatívny a PR pozitívny nález je veľmi zriedkavá a často vyžaduje prehodnotenie patologického vyšetrenia.

Významnú úlohu pri výbere liečby zohráva aj predchádzajúca hormonálna terapia. Ak pacientka v minulosti užívala inhibítor aromatázy, napríklad letrozol, a po určitom období dôjde k metastatickej progresii ochorenia, v ďalšej línii liečby sa často preferuje kombinácia fulvestrantu s inhibítorom CDK4/6 (Zhang a kol., 2016). Fulvestrant sa používa najmä u pacientok, ktoré už absolvovali predchádzajúcu endokrinnú terapiu, keďže pôsobí ako selektívny degradátor estrogénového receptora a môže prekonať niektoré mechanizmy hormonálnej rezistencie (Suleja a kol., 2019).

Dôležitým rozdielom medzi klinickými štúdiami a reálnou klinickou praxou je aj dávkovanie jednotlivých liekov. V klinických štúdiách MONALEESA bol ribociklib štandardne podávaný v dávke 600 mg denne počas 21 dní s následnou 7-dňovou prestávkou (Hortobagyi a kol., 2022). V analyzovaných ka-

zuistikách sa však ukázalo, že takáto dávka je často spojená s výraznou hematologickou toxicitou, najmä neutropéniou, a pacientky ju často netolerujú. Z tohto dôvodu sa v klinickej praxi pomerne často používa redukovaná dávka 400 mg denne, pričom u niektorých pacientok bola dávka znížená až na 200 mg denne. Napriek redukcii dávky bol terapeutický efekt hodnotený ako dostatočný a ochorenie bolo stabilizované. Tento nález poukazuje na to, že nižšie dávky ribociklibu môžu byť v reálnej klinickej praxi stále účinné a zároveň lepšie tolerované.

Podobný trend bol pozorovaný aj pri abemaciclibe. Hoci odporúčaná dávka v klinických štúdiách MONARCH je 150 mg dvakrát denne, v klinickej praxi dochádza pomerne často k redukcii dávky (Dickler a kol., 2017). V analyzovaných kazuistikách bola najčastejšie používaná dávka 100 mg, pričom dávka 150 mg sa používala menej často z dôvodu nežiaducich účinkov. Najnižšia dávka 50 mg bola indikovaná iba u jednej pacientky, ktorá bola dialyzovaná, mala telesnú hmotnosť približne 47 kg a bola polymorbidná. Aj v tomto prípade bol zvolený štandardný režim podávania tri týždne liečby a jeden týždeň prestávky.

Pri výbere konkrétneho inhibítora CDK4/6 zohráva významnú úlohu aj komorbidita pacientky a potenciálny profil nežiaducich účinkov (Goel a kol., 2018). V kazuistike č. 2 nebol ribociklib zvolený z dôvodu kardiologickej anamnézy pacientky. Ribociklib je totiž spojený s rizikom predĺženia QT intervalu a vyžaduje pravidelné monitorovanie EKG (Gao a kol., 2025). Pacientka mala zníženú ejekčnú frakciu a kardiologické zaťaženie, preto by pravidelné sledovanie QT intervalu predstavovalo zvýšené riziko. Z tohto dôvodu nebol ribociklib indikovaný. Abemaciclib tiež nebol preferovaný v úvode liečby, keďže je spojený s vyššou incidenciou gastrointestinálnych nežiaducich účinkov, najmä hnačiek, ktoré by mohli zhoršiť komfort pacientky vzhľadom na jej vek a obezitu.

Naopak, v kazuistike č. 3 bol zvolený ribociklib, keďže pacientka nemala kardiologické ochorenie ani iné významné komorbidity. EKG aj echokardiografické vyšetrenie boli fyziologické, pacientka netrpela arteriálnou hypertenziou a neužívala chronickú kar-

diologickú liečbu. Abemaciclib v tomto prípade nebol preferovaný najmä pre riziko hnačiek (Gao a kol., 2025). Pacientka bola po operácii chrbtice a v počiatočnom období mala výrazne obmedzenú mobilitu a pomalú chôdzu, pričom bola odkázaná na pomoc inej osoby. Vznik výraznejších gastrointestinálnych ťažkostí by mohol viesť k ďalšiemu zhoršeniu jej celkového stavu a kvality života.

Gastrointestinálne nežiaduce účinky, najmä hnačky, patria medzi najčastejšie komplikácie liečby abemaciclibom. V klinickej praxi sa však vo väčšine prípadov dajú dobre zvládnuť symptomatickou liečbou, najmä podávaním loperamidu a úpravou dávkovania lieku.

Liečba inhibítormi CDK4/6 sa v klinickej praxi podáva dlhodobo až do progresie nádorového ochorenia alebo do výskytu nezvládnuteľných nežiaducich účinkov. Ukončenie liečby je indikované najmä pri závažnej toxicite alebo pri preukázanej progresii ochorenia napriek liečbe (Trapani a kol., 2025).

Výsledky prezentovaných kazuistík sú v súlade s výsledkami veľkých klinických štúdií, ktoré potvrdili význam inhibítorov CDK4/6 v liečbe HR+/HER2– metastatického karcinómu prsníka. Zároveň však poukazujú na to, že v reálnej klinickej praxi je liečba často prispôbená individuálnym charakteristikám pacientok, pričom redukcia dávky alebo výber konkrétnej molekuly môže významne zlepšiť toleranciu liečby bez zásadného zníženia terapeutickú účinnosti.

## ZÁVER

Karcinóm prsníka patrí medzi najčastejšie onkologické ochorenia u žien a zároveň predstavuje významnú príčinu morbiditu a mortality. Najčastejším biologickým podtypom je hormonálne receptor-pozitívny a HER2-negatívny karcinóm prsníka, pri ktorom zohráva kľúčovú úlohu endokrinná terapia. Významný pokrok v liečbe tohto ochorenia prinieslo zavedenie inhibítorov CDK4/6, ktoré cielene zasahujú do regulácie bunkového cyklu a inhibujú proliferáciu nádorových buniek.

Cieľom práce bolo zhodnotiť využitie inhibítorov CDK4/6 v liečbe karcinómu prsníka a ich klinický význam na základe analýzy vybraných kazuistík pacientok s hormonálne receptor-pozitívnym, HER2-negatívnym lokálne pokročilým alebo metastatickým karcinómom prsníka.

Analýza klinických kazuistík potvrdila účinnosť inhibítorov CDK4/6 aj v reálnej klinickej praxi. U sledovaných pacientok viedla liečba k stabilizácii ochorenia a umožnila dlhodobú kontrolu nádorovej choroby pri prijateľnom bezpečnostnom profile. Zároveň sa ukázalo, že pri výbere konkrétneho lieku a jeho dávkovania je potrebné zohľadniť individuálne charakteristiky pacientky, najmä jej celkový zdravotný stav, prítomnosť komorbidít a toleranciu liečby.

Na základe získaných poznatkov možno konštatovať, že inhibítory CDK4/6 predstavujú významný terapeutický prínos v liečbe hormonálne receptor-pozitívneho metastatického karcinómu prsníka. Ich využitie umožňuje efektívnejšiu kontrolu ochorenia, oddialenie potreby chemoterapie a zároveň prispieva k zachovaniu kvality života pacientok.

Zároveň tieto výsledky potvrdzujú, že cielené zasahovanie do regulácie bunkového cyklu prostredníctvom inhibície CDK4/6 predstavuje významný terapeutický koncept v modernej onkológii.

Ďalší výskum a klinické skúsenosti môžu v budúcnosti prispieť k ešte presnejšej individualizácii liečby a k optimalizácii terapeutických stratégií pre pacientky s pokročilým karcinómom prsníka.

## Konflikt záujmov

Autori neuvádzajú konflikt záujmov pre danú štúdiu.

## Použitie nástrojov umelej inteligencie

Pri tejto štúdii autori nepoužili žiadne nástroje generatívnej umelej inteligencie.

## Etické aspekty

Štúdia bola vykonaná v súlade s etickými princípmi.

## Financovanie

Práca vznikla s podporou grantu KEGA č. 010UVLF-4/2025.

## Príspevky autorov

Konceptualizácia: ZF, SB, DF, metodika: ZF, SB, zber údajov: SB, spracovanie údajov: SB, ZF, DF, písanie – prvotná príprava návrhu: SB, ZF, písanie-recenzia a úprava článku: ZF, DF, RSZ.

## ZOZNAM LITERATÚRY

§ 60 Zákona č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

Bradley, R., Braybrooke, J., Gray, R., Hills, R. K., Liu, Z., Pan, H., Peto, R., Dodwell, D., McGale, P., Taylor, C., Francis, P. A., Gnant, M., Perone, F., Regan, M. M., Berry, R., Boddington, C., Clarke, M., Davies, Ch., Davies, L., Duane, F., Evans, V., Gay, J., Gettins, L., Godwin, J., James, S., Liu, H., MacKinnon, E., Mannu, G., McHugh, T., Morris, P., Read, S., Straiton, E., Jakesz, R., Fesl, Ch., Pagani, O., Gelber, R., De Laurentiis, M., De Placido, S., Gallo, C., Albain, K., Anderson, S., Arriagada, R., Bartlett, J., Bergsten-Nordström, E., Bliss, B. E., Carey, L., Coleman, R., Cuzick, J., Davidson, N., Del Mastro, L. J., Di Leo, A., Dignam, J., Dowsett, M., Ejlersen, B., Goetz, M., Goodwin, P., Halpin-Murphy, P., Hayes, D., Hill, C., Jagsi, R., Janni, W., Loibl, S., Mamounas, E. P., Martín, M., Mukai, H., Nekljudova, V., Norton, L., Ohashi, Y., Pierce, L., Poortmans, P., Pritchard, K. I., Raina, V., Rea, D., Robertson, J., Rutgers, E., Spanic, T., Sparano, J., Steger, G., Tang, G., Toi, M., Tutt, A., Viale, G., Wang, X., Whelan, T., Wilcken, N., Wolmark, N., Cameron, D., Bergh, J., Swain, S.M.: Aromatase inhibitors versus tamoxifen in premenopausal women with oestrogen receptor-positive early-stage breast cancer treated with ovarian suppression: a patient-level meta-analysis of 7030 women from four randomised trials. *Lancet Oncology*, 2022, 23 (3), 382 – 392. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00758-0. Erratum in:

*Lancet Oncology*, 2022, 23, (4), e161. DOI: 10.1016/S1470-2045(22)00132-2.

Courlet, P., Cardoso, E., Bandiera, C., Stravodimou, A., Zurcher, J. P., Chtioui, H., Locatelli, I., Decosterd, L. A., Darnaud, L., Blanchet, B., Alexandre, J., Wagner, A. D., Zaman, K., Schneider, M. P., Guidi, M., Csajka, C.: Population Pharmacokinetics of Palbociclib and Its Correlation with Clinical Efficacy and Safety in Patients with Advanced Breast Cancer. *Pharmaceutics*, 2022, 14 (7), 1317. DOI: 10.3390/pharmaceutics14071317.

Dickler, M. N., Tolaney, S. M., Rugo, H. S., Cortés, J., Diéras, V., Patt, D., Wildiers, H., Hudis, C. A., O' Shaughnessy, J., Zamora, E., Yardley, D. A., Frenzel, M., Koustenis, A., Baselga, J.: MONARCH 1, A Phase II Study of Abemaciclib, a CDK4 and CDK6 Inhibitor, as a Single Agent, in Patients with Refractory HR+/HER2- Metastatic Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*, 2017, 23 (17), 5218 – 5224. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0754. Erratum in: *Clinical Cancer Research*, 2018, 24, 21, 5485. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3193.

Gao, T., Sun, Y., Leng, P., Liu, D., Guo, Q., Li, J.: CDK4/6 inhibitors in breast cancer therapy: mechanisms of drug resistance and strategies for treatment. *Frontiers in Pharmacology*, 2025, 16, 1549520. DOI: 10.3389/fphar.2025.1549520.

Glaviano, A., Wander, S.A., Baird, R.D., Yap, K.C., Lam, H.Y., Toi, M., Carbone, D., Georger, B., Serra, V., Jones, R.H., Ngeow, J., Toska, E., Stebbing, J., Crasta, K., Finn, R.S., Diana, P., Vuina, K., de Bruin, R.A.M., Surana, U., Bardia, A., Kumar, A.P.: Mechanisms of sensitivity and resistance to CDK4/CDK6 inhibitors in hormone receptor-positive breast cancer treatment. *Drug Resistance Updates*, 2024, 76, 101103. DOI: 10.1016/j.drug.2024.101103.

Goel, S., DeCristo, M. J., McAllister, S. S., Zhao, J. J.: CDK4/6 Inhibition in Cancer: Beyond Cell Cycle Arrest. *Trends in Cell Biology*, 2018, 28 (11), 911 – 925. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.07.002.

Hortobagyi, G. N., Stemmer, S. M., Burris, H. A., Yap, Y. S., Sonke, G. S., Hart, L., Campone, M., Petrakova, K., Winer, E. P., Janni, W., Conte, P.,

Cameron, D. A., André, F., Arteaga, C. L., Zarate, J. P., Chakravartty, A., Taran, T., Le Gac, F., Serra, P., O'Shaughnessy, J.: Overall Survival with Ribociclib plus Letrozole in Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 2022, 386 (10), 942 – 950. DOI: 10.1056/NEJMoa2114663.

Liu, Y., Park, S., Li, Y.: Breaking Cancer's Momentum: CDK4/6 Inhibitors and the Promise of Combination Therapy. *Cancers*, 2025, 17, 1941. DOI:10.3390/cancers17121941. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/679 z 27. apríla 2016 o ochrane fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov a o voľnom pohybe takýchto údajov. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/679/oj?locale=sk>

Nascimento, R. G. do, Otoni, K. M.: Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? *Mastology*, 2020, 30, 1 – 8. DOI: 10.29289/25945394202020200024.

Neupane, N., Bawek, S., Gurusinghe, S., Ghaffary, E. M., Mirmosayyeb, O., Thapa, S., Falkson, C., O'Regan, R., Dhakal, A.: Oral SERD, a Novel Endocrine Therapy for Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *Cancers (Basel)*, 2024, 16 (3), 619. DOI: 10.3390/cancers16030619.

Soleja, M., Raj, G. V., Unni, N.: An evaluation of fulvestrant for the treatment of metastatic breast cancer. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2019, 20 (15), 1819 – 1829. DOI: 10.1080/14656566.2019.1651293.

Trapani, D., Martins-Branco, D., Curigliano, G., Gennari, A., Pentheroudakis, G., Harbeck, N.: ESMO Guidelines Committee. *Annals of Oncology*, 2025, 36 (11), 1414 – 1418. DOI: 10.1016/jannonc.2025.07.017.

Yang, F., Xiao, Y., Ding, J. H., Jin, X., Ma, D., Li, D. Q., Shi, J. X., Huang, W., Wang, Y. P., Jiang, Y. Z., Shao, Z. M.: Ferroptosis heterogeneity in triple-negative breast cancer reveals an innovative immunotherapy combination strategy. *Cell Metabolism*, 2023, 35 (1), 84 – 100.e8. DOI: 10.1016/j.cmet.2022.09.021.

Zhang, Q., Shao, Z., Shen, K., Li, L., Feng, J., Tong, Z., Gu, K., Wang, X., Xu, B., Sun, G., Chen, H., Rukazenzov, Y., Jiang, Z.: Fulvestrant 500 mg vs 250 mg in postmenopausal women with estrogen receptor-positive advanced breast cancer: a randomized, double-blind registrational trial in China. *Oncotarget*, 2016, 7 (35), 57301 – 57309. DOI: 10.18632/oncotarget.10254.

## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

## PREVENCIA, SKRÍNING A LIEČBA MELANÓMU

## PREVENTION, SCREENING AND TREATMENT OF MELANOMA

Vantová, Jana<sup>1</sup>; Laca Megyesi, Štefánia<sup>1\*</sup>; Takáč, Peter<sup>2</sup>; Takáčová, Gabriela<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; <sup>2</sup>Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; <sup>3</sup>Klinika dermatovenerológie UPJŠ LF a UNLP, Košice, Slovenská republika

 OPEN ACCESS
\*Korešpondenčný autor: [stefania.lacamegyesi@uvlf.sk](mailto:stefania.lacamegyesi@uvlf.sk)

**Citovanie:** Vantová, J., Laca Megyesi, Š., Takáč, P., Takáčová, G.: Prevencia, skrining a liečba melanómu. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 47 – 54.

**Prijaté:** 07.07.2026**Akceptované:** 24.07.2026**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Vantová, J., Laca Megyesi, Š., Takáč, P., Takáčová, G. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**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.

## ABSTRAKT

Rakovina kože predstavuje v súčasnosti významný zdravotný problém s narastajúcim výskytom na celosvetovej úrovni, preto je nevyhnutné venovať tejto oblasti zvýšenú pozornosť. Melanóm kože vzniká v dôsledku nádorovej transformácie melanocytov, pričom na jeho rozvoji sa podieľajú genetické predispozície a tiež aj vplyvy vonkajšieho prostredia. Toto ochorenie má vysokú schopnosť metastázovať, čo ho radí medzi najagresívnejšie formy kožných nádorov. V posledných rokoch dochádza k výraznému nárastu jeho výskytu. Predpokladá sa, že jeho incidencia bude

naďalej stúpať a v budúcnosti sa môže zaradiť medzi najčastejšie sa vyskytujúce zhubné nádory. Stanovenie diagnózy melanómu vychádza z klinického hodnotenia pigmentových lézií, pričom sa sledujú najmä znaky ako asymetria, nepravidelné ohraničenie, variabilita farby, progresia rastu a zvýšená bunková aktivita. Na základe vykonanej analýzy sme potvrdili prítomnosť štatisticky významného vzťahu medzi pohlavím respondentov, vekom a frekvenciou používania ochranných opaľovacích prípravkov. V rámci analýzy boli sledované údaje o incidencii, úmrtnosti, klinických štádiách ochorenia a regionálnom rozložení výskytu. Súčasťou štúdie bol aj prieskum zameraný na rizikové faktory, ako je fototyp kože, počet expozícií slnečnému žiareniu, používanie ochranných prostriedkov, návšteva solárií a absolvovanie preventívnych dermatologických vyšetrení. Výsledky ukázali rastúci trend incidence malígneho melanómu, zatiaľ čo úmrtnosť zostáva relatívne stabilná. Väčšina prípadov bola diagnostikovaná v skorých štádiách ochorenia.

**Kľúčové slová:** incidencia; melanóm; rizikové faktory

## ABSTRACT

Skin cancer is currently a significant health problem with an increasing incidence worldwide, therefore it is necessary to pay increased attention to this area. Melanoma of the skin arises as a result of tumor transformation of melanocytes, while genetic predispositions and also environmental influences contribute to its development. This disease has a high ability to metastasize, which ranks it among the most aggressive forms of skin tumors. In recent years, its incidence has increased significantly. It is assumed that its incidence will continue to increase and in the future it may be ranked among the most common malignant tumors. The diagnosis of melanoma is based on the clinical assessment of pigmented lesions, while signs such as asymmetry, irregular borders, color variability, growth progression and increased cell activity are monitored in particular. Based on the analysis performed, we confirmed the presence of a statistically significant relationship between the gender of the respondents, age, and frequency of use of sunscreens. The analysis included data on incidence, mortality, clinical stages of the disease and regional distribution of incidence. The work also included a survey focused on risk factors such as skin phototype, exposure to sunlight, use of protective equipment, visits to tanning salons and completion of preventive dermatological examinations. The results showed an increasing trend in the incidence of malignant melanoma, while mortality remains relatively stable. Most cases were diagnosed in the early stages of the disease.

**Key words:** incidence; melanoma; risk factors

## ÚVOD

Melanóm kože sa začal intenzívnejšie skúmať až v druhej polovici 20. storočia. Pojem „čierna rakovina“ bol známy už v staroveku, pričom termín melanóm bol zavedený v 19. storočí (Minariková,

2009). Ide o vysoko agresívny nádor vychádzajúci z melanocytov, ktoré sa nachádzajú v bazálnej vrstve epidermy a produkujú pigment melanín. Tento typ nádoru patrí medzi najzávažnejšie kožné ochorenia a je významnou príčinou úmrtí na kožné nádory. Melanocyty majú pôvod v neuroektoderme a počas embryonálneho vývoja migrujú do kože, ale aj do iných častí tela, čo vysvetľuje možný výskyt melanómu aj mimo kože, napríklad v oku alebo na slizniciach (Pizinger, 2008).

Nádory kože patria medzi časté onkologické ochorenia postihujúce obe pohlavia. Podľa údajov Svetovej zdravotníckej organizácie sa každoročne diagnostikuje vysoký počet prípadov rakoviny kože, pričom významnú časť tvoria melanómové aj nemelanómové formy. Na koži sa môžu objavovať rôzne zmeny, ktoré sú označované ako prekancerózne lézie a za určitých okolností môžu prejsť do malígneho ochorenia. Výskyt rakoviny kože vykazuje geografické rozdiely. Vyššia incidencia sa zaznamenáva najmä v oblastiach s intenzívnym slnečným žiarením, zatiaľ čo v severnejších krajinách je výskyt nižší. Dôležitú úlohu zohráva aj množstvo melanínu v koži – osoby so svetlejšim fototypom sú náchylnejšie na vznik ochorenia v porovnaní s jedincami s tmavšou pokožkou (Drotárová, 2008).

Z epidemiologického hľadiska ide o ochorenie, ktorého výskyt sa v posledných desaťročiach výrazne zvýšil a stále stúpa. Z hľadiska lokalizácie sa melanóm najčastejšie vyskytuje na rôznych častiach tela v závislosti od pohlavia. U mužov sa častejšie objavuje na trupe, zatiaľ čo u žien je typická lokalizácia na dolných končatinách. Menej často sa môže vyskytnúť aj na hlave, krku či iných oblastiach tela. Celosvetovo má incidencia melanómu stúpajúcu tendenciu, pričom najvyššie hodnoty sa zaznamenávajú v krajinách s vysokou intenzitou UV žiarenia. Naopak, nižší výskyt je typický pre regióny s menšou slnečnou expozíciou. Okrem geografických faktorov zohrávajú významnú úlohu aj genetické predispozície a životný štýl. Melanóm je častejší u jedincov so svetlou pokožkou, svetlými vlasmi a očami, pričom riziko jeho vzniku súvisí aj s množstvom pigmentu

nachádzajúceho sa v koži. Významným faktorom je rovnako aj vek, pričom ochorenie sa častejšie diagnostikuje v dospelosti, avšak v posledných rokoch sa zaznamenáva aj nárast výskytu u mladších vekových skupín (Heistein, Acharya a Mukkamalla, 2024).

Cieľom prieskumu bol prieskum zameraný na rizikové faktory ako fototyp kože, expozícia slnečnému žiareniu, používanie ochranných prostriedkov, návšteva solárií a absolvovanie preventívnych dermatologických vyšetrení.

## METODIKA PRÁCE

Výskum bol uskutočnený prostredníctvom kvantitatívneho prístupu, pričom na zber údajov bol použitý anonymný dotazník. Ten bol orientovaný na posúdenie úrovne vedomostí respondentov a ich preventívneho správania v oblasti ochrany pred vznikom melanómu. Zber dát prebiehal prostredníctvom anonymného dotazníka. Dotazník pozostával z 13 položiek zameraných na: základné demografické charakteristiky (vek, pohlavie, dosiahnuté vzdelanie), skúsenosti so sledovaním kožných znamienok, vystavenie rizikovým faktorom (najmä slnečnému žiareniu a spáleniu kože), preventívne návyky respondentov (používanie opaľovacích prípravkov, návštevy solárií). Dotazník bol distribuovaný online aj papierovou formou v časovom období od 01.10.2025 do 01.04.2026. V papierovej forme bol distribuovaný v Prešovskom a Košickom samosprávnom kraji. Miesto distribúcie boli verejné lekárne. Do výskumu boli zaradené osoby ženského aj mužského pohlavia

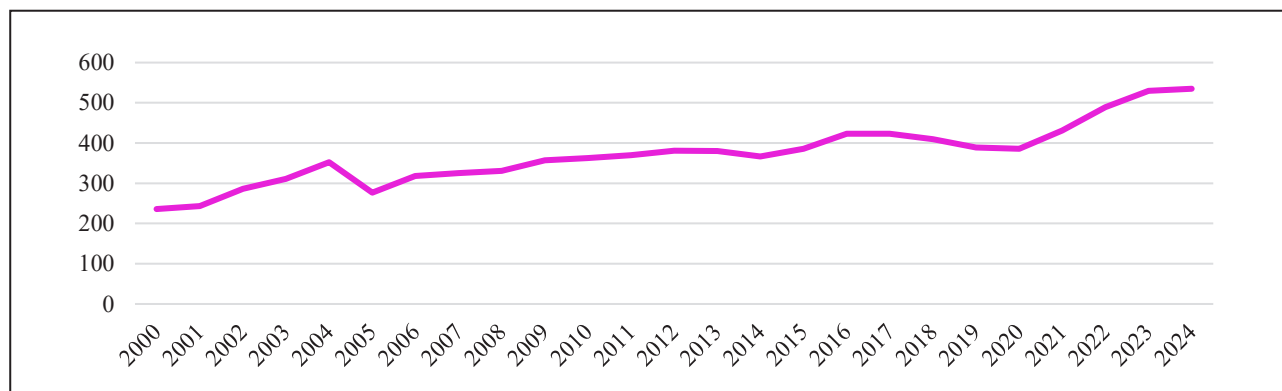
vo veku nad 18 rokov. Celkový počet účastníkov výskumu predstavoval 150 respondentov.

Na spracovanie a prvotnú analýzu získaných údajov z dotazníkového prieskumu bol použitý program Microsoft Excel, ktorý slúžil najmä na triedenie dát, ich kontrolu, kódovanie odpovedí a prípravu podkladov pre ďalšie štatistické spracovanie.

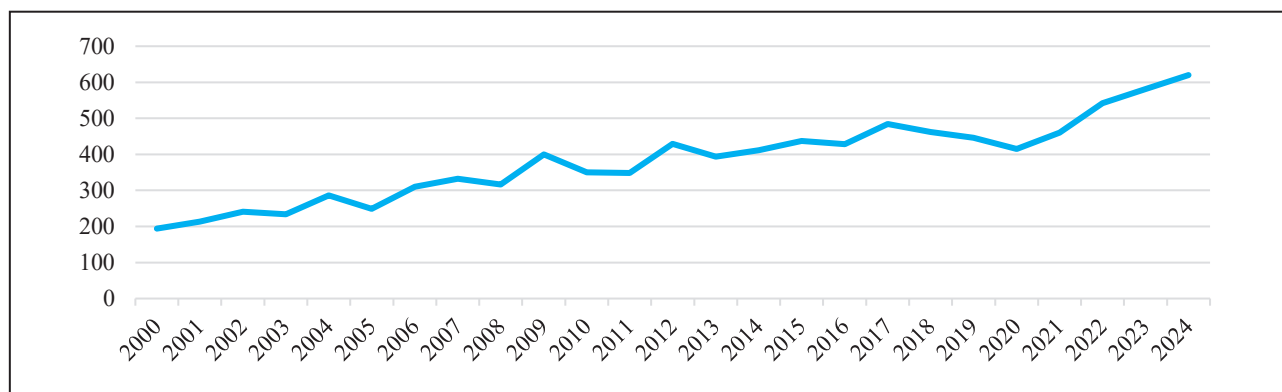
## VÝSLEDKY

V prvej časti prieskumu sme analyzovali výskyt malígneho melanómu kože, úmrtnosť, percentuálne zastúpenie jednotlivých štádií a výskyt ochorenia v jednotlivých krajoch u žien a u mužov na Slovensku. Vychádzali sme z údajov NCZI. Graf 1 a graf 2 znázorňujú vývoj incidencie malígneho melanómu kože u žien a u mužov na Slovensku v období rokov 2000 až 2024. Na začiatku sledovaného obdobia sa počet prípadov pohybuje na nižšej úrovni (okolo 230 až 250 u žien a okolo 200 u mužov). V nasledujúcich rokoch dochádza k postupnému nárastu, hoci vývoj nie je úplne plynulý. Sú viditeľné mierne výkyvy, napríklad pokles okolo roku 2005 a menšie kolísanie v ďalších rokoch. Od roku 2010 je možné pozorovať stabilnejšiu rast incidencie, ktorý pokračuje aj napriek krátkodobým poklesom v niektorých obdobiach (napr. okolo rokov 2018 až 2020 u žien a 2010, 2013 a 2020 u mužov). V posledných rokoch je nárast výraznejší a hodnoty dosahujú najvyššie úrovne v celom sledovanom období, presahujúce približne 500 prípadov u žien a 600 u mužov.

**Graf 1: Incidencia malígneho melanómu kože na Slovensku u žien**



**Graf 2: Incidencia malígneho melanómu kože na Slovensku u mužov**



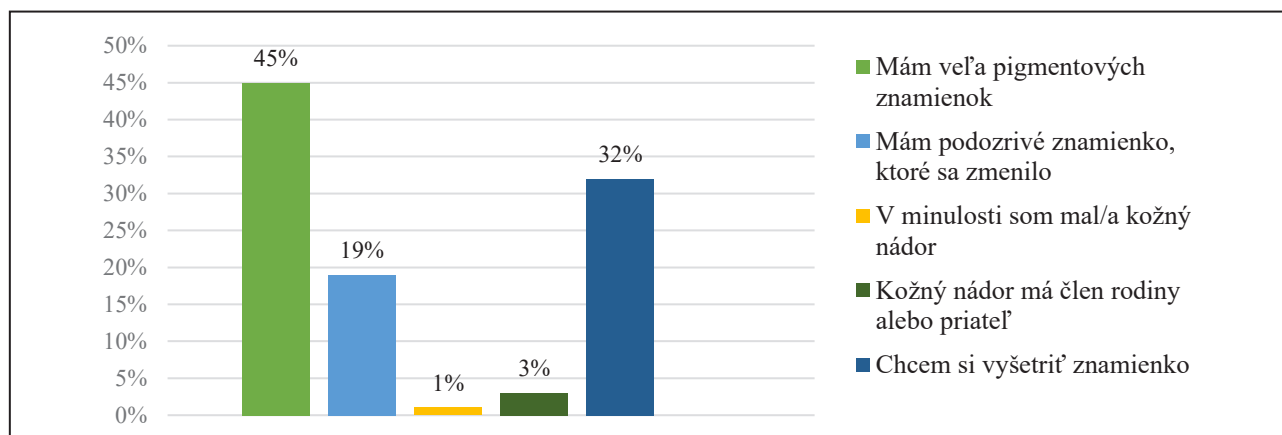
Z analýzy vývoja úmrtnosti na malígny melanóm u žien a u mužov na Slovensku v období rokov 2000 až 2024 vyplýva, že úmrtnosť sa pohybovala v relatívne stabilnom rozmedzí a to približne medzi 60 až 110 prípadmi ročne u žien a medzi 80 až 140 u mužov. V prvej polovici sledovaného obdobia sa hodnoty pohybovali prevažne v nižších až stredných úrovniach. Následne sa v niektorých rokoch objavovali vyššie hodnoty, najmä okolo rokov 2013 – 2014 u žien a okolo roku 2017 u mužov, kedy sme zaznamenali mierny vrchol. V ďalších rokoch úmrtnosť opäť kolísala.

Druhá časť štúdie pozostávala z prieskumu, ktorého sa zúčastnilo 61 mužov (41 %) a 89 žien (59 %). Najviac respondentov bolo vo veku od 25 do 35 rokov (40 %). Nasledovali respondenti vo veku od 35 do 45 rokov (30 %) a najmenej respondentov malo vek nad 60 rokov (6 %). Najviac respondentov malo stredoškolské vzdelanie 75 (55 %) a naopak najmenej malo iba základné vzdelanie 9 (6 %).

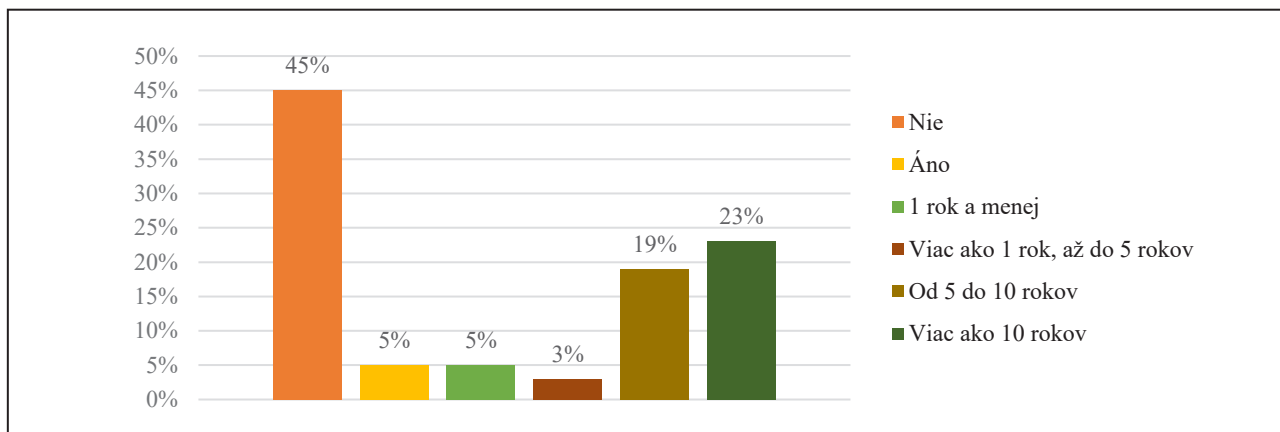
Pri hodnotení dôvodov, pre ktoré respondenti vyhľadali dermatologické vyšetrenie znamienok, sa ukázalo, že najčastejším podnetom bol vyšší počet pigmentových névov, čo uviedlo 68 respondentov (45 %). Tento výsledok poukazuje na vnímanie zvýšeného počtu znamienok ako potenciálneho rizikového faktora. Až 48 (32 %) respondentov absolvovali vyšetrenie z preventívnych dôvodov, teda s cieľom skontrolovať stav znamienok bez prítomnosti konkrétnych ťažkostí. Ďalších 28 respondentov (19 %) vyhľadalo odborníka na základe pozorovanej zmeny na znamienku, čo môže naznačovať určitú mieru informovanosti o varovných príznakoch. Menej častými dôvodmi bola osobná skúsenosť s kožným nádorom a to 1 respondent (1 %) alebo výskyt ochorenia v blízkom okolí u 5 respondentov (3 %), viď graf 3.

V ďalšej časti prieskumu sme zisťovali koľko respondentov pracuje v interiéri a koľko vykonáva

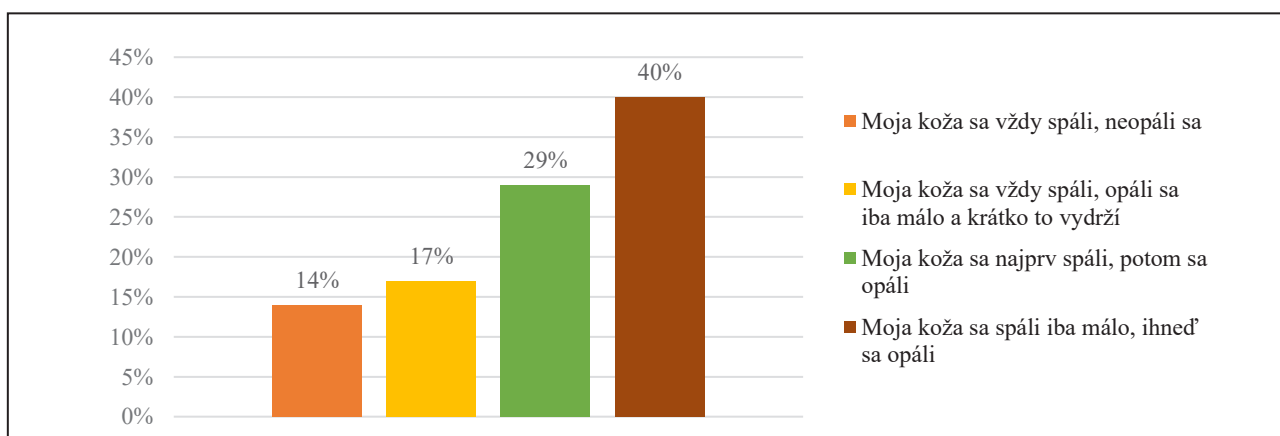
**Graf 3: Dôvod vyšetrenia znamienok (n = 150)**



**Graf 4: Vystavenie slnku (n = 150)**



**Graf 5: Typ pokožky (n = 150)**



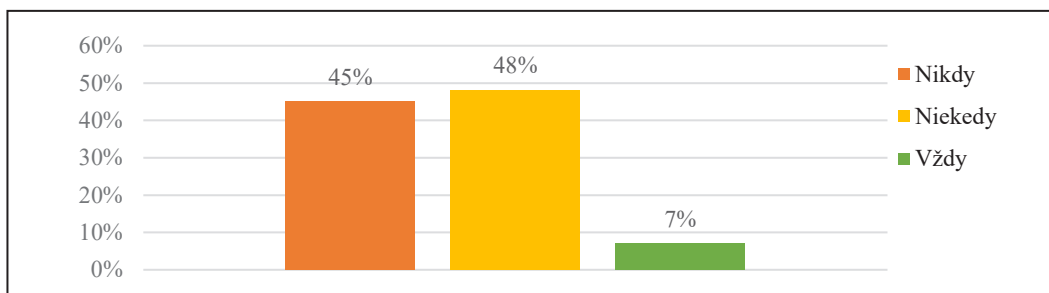
prácu v exteriéry. Najviac respondentov pracovalo v interiéri 68 (45 %). Najmenej z opýtaných 5 (3 %) pracovalo v exteriéri od 1 do 5 rokov.

Výsledky týkajúce sa reakcie kože na slnečné žiarenie poukazujú na rozdiely vo fototype respondentov. Najväčšia časť opýtaných 63 respondentov (40 %) uviedla, že ich koža sa spáli iba minimálne a následne sa rýchlo opáli, čo zodpovedá odolnejšiemu typu kože voči UV žiareniu. Ďalšiu početnú skupinu 40 respondentov (29 %) tvorili osoby, ktorých koža sa najprv spáli a následne opáli, čo naznačuje strednú citlivosť na slnečné žiarenie. Menšie skupiny predstavovali respondenti, ktorých koža sa vždy spáli a opálenie je minimálne alebo krátkodobé 26 respondentov (17 %), ako aj tí, u ktorých dochádza výlučne k spáleniu bez následného opálenia 21 respondentov (14 %).

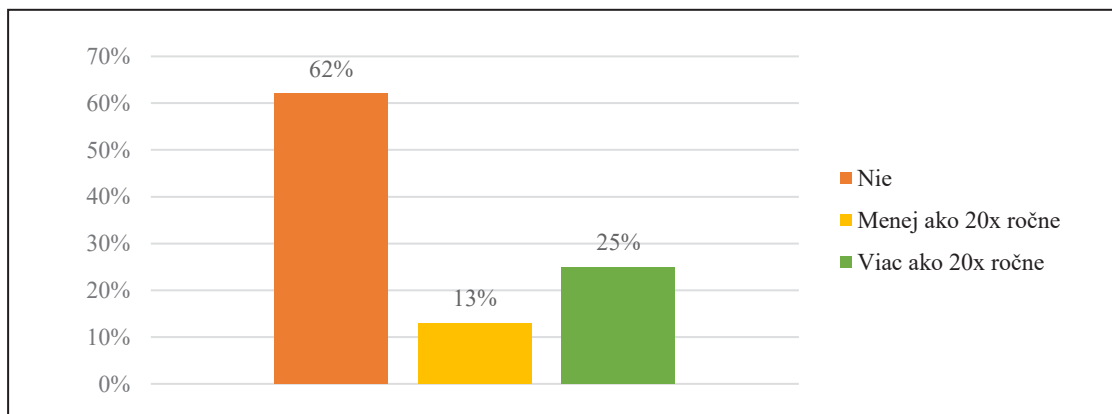
Pri otázke zameranej na používanie ochranných opaľovacích prostriedkov uviedlo 67 respondentov (45%), že ich nepoužívajú nikdy. Len 11 respondentov (7 %) uviedlo ich pravidelné používanie vždy, keď sú vystavení slnečnému žiareniu dlhšie ako 1 hodinu. Z uvedených výsledkov vyplýva, že pravidelná ochrana kože pred UV žiarením nie je v sledovanom súbore dostatočne rozšírená. Prevažná väčšina respondentov používa opaľovacie prostriedky len sporadicky alebo vôbec, čo možno z hľadiska prevencie hodnotiť ako nepriaznivý jav. Nedostatočné používanie ochranných prípravkov totiž zvyšuje riziko poškodenia kože, vrátane spálenia, predčasného starnutia a vzniku kožných nádorov.

V rámci návštev solárií uviedlo 93 respondentov (62 %), že soláriá vôbec nevyužívajú. Pravidelnejšiu návštevnosť, presahujúcu 20 návštev ročne, označilo

**Graf 6: Používanie ochranných opaľovacích prostriedkov (n = 150)**



**Graf 7: Návšteva solária (n = 150)**



38 respondentov (25 %) uviedlo. Z výsledkov vyplýva, že väčšina respondentov sa umelému UV žiareniu zo solárií vyhýba. Napriek tomu však existuje nezanedbateľná skupina osôb, ktorá soláriá využíva, pričom u časti z nich ide o pomerne častú expozíciu.

## DISKUSIA

Na základe analýzy možno konštatovať, že výskyt malígneho melanómu kože u žien aj u mužov na Slovensku má v sledovanom období dlhodobu stúpajúcu tendenciu. Kým na začiatku obdobia sa hodnoty pohybovali na nižšej úrovni, v posledných rokoch je badateľný výraznejší nárast. Na druhej strane úmrtnosť na malígne melanóm zostáva relatívne stabilná bez výrazného dlhodobého rastu či poklesu. Tento rozdiel medzi rastúcou incidenciou a stabilnou úmrtnosťou môže poukazovať na zlepšenie a včasnú diagnostiku a efektívnejšie liečebné postupy, ktoré prispievajú k lepšiemu prežívaniu pacientov. Z hľadiska regionálneho rozdelenia boli najvyššie

hodnoty zaznamenané v Bratislavskom a Žilinskom kraji, zatiaľ čo najnižší výskyt bol pozorovaný v Banskobystrickom kraji u mužov a v Trenčianskom kraji u žien. Tieto rozdiely môžu byť spôsobené viacerými faktormi, ako je odlišná hustota obyvateľstva, stupeň urbanizácie, životný štýl, ale aj dostupnosť dermatologickej starostlivosti a diagnostických služieb. Vyššie hodnoty v niektorých regiónoch môžu zároveň odrážať aj lepšiu diagnostiku a presnejšiu evidenciu prípadov. Zhrnuté, výsledky poukazujú na to, že malígne melanóm predstavuje na Slovensku narastajúci epidemiologický problém z hľadiska incidence, pričom úmrtnosť ostáva relatívne nemenná. Zistenia zároveň zdôrazňujú význam včasnej diagnostiky ochorenia, keďže väčšina prípadov je diagnostikovaná v počiatočných štádiách ochorenia.

Podľa Havránkovej a kol.(2010) k rizikovým faktorom vzniku melanómu patrí hlavne vysoká dávka žiarenia. Zvýšené riziko sa pritom týka najmä osôb, ktoré vykonávajú prácu v exteriéri a sú pravidelne vystavené priamemu slnečnému žiareniu v priebehu

dňa. Až 55 % opýtaných potvrdilo prácu na priamom slnku. Len 23 % vykonáva túto prácu už vyše 10 rokov. Získané údaje poukazujú na významnú skupinu osôb, ktoré sú potenciálne vystavené zvýšenému riziku kožných ochorení v dôsledku dlhodobej slnečnej expozície. Významným rizikovým faktorom je aj vyšší vek, pričom iba 9 z respondentov bolo vo veku nad 60 rokov.

Zvýšené riziko podľa Urbančeka a Dolinského (2010) je spojené najmä s intenzívnym vystavením slnku vedúcim k spáleniu kože, predovšetkým v detstvom veku. V našej vzorke respondentov uviedlo 25 % skúsenosť so spálením kože v detstve, ktoré sa prejavovalo výrazným začervenaním alebo bolesťou prípadne tvorbou pľuzgierov trvajúcich niekoľko dní. Väčšina nemala skúsenosť z mladosti so spálením kože, alebo si na to nepamätali. K rizikovému správaniu patrí podľa Jiráskovej (2010) aj návšteva solárií, ktorá je v súčasnosti pomerne rozšírená. Zo všetkých opýtaných 62 % soláriá vôbec nenavštevuje. viac ako 20krát ročne navštevuje soláriá 25 % opýtaných. Len 13 % opýtaných navštevuje soláriá menej ako 20krát ročne.

Z hľadiska predispozície možno za rizikovú podľa Faita (2010) považovať najmä populáciu so svetlým fototypom kože, konkrétne fototyp I. a II. Tie sa vyznačujú nízkou schopnosťou tvorby melanínu, a tým aj zníženou prirodzenou ochranou pred ultrafialovým žiarením. Jedinci s týmto typom kože sú preto náchylnejší na spálenie a dlhodobé poškodenie kože pri vystavení slnku. V našom prieskume sme zistili, že väčšina respondentov a to 42 % sa na slnku vôbec nespáli a rovno sa opáli. Táto skupina môže naznačovať vyššiu pigmentačnú odolnosť kože. 27 % sa najprv spáli a potom aj opáli, čo poukazuje na citlivejšiu reakciu kože na UV žiarenie a potenciálne vyššie riziko poškodenia kože. Menšia časť respondentov 14 % uviedla, že sa na slnku vôbec neopáli, čo môže súvisieť s veľmi nízkou pigmentačnou schopnosťou alebo špecifickým typom kožnej reakcie na slnečné žiarenie. Zároveň sa ukázalo, že väčšina respondentov používa ochranné prostriedky iba sporadicky alebo vôbec. Takéto správanie

možno považovať za rizikové z hľadiska prevencie. Významným faktorom je aj počet pigmentových névov, pričom vyšší počet predstavuje aj zvýšené riziko vzniku melanómu. V rámci prieskumu uviedlo 45 % respondentov, že má zvýšený počet kožných znamienok, čo môže predstavovať dôležitý rizikový faktor z hľadiska sledovania zmien na koži. Okrem toho sa ukázalo, že 50 % neabsolvuje pravidelné preventívne dermatologické prehliadky, čo môže viesť k oneskorenej diagnostike prípadných zmien. Celkovo možno konštatovať, že komplexný prístup založený na prevencii, edukácii a dostatku informácií predstavuje kľúčový nástroj v boji proti malígnemu melanómu kože. Systematické zvyšovanie povedomia verejnosti tak môže prispieť k zmene správania populácie a k zníženiu výskytu tohto ochorenia v budúcnosti.

## ZÁVER

Cieľom práce bolo poukázať na negatívne účinky ultrafialového žiarenia a jeho podiel na vzniku melanómu kože. Dlhodobé a opakované vystavovanie sa slnečnému žiareniu predstavuje významný rizikový faktor pre rozvoj kožných nádorov. Incidencia melanómu celosvetovo aj na Slovensku vykazuje rastúci trend, čo naznačuje nedostatočnú úroveň prevencie a informovanosti obyvateľstva o závažnosti tohto ochorenia. Dôležitú úlohu zohráva včasná diagnostika, pričom preventívne prehliadky by mali zahŕňať aj kontrolu kožných znamienok. Rovnako je významná aj samokontrola zo strany pacienta, ktorý by mal sledovať stav svojej kože a pri objavení sa neobvyklých zmien bezodkladne vyhľadať odbornú pomoc.

## Konflikt záujmov

Autori tejto práce čestne vyhlasujú a deklarujú, že nie sú v konflikte záujmov v súvislosti s touto prácou. Použitie nástrojov umelej inteligencie

Autori prehlasujú, že pri práci na tejto štúdii neboli použité nástroje generatívnej umelej inteligencie.

## Etické aspekty

Práca bola vykonaná v súlade so všetkými etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie.

## Financovanie

Na uskutočnenie danej štúdie nebolo potrebné financovanie.

## Príspevky autorov

Š.L.M. a J.V. navrhli koncepciu štúdie, zozbierali a analyzovali údaje. Zároveň sa Š.L.M., J.V., P.T. a G.T. podieľali na príprave ako aj tvorbe textu a formálnej ako aj rozsahovej úprave práce. Zároveň sa celý autorský kolektív podieľal na revízii rukopisu práce.

## ZOZNAM LITERATÚRY

Fait, V.: Maligní melanom. *Speciální onkologie*. Praha: Galén, 2010, 109 – 116.

Havránková, M.: Karcinómy kože a kožných adnexov. *Klinická radiačná onkológia*. Osveta, 2010. 1213 – 1233.

Heistein, J. B., Acharya, U., Mukkamalla, S. K. R.: *Malignant Melanoma*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470409/2024>. Updated February 17, 2024. Accessed April 14, 2026.

Jirásková, M., Jirásek, L.: Problematika solárií. *Interní medicína pro praxi*, 2010, 12 (3), 155 – 158.

Drotárová, K.: Opaľujeme sa zdravo. *Lekárnik*, Prievidza, 2008, 4, 55 – 57.

Minariková, E.: Malígný melanóm z pohľadu dermatológa. *Kompendium medicíny*, 2009, 2, 37 – 38.

Pizinger, K.: Metastázy do kůže. *Čes-slov Derm.*, 2008, 84 (1), 5 – 14.

Titko, M., Novák, L., Jánošíková, M.: *Praktická štatistika*, 1. vyd. Žilina: EDIS vydavateľstvo UNIZA, 2021, [online]. [cit. 15.04.2026]. Dostupné na internete: <https://ukzu.uniza.sk/wp-content/uploads/2022/04/Skripta-Titko.pdf>.

Urbanček, S., Dolinský, J.: Malígný melanóm. *Klinická a radiačná onkológia*, Osveta, 2010, s. 1213 – 1233.



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

# EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS IN *IN VITRO* BLOOD-BRAIN BARRIER MODELS: A REVIEW

Kosturíková, Diana<sup>1</sup>; Bhide, Katarína<sup>1</sup>; Bhide, Mangesh<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Biomedical Microbiology and Immunology, The University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice; <sup>2</sup>Institute of neuroimmunology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak republic

### OPEN ACCESS

\*Korešpondenčný autor: [mangesh.bhide@uvlf.sk](mailto:mangesh.bhide@uvlf.sk)

**Citation:** Kosturíková, D., Bhide, K., Bhide, M.: Extracellular matrix proteins in *in vitro* blood-brain barrier models: A review. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 55 – 74.

**Received:** 08.07.2026

**Accepted:** 23.07.2026

**Published:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Kosturíková Diana, Bhide Katarína, Bhide Mangesh. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**Ethical considerations:** When reporting experiments on animals Observation of the ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research, published in July 14, 2020 (<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>), is required. The authors should ensure that all procedures were performed in compliance with the guidelines for animal care of their institutions or with national/international guidelines.

## ABSTRACT

Maintaining homeostasis is critical for the central nervous system's (CNS) function, as it is the control center of physiological functions. Therefore, it is protected with a semipermeable blood-brain barrier (BBB), which prevents the passage of harmful substances from the blood into the CNS. However, some pathogens have evolved mechanisms to overcome this barrier and cause neuroinvasive diseases. Because of the poor permeability of the BBB, delivery of therapeutics to the CNS continues to be problematic. Several *in vitro* BBB models have been developed to study the crossing

of therapeutics and pathogens across the BBB. However, most of the BBB models lack standardization. Most studies to date have focused on the importance of individual cell types of the neurovascular unit (NVU) in maintaining BBB integrity, with less attention being paid to the protein components of the endothelial basement membrane. In this article, we present an overview of existing *in vitro* BBB models, extracellular matrix (ECM) proteins used in their construction, and available information on ECM proteins that are part of the endothelial basement membrane of the BBB.

**Keywords:** blood-brain barrier; endothelial basement membrane; *in vitro* blood-brain barrier model; extracellular matrix proteins

## INTRODUCTION

The BBB is a complex multilayered structure that plays a significant role in maintaining the homeostasis of the CNS. It can be divided into cellular and non-cellular components. The cellular component is composed of brain microvascular endothelial cells (BMECs), pericytes, astrocytes, and neurons (Varatharaj and Galea, 2017). The non-cellular component includes ECM proteins, including type IV collagen, laminins, nidogen, perlecan, agrin, and fibronectin

(ThomsenRouthe et al., 2017; Tilling et al., 2002). The BBB prevents the penetration of most pathogens, molecules, and immune cells from the blood into the brain. However, some pathogens can overcome the BBB and cause serious CNS disorders. The BBB also represents a barrier to drug delivery to the CNS, limiting the treatment of neuroinfections, brain cancer, and neurodegenerative diseases. No large-molecule drugs and more than 98% of small-molecule drugs cross the BBB (Ding et al., 2020).

The development of new therapeutics has been facilitated by *in vitro* BBB models. Currently, there are several models; however, each has its pros and cons, and their standardization remains an ongoing problem. In an effort to increase their physiological relevance, several studies have focused on the possibility of co-culturing multiple NVU cells, and less attention has been paid to the non-cellular component of the BBB.

In this review article, we first describe the basic structure of the BBB, then introduce the *in vitro* BBB models created so far, the protein substrates used in the construction of *in vitro* BBB models, and finally describe the available information on the structure and significance of ECM proteins, which are a natural part of the endothelial basement membrane of the BBB.

### Structure of the blood-brain barrier

In terms of histological structure, the BBB can be divided into several layers. The luminal surface of BMECs is covered by a layer of fine, villous material, called the endothelial glycocalyx. It is composed of proteoglycans, glycoproteins, and glycosaminoglycan chains. It prevents BMECs from contacting platelets and immune cells, regulates BBB permeability, and mediates the response of BMECs to the shear force of blood flow (Jin et al., 2021).

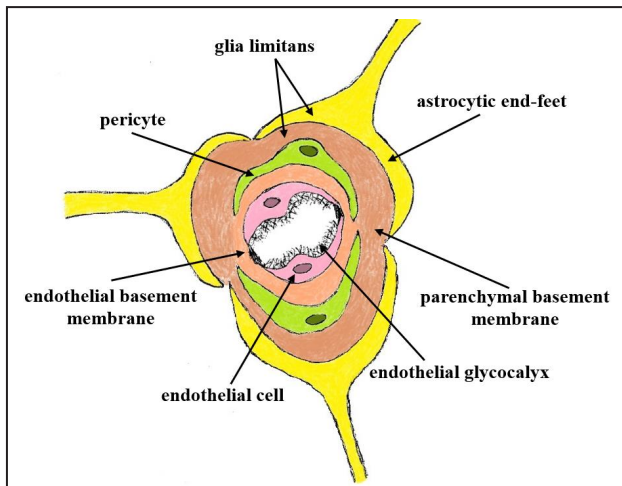
Beneath the endothelial glycocalyx lie the BMECs themselves, which, unlike peripheral endothelial cells, are characterized by high transendothelial electrical resistance (TEER), low vesicular activity, and increased metabolic activity, mainly manifested by

a higher mitochondrial volume (Tajes et al., 2014). The high TEER is due to the presence of adherens and tight junctions. Primary contact between neighbouring BMECs is ensured by adherens junctions, which are formed by VE-cadherin,  $\beta$ -catenin, and  $\alpha$ -catenin (Brown and Davis, 2002). The low paracellular permeability of the BBB is mainly ensured by tight junctions, which consist of various transmembrane proteins such as claudins, occludin, and junctional adhesion molecules (JAMs), together with cytoplasmic proteins including zonula occludens (ZO) proteins, afadin-6 (AF-6), and cingulin (Tajes et al., 2014).

BMECs are anchored in the endothelial basement membrane, which consists mainly of collagen type IV, laminins-411 and -511, nidogen-1, perlecan, agrin and fibronectin. It plays a crucial role in the separation of BMECs from glia and neurons, supports vascular development and contributes to the maintenance of BBB integrity. In addition to BMECs, pericytes located within the basement membrane also contribute to the production of its components (ThomsenRouthe et al., 2017; Tilling et al., 2002; Xu et al., 2019). An *in vivo* study in mice demonstrated that areas lacking pericytes exhibit increased leukocyte infiltration into the CNS during inflammation. These areas are also characterized by a reduced production of endothelial basement membrane components (Wang et al., 2006). Furthermore, pericytes influence BBB permeability by regulating the expression of tight junction and adherens junction proteins in BMECs, although the mechanisms of this interaction are not yet fully understood (Sweeney et al., 2016).

In cerebral capillaries, the endothelial basement membrane is continuous with the parenchymal basement membrane, which, unlike the endothelial basement membrane, contains laminins-111 and -211 (ThomsenRouthe et al., 2017). In larger cerebral vessels, these two layers are separated by perivascular spaces (Ineichen et al., 2022). Astrocytic end-feet are anchored in the parenchymal basement membrane and represent the primary source of its components (ThomsenRouthe et al., 2017). Similar to pericytes,

**Fig. 1: Schematic illustration of the histological structure of the blood-brain barrier**



Source: Drawn by the first author of this manuscript.

astrocytes influence BBB permeability by regulating the expression of tight junction proteins in BMECs. An *in vivo* study in mice has shown that their presence is important not only for embryonic BBB development but also for its proper function in adulthood (Heithoff et al., 2021). The parenchymal basement membrane, together with the astrocytic end-feet, forms the glia limitans (Engelhardt and Coisne, 2011).

### ***In vitro* BBB models**

Interest in studying the physiology, pathology, toxicity, and drug delivery to the CNS has led to the development of several *in vitro* BBB models. Their main advantage over *in vivo* animal models is the lower time and financial demands (Jagtiani et al., 2022). None of the developed models is perfect, and the selection of an appropriate model depends on the requirements of a particular experiment (Soliman et al., 2025).

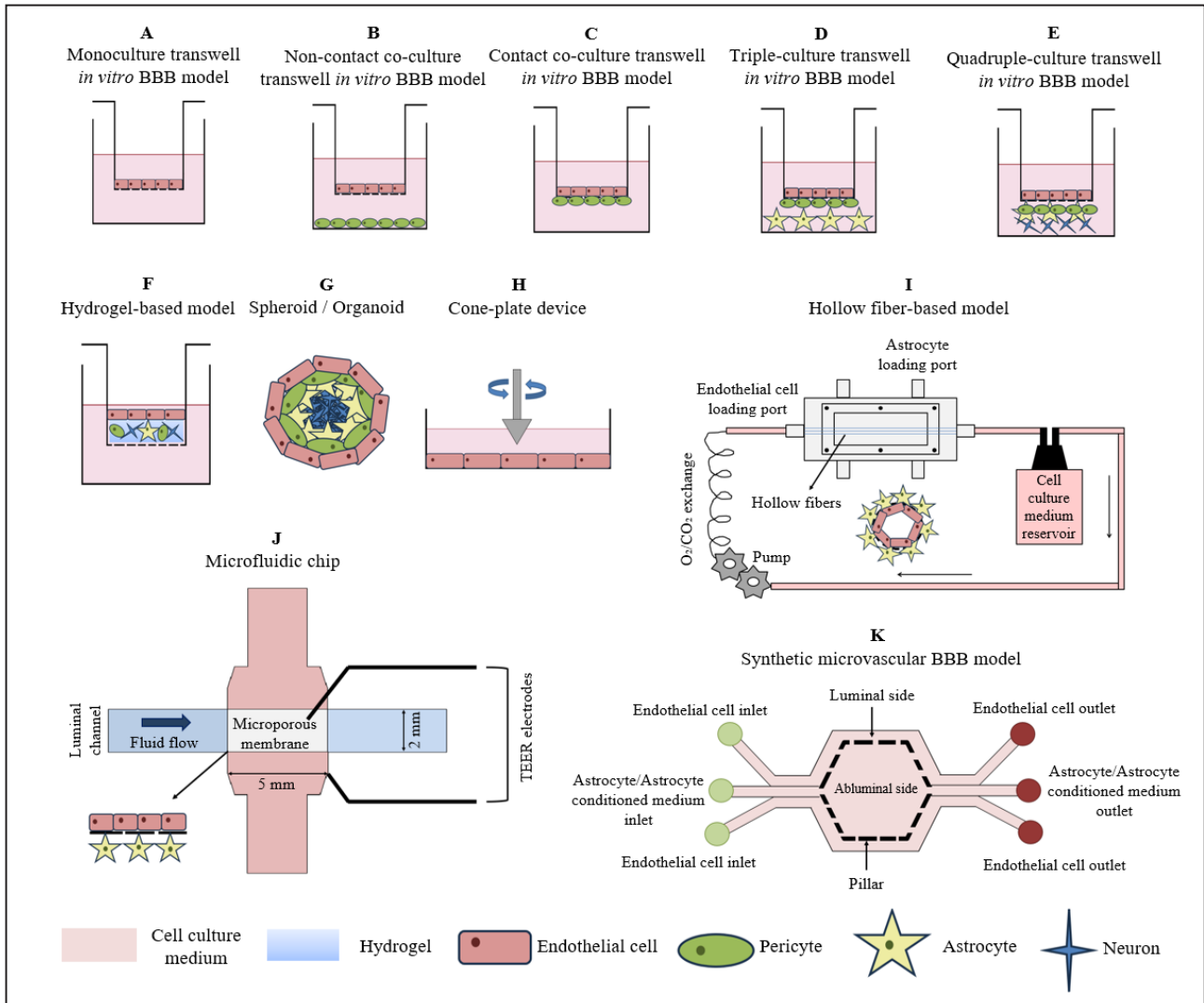
The simplest *in vitro* BBB model is a monolayer of BMECs cultured on a transwell insert (Fig. 2A). Integrity is assessed by measuring TEER and by determining permeability for selected molecular markers (Czupalla et al., 2014), such as sucrose, sodium fluorescein, lucifer yellow, horseradish peroxidase, Evans blue bound to serum albumin, and fluorescently labeled dextran (Chaulagain et al., 2023; Simoes

Da Gama and Morin-Brureau, 2022). Efforts to better approximate physiological conditions have led to the development of co-culture transwell *in vitro* BBB models, in which BMECs are co-cultured with astrocytes, pericytes, and/or neurons. In a non-contact co-culture system, BMECs are placed in the luminal part of the insert, while the second cell type is located at the bottom of the well in which the insert is placed (Fig. 2B). Communication between the different cell types occurs through paracrine signaling. In a contact co-culture system, the second cell type (astrocytes or pericytes) is cultured on the abluminal side of the insert, enabling intercellular communication through direct physical interaction (Fig. 2C). Various configurations of double-culture, triple-culture (Fig. 2D), and quadruple-culture systems (Fig. 2E) have been developed (Soliman et al., 2025). However, the physical contact of BBB cells *in vivo* is better mimicked by 3D *in vitro* BBB models.

The first described 3D *in vitro* BBB models were hydrogel-based models in which two configurations are possible. In the first configuration, BMECs are embedded directly into the hydrogel scaffold, either alone or in combination with other NVU cell types. However, this configuration is not suitable for testing BBB permeability because the luminal and abluminal sides are not precisely defined. To overcome this limitation, BMECs can be cultured on the surface of a hydrogel scaffold containing other NVU cell types. The endothelial cells can then form a monolayer that defines the luminal side of the BBB model (Fig. 2F) (Perez-Lopez et al., 2023). Subsequently, spheroids and organoids were developed. In both cases, they are spherical aggregates formed by spontaneous organization of NVU cells, but exclusively human embryonic stem cells (hESCc) or induced pluripotent stem cells (hiPSCs) are used to generate organoids (Fig. 2G) (Lancaster et al., 2013). However, neither of these models considers the effect of shear stress on the integrity of BMECs.

The first dynamic *in vitro* BBB model was the cone-plate device (Fig. 2H). However, due to the non-uniform distribution of shear stress, it is not commonly

**Fig. 2: Schematic illustrations of *in vitro* BBB models**



Source: Created by the first author of this manuscript.

used today (Soliman et al., 2025). Another dynamic *in vitro* BBB model is the hollow fiber-based model. It consists of a gas-permeable silicone tube connected to a medium reservoir, a pump with adjustable speed, and a hollow fiber system. BMECs are cultured on the inner side of each fiber, while astrocytes are cultured on the outer side (Fig. 2I) (Cucullo et al., 2002). Although it allows the simulation of shear stress with values comparable to physiological conditions, its preparation is technically, time-, and cost-intensive. Another disadvantage is the complicated visualization of BMECs morphology (He et al., 2014). To overcome the limitations of the hollow fiber-based model, microfluidic-based BBB models were developed. The first microfluidic chips consisted of a

microporous membrane located at the intersection of two perpendicularly oriented channels. BMECs were cultured on the upper side and astrocytes on the lower side of the membrane. The exchange of nutrients and gases was ensured by a system of gas-permeable tubing, and medium flow was provided by a peristaltic pump. Each side of the membrane contained a set of electrodes for TEER measurement (Fig. 2J) (Booth and Kim, 2012). To simplify monitoring of both the luminal and abluminal sides of the BBB chip, a synthetic microvascular BBB model (SyM-BBB) was created, which, unlike the previous model, is based on a horizontal arrangement. The microporous membrane is replaced by pillars that divide two micro-channels into a luminal and an abluminal side cham-

ber. The luminal side chamber contains BMECs, and the abluminal side chamber contains astrocytes or astrocyte-conditioned medium. Medium exchange is ensured by inlet and outlet ports (Fig. 2K) (Prabhakarbandian et al., 2013).

### **Ecm proteins used for the construction of *in vitro* BBB models**

Although BMECs can be cultured on plastic surfaces, like other adherent cells, they attach only weakly under natural conditions. Therefore, modification of the culture surface is required to allow sufficient cell adhesion. In *in vitro* BBB models, various substrates are used for this purpose, which not only support adhesion but also promote proliferation, differentiation, and cell survival (DeQuach et al., 2010; Chua and Lim, 2023). Since the creation of the first *in vitro* BBB models, type I collagen isolated from rat tail or bovine sources has been the most commonly used substrate for culturing BMECs (Audus and Borchardt, 1986; Cecchelli et al., 1999; Kim et al., 2015; Lauer et al., 2004; Malik et al., 2023). This substrate enables selective isolation of primary BMECs based on their differential adhesion rates compared to other brain cells (Navone et al., 2013), and also facilitates the formation of a continuous and well-organized monolayer (Cecchelli et al., 1999). Another frequently used substrate is gelatin, which, due to its low cost, is mainly employed for subculturing endothelial cells but is also used in hydrogel formation and for coating transwell inserts (Augustine et al., 2021; Cecchelli et al., 1999; Karasek, 1989; Xie et al., 2005). However, none of these substrates are components of the physiological endothelial basement membrane of the BBB *in vivo*. In 1998, Tilling et al. demonstrated that culturing porcine brain capillary endothelial cells (PBCECs) on inserts coated with fibronectin, type IV collagen, laminin, or mixtures of two of these proteins at a 1:1 mass ratio led to a significant increase in TEER values compared to culture on type I collagen-coated inserts. The highest TEER values were achieved with PBCECs cultured on a fibronectin/laminin mixture (Tilling et al.,

1998). Since then, commonly used substrates have also included mouse or human type IV collagen (Assmann et al., 2017; Song and Pachter, 2003), bovine or human fibronectin (Fiandra et al., 2016; Lauer et al., 2004; Toyoda et al., 2013), type IV collagen/fibronectin mixtures (Calabria et al., 2006; Ruck et al., 2014; ThomsenBirkelund et al., 2017; Toyoda et al., 2013), and Matrigel (Kim et al., 2022; Li et al., 2010; Petrovskaya et al., 2022). Matrigel is also routinely used for culturing hESCs and hiPSCs during their differentiation into BMEC-like cells, while subsequent purification from mixed populations of neurons and BMEC-like cells is performed on type IV collagen/fibronectin-coated surfaces (Lippmann et al., 2012). Matrigel mainly consists of laminin-111, type IV collagen, perlecan, and nidogen (Kleinman and Martin, 2005; Uriel et al., 2009). Its use is often preferred over individual laminins because their tissue isolation and recombinant full-length protein production remain technically challenging. In recent years, interest has grown in using recombinant laminin E8 fragments, which consist of the C-terminal regions of individual chains (Miyazaki et al., 2012). Although the use of these substrates better approximates the composition of the endothelial basement membrane of the BBB *in vivo* compared to type I collagen and gelatin, most are of animal origin, which reduces their physiological relevance.

Several authors besides Tilling et al. have investigated the influence of various substrates on the integrity of *in vitro* BBB models. Maherally et al. compared the effects of human plasma fibronectin, human laminin, type IV collagen, recombinant agrin, and perlecan on hCMEC/D3 cell adhesion and TEER values of the resulting monolayer. Their results showed that the best adhesion and highest TEER were achieved on plastic surfaces coated with perlecan and agrin (Maherally et al., 2018). Katt et al. examined BMEC-like cells' adhesion and TEER when cultured on type I collagen hydrogels further modified with type IV collagen, fibronectin, laminin, perlecan, agrin, and various combinations of these ECM proteins. They found that cells formed the most morphologically

continuous monolayer on the stiffest gels (7 mg/ml), while agrin coating significantly enhanced adhesion. However, the highest TEER values were observed in cells cultured on hydrogels coated with a mixture of type IV collagen, fibronectin, and laminin, whereas agrin-modified hydrogels resulted in relatively low TEER. These findings suggest that although agrin promotes BMEC-like cell monolayer formation, its presence alone, without other ECM proteins, is insufficient to achieve adequate barrier integrity. The same authors further compared TEER of BMEC-like cells cultured on transwell inserts coated with fibronectin, agrin, a type IV collagen/fibronectin mixture, a type IV collagen/laminin mixture, and an agrin/laminin mixture. The highest values were obtained on the type IV collagen/laminin combination, whereas the lowest were again observed on agrin. The discrepancy between these results and those of Maheraly et al. may stem from differences in the properties of BMEC-like cells and hCMEC/D3 cells. Notably, TEER values of BMEC-like cells cultured on collagen-based hydrogels were significantly lower than those obtained with individual ECM proteins, suggesting that the use of collagen hydrogels in monolayer transwell *in vitro* BBB models may be counterproductive (Katt et al., 2018). Although previous studies exploring optimal substrates for BMEC culture included laminins, they did not examine possible differences among specific isoforms. Motalebnejad et al. investigated the effects of laminin-511, the E8 fragment of laminin-511, the E8 fragment of laminin-411, a type IV collagen/laminin-511 mixture, and a type IV collagen/fibronectin mixture on BMEC-like cell integrity. The highest and most stable TEER values over a two-week measurement period were observed in cells cultured on the laminin-511 E8 fragment. In contrast, cells cultured on the laminin-411 E8 fragment often failed to form a monolayer, and when they did, it exhibited relatively low TEER. Immunocytochemical analysis revealed that BMEC-like cells cultured on the laminin-511 E8 fragment showed higher and more uniform expression of E-cadherin, PECAM-1, ZO-1, and claudin-5 compared to those cultured on a type IV collagen/

fibronectin mixture. Conversely, cells grown on the type IV collagen/fibronectin substrate displayed more F-actin stress fibers and higher expression of angiopoietin-2 (ANGPT2), von Willebrand factor (vWF), and matrix metalloproteinases MMP1 and MMP9, indicating an activated BMEC-like cell phenotype. The results of this study thus demonstrated that the laminin-511 E8 fragment supports differentiation of hiPSCs into BMEC-like cells with a non-activated phenotype (Motalebnejad and Azarin, 2020). The results of the studies are summarized in Table 1.

Overall, these findings highlight the critical role of substrate composition in determining the integrity of *in vitro* BBB models. However, none of the existing studies have explored the synergistic effect of combining all key proteins of the endothelial basement membrane of the BBB (type IV collagen, laminin-411, laminin-511, nidogen-1, perlecan, agrin, and fibronectin), which would more accurately mimic the physiological *in vivo* environment.

### **ECM proteins of the endothelial basement membrane of the BBB**

ECM is a highly dynamic three-dimensional network of proteins that surrounds cells, providing physical support and regulating multiple cellular processes. Its composition is tissue-specific, and its presence is essential for maintaining normal tissue homeostasis. There are two main types of ECM: interstitial and pericellular. Interstitial ECM is located in the spaces between cells, whereas pericellular ECM is in close contact with the cells it surrounds. The endothelial basement membrane of the BBB represents a specific type of pericellular ECM (Theocharis et al., 2016), which envelops BMECs and pericytes, the latter also serving as producers of its protein components (ThomsenRouthe et al., 2017). Cells interact with individual components of the endothelial basement membrane through integrin and dystroglycan receptors. These interactions anchor the cells to the basement membrane and simultaneously trigger specific intracellular signaling pathways that regulate cell proliferation, differentiation, migration, and survival.

**Tab. 1: Summary of studies comparing the impact of different substrates on the integrity of *in vitro* BBB models**

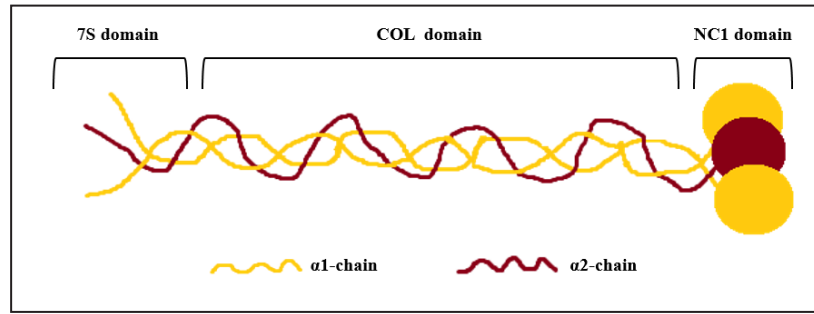
| Cells           | Substrate                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Device                                | Results                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | References                      |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| PBCECs          | <b><i>Single ECM proteins</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• type I collagen (900 µl/ml)</li> <li>• type IV collagen (50 µl/ml)</li> <li>• laminin (50 µl/ml)</li> <li>• fibronectin (50 µl/ml)</li> </ul> <b><i>Mixtures</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• type IV collagen (50 µl/ml) + laminin (50 µl/ml)</li> <li>• type IV collagen (50 µl/ml) + fibronectin (50 µl/ml)</li> <li>• fibronectin (50 µl/ml) + laminin (50 µl/ml)</li> </ul> | self-developed spectrometer           | <b><i>Group 1</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• type I collagen: 350 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• laminin: 805 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• fibronectin + laminin: 1015 Ω·cm<sup>2</sup></li> </ul> <b><i>Group 2</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• type I collagen: 1000 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• type IV collagen, type IV collagen + fibronectin: 1100 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• fibronectin + laminin: 1200 Ω·cm<sup>2</sup></li> </ul> | (Tilling et al., 1998)          |
| hCMEC/D3        | <b><i>Single ECM proteins</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• laminin (75 µg/ml)</li> <li>• type IV collagen (10 µg/ml)</li> <li>• fibronectin (5 µg/ml)</li> <li>• agrin (1 µg/ml)</li> <li>• perlecan (10 µg/ml)</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                  | ECIS Zθ (Applied Biophysics)          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• laminin: 580 Ω</li> <li>• type IV collagen: 600 Ω</li> <li>• fibronectin: 620 Ω</li> <li>• agrin: 980 Ω</li> <li>• perlecan: 1200 Ω</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                      | (Maherally et al., 2018)        |
| BMEC-like cells | <b><i>Single ECM proteins</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• agrin (50 µl/ml)</li> <li>• fibronectin (50 µl/ml)</li> </ul> <b><i>Mixtures</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• fibronectin (50 µg/ml) + agrin (50 µg/ml)</li> <li>• type IV collagen (50 µg/ml) + fibronectin (50 µg/ml)</li> <li>• type IV collagen (50 µg/ml) + laminin (50 µg/ml)</li> </ul>                                                                                   | EVOM2 volttohmmeter (STX2 electrodes) | <ul style="list-style-type: none"> <li>• agrin: 5 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• fibronectin + agrin: 4100 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• fibronectin: 5000 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• type IV collagen + fibronectin: 5700 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• type IV collagen + laminin: 6200 Ω·cm<sup>2</sup></li> </ul>                                                                                                                                                              | Katt et al., 2018)              |
| BMEC-like cells | <b><i>Single ECM proteins</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• laminin 511 (1 µg/cm<sup>2</sup>)</li> <li>• laminin-511-E8 (1 µg/cm<sup>2</sup>)</li> <li>• laminin-411-E8 (1 µg/cm<sup>2</sup>)</li> </ul> <b><i>Mixtures</i></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• type IV collagen (400 µg/ml) + fibronectin (100 µg/ml)</li> <li>• type IV collagen (400 µg/ml) + laminin 511 (1 µg/cm<sup>2</sup>)</li> </ul>                                       | EVOM2 volttohmmeter (STX2 electrodes) | <ul style="list-style-type: none"> <li>• laminin-411-E8: 900 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• type IV collagen + fibronectin: 3000 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• laminin-511, type IV collagen + laminin-511: 3700 Ω·cm<sup>2</sup></li> <li>• laminin-511-E8: 4200 Ω·cm<sup>2</sup></li> </ul>                                                                                                                                                                                     | Motallbn ejad and Azarin, 2020) |

In addition, the ECM serves as a reservoir for various growth factors, which can be released as needed to influence cellular behavior. Changes in the composition or abundance of individual components of the endothelial basement membrane of the BBB thus affect not only its mechanical properties but also the signaling pathways transmitted to the cells (Baeten and Akassoglou, 2011).

The main components of the ECM in the endothelial basement membrane of the BBB include type IV collagen, laminin-411, laminin-511, nidogen-1, perlecan, agrin, and fibronectin (Roberts et al., 2012; ThomsenRouthe et al., 2017; Tilling et al., 2002; Xu et

al., 2019). Each of these proteins plays a specific role in maintaining BBB integrity, although in many cases their functions are not yet fully understood. Laminins are essential for the assembly of the endothelial basement membrane and support proper differentiation of BMECs (Mettouchi et al., 2001; Motallebnejad and Azarin, 2020). Type IV collagen maintains the stability of the basement membrane under mechanical stress during developmental processes (Gould et al., 2005; Pöschl et al., 2004). The linkage between type IV collagen and laminins is mediated by nidogen-1, whose role in maintaining BBB integrity is still not completely clarified (ThomsenRouthe et al., 2017).

**Fig. 3: Schematic representation of the structure of a type IV collagen protomer**



Abbreviations: COL: collagenous domain. NC1: non-collagenous domain 1.

Source: Created by the first author of this manuscript.

Perlecan mediates interactions between the ECM and growth factors (Roberts et al., 2012), influences ECM hydration and mechanical properties (Theocharis et al., 2016), and supports pericyte migration to damaged regions of the CNS, significantly contributing to their repair (Nakamura et al., 2019). Agrin enhances the integrity of BMECs by stabilizing the localization of E-cadherin,  $\beta$ -catenin, and ZO-1 (Steiner et al., 2014). Fibronectin, similarly to perlecan, mediates ECM interactions with growth factors (Martino and Hubbell, 2010), supports the survival and proliferation of BMECs (Wang and Milner, 2006), and facilitates adhesion of astrocytic end-feet to the ECM (Liu et al., 2023).

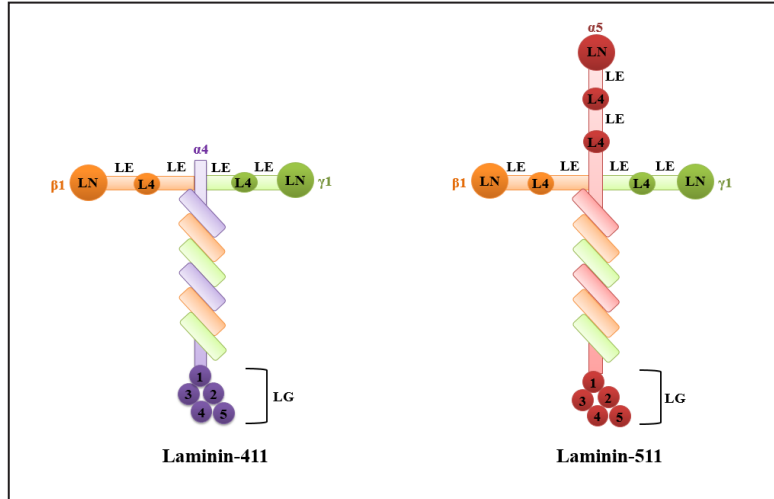
### Type IV collagen

The main structural component of the endothelial basement membrane is type IV collagen. It is a 488.8 kDa (UniProt P02462, P08572) trimeric protein composed of three  $\alpha$ -chains. Although up to six types of  $\alpha$ -chains ( $\alpha 1 - \alpha 6$ ) have been identified, only  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  chains are constitutively present in nearly all basement membranes (Xu et al., 2019). They are encoded by the COL4A1 and COL4A2 genes, which are located on human chromosome 13 (Kuhn, 1995). Each chain is a left-handed helix consisting of a globular non-collagenous domain 1 (NC1) at the C-terminus, a long collagenous domain (COL) formed by Gly-Xaa-Yaa repeats in the central part, and a 7S domain rich in cysteine and lysine residues at the N-terminus. The collagen domain contains 21 – 23 interruptions in the

Gly-Xaa-Yaa repeats, which provide flexibility of the chains and allow network formation (Khoshnoodi et al., 2008). In brain endothelial basement membranes, the predominant isoform of type IV collagen is formed by the intracellular combination of two  $\alpha 1$ -chains and one  $\alpha 2$ -chain ( $[\alpha 1(IV)]_2\alpha 2(IV)$ ) to form a right-handed triple helix, referred to as a protomer (Fig. 3). The resulting protomers subsequently undergo extracellular oligomerization, which is dependent on the presence of chloride ions (ThomsenRouthe et al., 2017). This process occurs either by linking two protomers via interactions between their NC1 domains or by linking four protomers via interactions between their 7S domains. Additionally, lateral interactions between the COL domains contribute to the formation of the polygonal network, which is further stabilized by supramolecular twisting to form a supercoil (Khoshnoodi et al., 2008).

A global knockout of the genes encoding both chains of type IV collagen (Col4a1, Col4a2) in mice has shown that this isoform is not required for basement membrane formation during early embryonic development. However, after embryonic day 10 – 11, mutant embryos die due to disrupted basement membrane structure (Pöschl et al., 2004). Homozygous Col4a1 mutant mice, as well as mice with knockouts of both chains, also die during embryonic development. Half of the heterozygous mice die within one day after birth due to cerebral hemorrhage, and 18% of adults develop porencephaly. The basement membrane of heterozygotes is poorly demarcated, lacks

**Fig. 4: Schematic representation of the structure of laminin-411 and laminin-511**



Abbreviations: LN: laminin N-terminal domain. LE: laminin-type epidermal growth factor-like domain. L4: laminin IV domain. LG: laminin globular domain. Source: Created by the first author of this manuscript.

uniform density and thickness, is discontinuous in places, and shows herniations (Gould et al., 2005). Both studies demonstrate the essential role of type IV collagen in maintaining endothelial basement membrane stability.

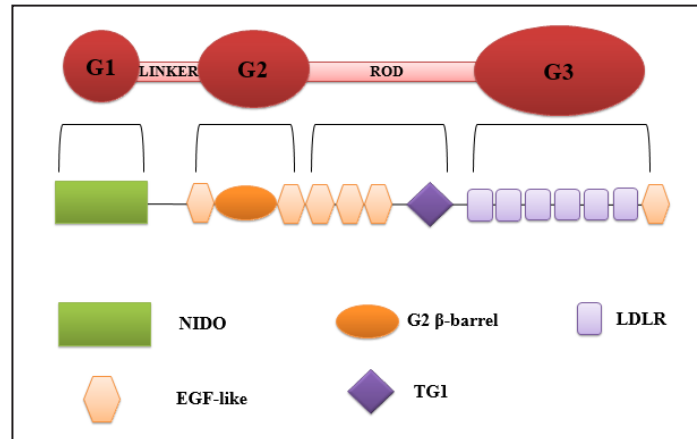
### Laminins

The proper incorporation of type IV collagen into the endothelial basement membrane is supported by its interaction with laminins (McKee et al., 2007). Laminins are trimeric, cross-shaped proteins composed of  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  chains. Five  $\alpha$ , four  $\beta$ , and three  $\gamma$  chains have been identified, which can combine to form up to 20 laminin isoforms (Halder et al., 2023). The two most abundant laminin isoforms in the endothelial basement membrane are laminin-411 and laminin-511. Laminin-411 consists of  $\alpha_4$ ,  $\beta_1$ , and  $\gamma_1$  chains (ThomsenRouthe et al., 2017) and has a molecular weight of 578.2 kDa (UniProt Q16363, P07942, P11047). Laminin-511 consists of  $\alpha_5$ ,  $\beta_1$ , and  $\gamma_1$  chains (ThomsenRouthe et al., 2017) and has a molecular weight of 775.4 kDa (UniProt O15230, P07942, P11047). The chains of these laminins are encoded by the genes LAMA4 ( $\alpha_4$ ) on chromosome 6, LAMA5 ( $\alpha_5$ ) on chromosome 20, LAMB1 ( $\beta_1$ ) on chromosome 7, and LAMC1 ( $\gamma_1$ ) on chromosome 1

(Aumailley, 2013). Laminin self-assembly occurs in two stages: a temperature-dependent oligomerization step, followed by calcium-dependent polymerization (Yurchenco and Schittny, 1990). Inside the cell, the  $\beta$  and  $\gamma$  chains first form a dimer, to which the C-terminal part of the  $\alpha$  chain is subsequently added, forming a helical structure. This process gives rise to the long arms of the laminin molecules, whose ends contain the laminin globular (LG) domain, derived from the protruding C-terminal part of the  $\alpha$ -chains. The short arms are formed by the association of the N-terminal regions of the individual chains and contain the laminin N-terminal (LN) domain, the laminin-type epidermal growth factor (EGF)-like (LE) domain, and the laminin IV (L4) domain (Fig. 4) (Aumailley, 2013). The long arms mediate interactions between laminins and cell surface receptors such as integrins and dystroglycans, while the short arms interact with other components of the endothelial basement membrane (Hohenester and Yurchenco, 2013).

The indispensable role of laminins in the formation of basement membranes is demonstrated by the global knockout of the  $\gamma_1$  chain of laminin, which leads to a complete absence of basement membranes and lethality already at early stages of embryonic development. In such embryos, only disorganized ag-

**Fig. 5: Schematic representation of the modular structure of nidogen-1**



Abbreviations: **G1**: globular domain 1. **G2**: globular domain 2. **G3**: globular domain 3. **NIDO**: nidogen domain. **EGF-like**: epidermal growth factor-like domain. **TG1**: thyroglobulin type 1 domain. **LDLR**: low-density lipoprotein receptor repeats.

Source: Created by the first author of this manuscript.

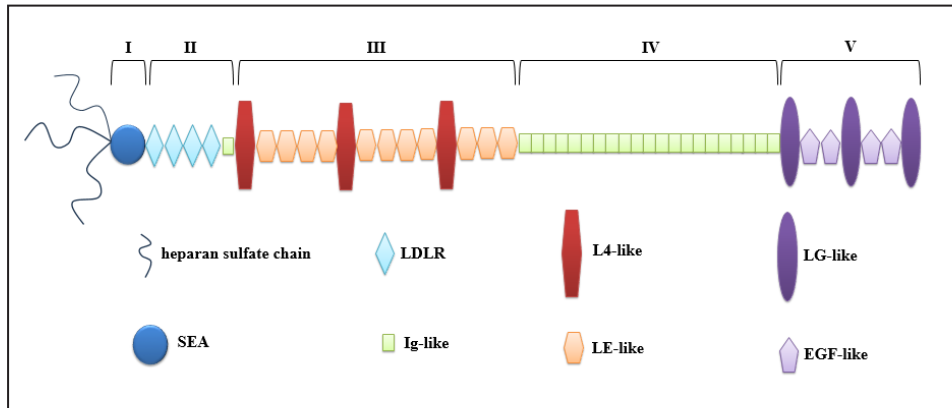
gregates of type IV collagen and perlecan were observed. However, these results do not allow definitive conclusions about the function of individual laminin isoforms, since several of them contain this chain (Smyth et al., 1999). The role of laminin-411 in the formation of the endothelial basement membrane has been investigated in mutant mice deficient in the  $\alpha 4$  chain. These mice exhibited a hemorrhagic phenotype during the perinatal stage, and their basement membranes contained reduced amounts of type IV collagen and nidogen. Interestingly, the hemorrhagic phenotype spontaneously resolved within a few weeks after birth, possibly due to the onset of laminin-511 expression, which could compensate for the lack of laminin-411 (Thyboll et al., 2002). This observation is further supported by findings showing that in the CNS of normal mice,  $\alpha 4$  chain expression is present along the entire vasculature, whereas  $\alpha 5$  chain expression is restricted to capillaries and postcapillary venules. In mice deficient in the  $\alpha 4$  chain, however, the  $\alpha 5$  chain is expressed along the entire vasculature (Wu et al., 2009). In contrast, a global knockout of the  $\alpha 5$  chain of laminin has lethal consequences (Miner et al., 1998). To clarify the role of laminin-511 in BBB integrity, Gautam et al. generated mutant mice with an endothelial cell-specific knockout of the  $\alpha 5$

chain of laminin. Under homeostatic conditions, no differences in BBB integrity were observed in these mice; however, following intracerebral hemorrhage, the BBB exhibited increased permeability and infiltration of immune cells (Gautam et al., 2019). These findings are consistent with the results of Wu et al., who observed reduced extravasation of immune cells in mice in which the deficiency of the  $\alpha 4$  chain was compensated by increased expression of the  $\alpha 5$  chain (Wu et al., 2009).

### Nidogen

The endothelial basement membrane is stabilized by nidogen, also known as entactin. There are two isoforms of nidogen: nidogen-1 and nidogen-2. In adults, the connection between type IV collagen and laminin is primarily mediated by nidogen-1, which also interacts with other basement membrane components such as perlecan and fibulin. In contrast, the expression of nidogen-2 decreases significantly after birth, suggesting that it plays an important role in basement membrane formation, particularly during embryonic development (ThomsenRouthe et al., 2017). Nidogen-1 is a 136.4 kDa glycoprotein encoded by the NID1 gene, located on chromosome 1 (UniProt P14543). It exhibits a modular structure

**Fig. 6: Schematic representation of the modular structure of perlecan**



Abbreviations: **SEA**: sea urchin sperm protein, enterokinase, and agrin domain. **LDLR-like**: low-density lipoprotein receptor-like repeats. **Ig-like**: immunoglobulin-like domain. **L4-like**: laminin IV-like domain. **LE-like**: laminin-type epidermal growth factor-like domain. **LG-like**: laminin globular-like domain. **EGF-like**: epidermal growth factor-like domain.

Source: Created by the first author of this manuscript.

composed of three globular domains (G1–G3). The G1 domain is separated from G2 by a linker region, whereas G2 is separated from G3 by a rod-like segment. The G1 domain contains the nidogen (NIDO) domain, comprising approximately 180 amino acid residues, whose exact function remains unclear. The G2 domain contains the G2  $\beta$ -barrel domain and two EGF-like domains. It ensures the interaction of nidogen-1 with type IV collagen and perlecan. The G3 domain consists of low-density lipoprotein receptor (LDLR) repeats and an EGF-like domain. It enables the interaction of nidogen with the short arm of the laminin  $\gamma$ 1 chain. The rod-like segment is composed of four EGF-like domains and a thyroglobulin type 1 (TG1) domain (Fig. 5) (Bechtel et al., 2012; Topfer and Holz, 2024; Zhou et al., 2022).

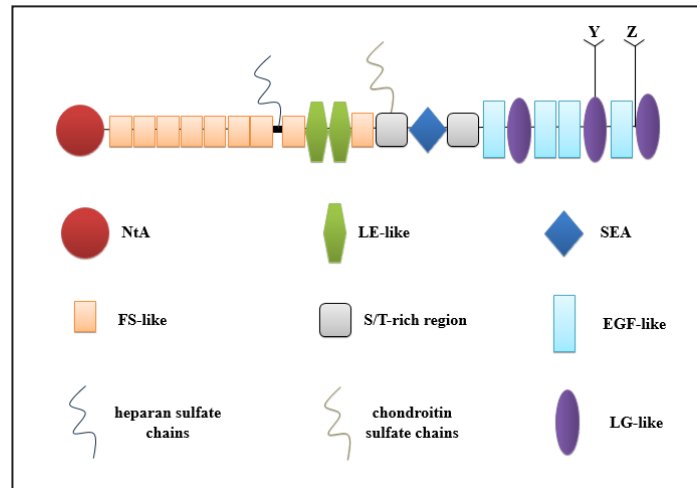
In nidogen-1-deficient mice, the endothelial basement membrane is thinned or absent in certain regions of the BBB, which is also reflected by an increase in endothelial cell volume. In contrast, basement membranes in other tissues appear normal. In some tissues, such as striated muscle and heart, increased levels of nidogen-2 have been observed, which may compensate for the lack of nidogen-1 (Dong et al., 2002; Miosge et al., 2002; Murshed et al., 2000). This hypothesis is further supported by the observation that

ablation of both isoforms leads to perinatal lethality (Bader et al., 2005). However, given the abnormalities observed in the endothelial basement membrane and the lack of increased nidogen-2 expression in the brain, it is likely that this compensatory mechanism is limited to non-neural tissues (Dong et al., 2002).

### Perlecan

Another important component of the endothelial basement membrane is perlecan, also known as heparan sulfate proteoglycan 2 (HSPG2). It is encoded by the HSPG2 gene located on chromosome 1. Perlecan consists of a core protein with a molecular weight of approximately 468.8 kDa (UniProt P98160), which is divided into five domains (I – V). Three glycosaminoglycan chains are attached to its N-terminus, increasing the total molecular weight of the protein to approximately 750 kDa (Martinez et al., 2018). Domain I is composed of acidic amino acids, contains three Ser-Gly-Asp sequences serving as attachment sites for heparan sulfate chains, and includes a SEA (sea urchin sperm protein, enterokinase, and agrin) domain. Domain II comprises four LDLR-like domains and one immunoglobulin (Ig)-like domain. Domain III contains three L4-like domains and eleven LE-like domains. Its presumed function is to

**Fig. 7: Schematic representation of the agrin structure with indicated Y and Z alternative splicing sites**



Abbreviations: **NtA**: N-terminal domain of agrin. **FS-like**: follistatin-like domain. **LE-like**: laminin-type epidermal growth factor-like domain. **SEA**: sea urchin sperm protein, enterokinase, and agrin domain. **EGF-like**: epidermal growth factor-like domain. **LG-like**: laminin globular-like domain.

Source: Created by the first author of this manuscript.

facilitate the secretion of perlecan into the extracellular matrix. Domain IV consists of approximately 2,000 amino acid residues and includes 21 Ig-like domains. It mediates the interaction of perlecan with other extracellular matrix proteins such as nidogen-1, fibronectin, and fibulin-2. Domain V, also known as endorepellin due to its ability to inhibit endothelial cell migration, is composed of three LG-like domains and four EGF-like domains (Fig. 6) (Gubbiotti et al., 2017). Perlecan interacts with numerous growth factors, including basic fibroblast growth factor (bFGF), platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ), and vascular endothelial growth factor (VEGF). In addition, it mediates the endocytosis of bFGF by BMECs, thereby contributing to the maintenance of BBB integrity (Roberts et al., 2012).

Perlecan deficiency in mice is lethal. Although basement membranes develop normally in early embryonic development, they are later disrupted in areas exposed to mechanical stress, such as the telencephalic vesicles. This results in brain tissue invading the ectoderm, leading to exencephaly and the formation of neuronal ectopias (Costell et al., 1999).

To study the function of perlecan in BBB integrity, mice with conditional perlecan deficiency were generated. Under homeostatic conditions, the BBB showed no abnormalities, but during middle cerebral artery occlusion, Evans blue staining and fibrinogen extravasation were increased, which was also associated with reduced expression of tight junction proteins claudin-5 and ZO-1, compared with the control group. Increased perlecan expression was observed in the control group. Further analyses showed that perlecan promotes pericyte migration to the affected area, thereby repairing BBB damage (Nakamura et al., 2019). These results suggest that perlecan is not essential for the development or maintenance of BBB integrity under homeostatic conditions, but its importance lies in supporting its repair after damage.

### Agrin

Agrin is a heparan sulfate proteoglycan encoded by the AGRN gene, which is located on chromosome 1. The core protein has a molecular weight of 217.3 kDa (UniProt: O00468), but this increases to approximately 400 kDa due to glycosylation (Winzen et al., 2003). Many of the domains of agrin show homol-

ogy to those of other ECM proteins. The N-terminal domain of agrin (NtA) mediates interaction with laminins and attachment to the endothelial basement membrane. Following this, the molecule contains nine follistatin (FS)-like domains, the last two of which are separated by two LE-like domains. The region between the seventh and eighth FS domains also contains three Ser-Gly consensus sequences that serve as attachment sites for heparan sulfate chains. The central part of the molecule contains two regions rich in serine and threonine residues (S/T), which are separated by the SEA domain. There are four additional Ser-Gly consensus sequences serving for attachment of chondroitin sulfate chains. The C-terminal region contains four EGF-like domains and three LG-like domains, and includes two alternative splice sites, Y and Z, which allow the formation of multiple agrin isoforms with specific functions in different tissues (Fig. 7) (Denzer et al., 1998; Winzen et al., 2003). The Z0 isoform, which lacks a C-terminal amino acid insertion, is present in the endothelial basement membrane (ThomsenRouthé et al., 2017). Agrin accumulation in the endothelial basement membrane of BBB begins during embryonic development (Barber and Lieth, 1997). Conversely, its reduced expression has been observed in endothelial basement membrane alterations associated with glioblastoma multiforme (Rascher et al., 2002).

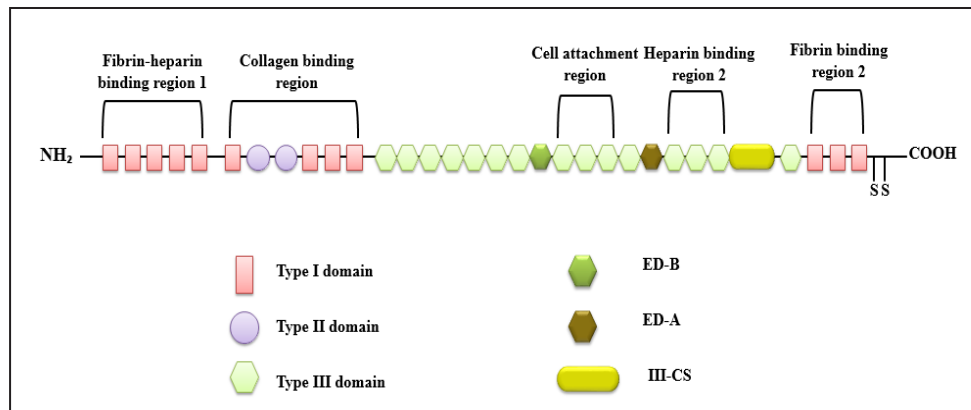
The role of agrin in BBB integrity is challenging to study, particularly because of the existence of neuronal isoforms that are essential for the formation of neuromuscular junctions. Deletion of the short isoform of agrin in mouse endothelial cells results in a narrowing of cerebral microvessel diameter and a decrease in the amount of aquaporin 4 (Rauch et al., 2011), which is located primarily in the cytoplasmic membrane of astrocytic end-feet (Lan et al., 2016). In a transgenic model of Alzheimer's disease, mice lacking agrin expressed in endothelial tissue also showed increased amyloid beta (A $\beta$ ) deposition (Rauch et al., 2011), likely due to reduced clearance of waste metabolites by astrocytes (Lan et al., 2016). Another study showed that agrin plays an important

role in stabilizing the localization of adherens junction proteins E-cadherin and  $\beta$ -catenin without affecting their overall expression. In addition, it stabilizes the localization of ZO-1, a tight junction protein that is thought to contribute to the formation of adherens junctions through interaction with  $\alpha$ -catenin (Steiner et al., 2014).

### **Fibronectin**

Fibronectin is a glycoprotein with a single-chain molecular weight of approximately 272.3 kDa. It is encoded by the FN1 gene located on chromosome 2 (UniProt P02751). Fibronectin can exist in two forms: as a dimeric soluble protein in blood plasma or as an insoluble protein on the cell surface and in the extracellular matrix. Under pathological conditions such as multiple sclerosis, these two forms can associate to form fibronectin aggregates that prevent axonal remyelination. It is synthesized primarily by astrocytes but also by BMECs and microglia (Wei et al., 2023). Fibronectin expression is highest during CNS development and decreases over time (Milner and Campbell, 2002), and in the adult brain it is found exclusively as part of the BBB (van Schaik et al., 2022). Each fibronectin chain consists of linearly arranged blocks of repeating homologous domains of types I, II and III. Type I domains contain approximately 45 amino acids, type II domains about 60 amino acids, and type III domains around 90 amino acids. Type I and II domains are linked by disulfide bonds. Type III domains do not contain disulfide bonds but may contain free thiol (-SH) groups. Alternative splicing results in different variants of fibronectin chains. It occurs in the extra domain A (ED-A), extra domain B (ED-B), and the type III connecting segment (III-CS). Based on function, the fibronectin chain can be divided into the fibrin-heparin binding region 1, the collagen binding region, the cell attachment region, the heparin binding region 2, and the fibrin binding region 2 (Fig. 8) (Proctor, 1987). The heparin binding region 2 enables fibronectin to interact with insulin-like growth factor-binding protein 3 (IGFBP-3) and several growth factors, including hepatocyte growth

**Fig. 8: Schematic representation of the modular structure of the fibronectin chain with sites of alternative splicing and functional regions indicated**



Abbreviations: **ED-B**: extra domain B. **ED-A**: extra domain A. **III-CS**: type III connecting segment.  
Source: Created by the first author of this manuscript.

factor (HGF), bFGF, PDGF, TGF- $\beta$ , and VEGF (Martino and Hubbell, 2010). Interaction with BMECs occurs primarily through binding to integrin receptors  $\alpha 5 \beta 1$  and  $\alpha v \beta 3$ , leading to promotion of cell survival and proliferation (Wang and Milner, 2006).

Knockout of fibronectin in mice results in early lethality, accompanied by marked impairment of neo-vascularization, neural tube formation, and the formation of mesoderm-derived tissues (George et al., 1993). Reduced fibronectin expression in humans is associated with cerebral cavernous malformation (CCM), a rare autosomal dominant disorder caused by mutations in the CCM1, CCM2, or CCM3 genes (Schwefel et al., 2020). It is characterized by reduced expression of tight junction proteins claudin-5, occludin, and ZO-1, as well as the glucose transporter-1 (GLUT-1). The result is clusters of blood-filled, irregularly dilated capillaries that are lined by endothelium and not separated by brain parenchyma (Schneider et al., 2011). A study by Schwefel et al. demonstrated that culturing human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) with a CRISPR/Cas9-inactivated CCM3 gene on a fibronectin substrate can reverse the morphological abnormalities of these cells, reduce actin filament formation, and restore the ability to form 3D spheroids (Schwefel et al., 2020). Another study showed that reduced fibronectin expression caused by deletion of the autophagy-related gene 7 (Atg7)

specifically in endothelial cells leads to loss of adhesion of astrocytic end-feet to the cerebral micro-circulation, which is manifested by reduced BBB integrity (Liu et al., 2023). These findings confirm that fibronectin is an essential component for proper BBB function.

## CONCLUSIONS

The endothelial basement membrane plays a key role in the proper function of the BBB. ECM proteins ensure the anchoring of cells in the basement membrane and participate in the regulation of cell proliferation, differentiation, migration and survival. However, the function of several proteins is still not fully understood. Several studies also point to the different integrity of in vitro BBB models when culturing BMECs on different substrates. Nevertheless, type I collagen, which is not a physiological component of the endothelial basement membrane, is still a frequently used substrate. Therefore, for the physiological relevance of the model, it would be more appropriate to use ECM proteins, which are natural components of the endothelial basement membrane. However, further studies are needed to better understand the influence of these proteins on the integrity of in vitro BBB models.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## Generative ai statement

The authors declare that no generative AI was used in the presented review.

## Funding declaration

Research was funded by grants VEGA1/0381/23 and APVV-22-0084.

## Author contribution

Diana Kosturíková: conceptualization, literature search, writing – original draft preparation, visualization, writing – editing and final adjustments of the manuscript. Katarína Bhide: critical revision of the manuscript, writing – review and editing of the manuscript. Mangesh Bhide: conceptualization, supervision, critical revision of the manuscript, writing – review and editing of the manuscript.

## REFERENCES

- Assmann, J. C., Muller, K., Wenzel, J., Walther, T., Brands, J., Thornton, P., Allan, S. M., Schwaninger, M.: Isolation and Cultivation of Primary Brain Endothelial Cells from Adult Mice. *Bio Protoc.*, 2017, 7 (10).
- Audus, K. L., Borchardt, R. T.: Characterization of an in vitro blood-brain barrier model system for studying drug transport and metabolism. *Pharm Res.*, 1986, 3 (2), 81 – 87.
- Augustine, R., Zahid, A. A., Mraiche, F., Alam, K., Al Moustafa, A. E., Hasan, A.: Gelatin-methacryloyl hydrogel based in vitro blood-brain barrier model for studying breast cancer-associated brain metastasis. *Pharm Dev Technol.*, 2021, 26 (4), 490 – 500.
- Aumailley, M.: The laminin family. *Cell Adh Migr.*, 2013, 7 (1), 48 – 55.
- Bader, B. L., Smyth, N., Nedbal, S., Miosge, N., Baranowsky, A., Mokkapati, S., Murshed, M., Nischt, R.: Compound genetic ablation of nidogen 1 and 2 causes basement membrane defects and perinatal lethality in mice. *Mol Cell Biol.*, 2005, 25 (15), 6846 – 6856.
- Baeten, K. M., Akassoglou, K.: Extracellular matrix and matrix receptors in blood-brain barrier formation and stroke. *Dev Neurobiol.*, 2011, 71 (11), 1018 – 1039.
- Barber, A. J., Lieth, E.: Agrin accumulates in the brain microvascular basal lamina during development of the blood-brain barrier. *Dev Dyn.*, 1997, 208 (1), 62 – 74.
- Bechtel, M., Keller, M. V., Bloch, W., Sasaki, T., Boukamp, P., Zaucke, F., Paulsson, M., Nischt, R.: Different domains in nidogen-1 and nidogen-2 drive basement membrane formation in skin organotypic cocultures. *FASEB J.*, 2012, 26 (9), 3637 – 3648.
- Booth, R., Kim, H.: Characterization of a microfluidic in vitro model of the blood-brain barrier (muBBB). *Lab Chip.*, 2012, 12 (10), 1784 – 1792.
- Brown, R. C., Davis, T. P.: Calcium modulation of adherens and tight junction function: a potential mechanism for blood-brain barrier disruption after stroke. *Stroke.*, 2002, 33 (6), 1706 – 1711.
- Calabria, A. R., Weidenfeller, C., Jones, A. R., de Vries, H. E., Shusta, E. V.: Puromycin-purified rat brain microvascular endothelial cell cultures exhibit improved barrier properties in response to glucocorticoid induction. *J Neurochem.*, 2006, 97 (4), 922 – 933.
- Cecchelli, R., Dehouck, B., Descamps, L., Fenart, L., Buee-Scherrer, V. V., Duhem, C., Lundquist, S., Rentfel, M., Torpier, G., Dehouck, M. P.: In vitro model for evaluating drug transport across the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev.*, 1999, 36 (2 – 3), 165 – 178.
- Costell, M., Gustafsson, E., Aszodi, A., Morgelin, M., Bloch, W., Hunziker, E., Addicks, K., Timpl, R., Fassler, R.: Perlecan maintains the integrity of cartilage and some basement membranes. *Journal of Cell Biology.*, 1999, 147 (5), 1109 – 1122.
- Cucullo, L., McAllister, M. S., Kight, K., Krizanac-Bengez, L., Marroni, M., Mayberg, M. R.,

- Stanness, K. A., Janigro, D.: A new dynamic *in vitro* model for the multidimensional study of astrocyte-endothelial cell interactions at the blood-brain barrier. *Brain Res.*, 2002, 951 (2), 243 – 254.
- Czupalla, C. J., Liebner, S., Devraj, K.: *In vitro* models of the blood-brain barrier. *Methods Mol Biol.*, 2014, 1135, 415 – 437.
- Denzer, A. J., Schulthess, T., Fauser, C., Schumacher, B., Kammerer, R. A., Engel, J., Ruegg, M. A.: Electron microscopic structure of agrin and mapping of its binding site in laminin-1. *EMBO J.*, 1998, 17 (2), 335 – 343.
- DeQuach, J. A., Mezzano, V., Miglani, A., Lange, S., Keller, G. M., Sheikh, F., Christman, K. L.: Simple and high yielding method for preparing tissue specific extracellular matrix coatings for cell culture. *PLoS One.*, 2010, 5 (9), e13039.
- Ding, S., Khan, A. I., Cai, X., Song, Y., Lyu, Z., Du, D., Dutta, P., Lin, Y.: Overcoming blood-brain barrier transport: Advances in nanoparticle-based drug delivery strategies. *Mater Today (Kidlington).*, 2020, 37, 112 – 125.
- Dong, L., Chen, Y., Lewis, M., Hsieh, J. C., Reing, J., Chaillet, J. R., Howell, C. Y., Melhem, M., Inoue, S., Kuszak, J. R., DeGeest, K., Chung, A. E.: Neurologic defects and selective disruption of basement membranes in mice lacking entactin-1/nidogen-1. *Lab Invest.*, 2002, 82 (12), 1617 – 1630.
- Engelhardt, B., Coisne, C.: Fluids and barriers of the CNS establish immune privilege by confining immune surveillance to a two-walled castle moat surrounding the CNS castle. *Fluids Barriers CNS.*, 2011, 8 (1), 4.
- Fiandra, L., Mazzucchelli, S., Truffi, M., Bellini, M., Sorrentino, L., Corsi, F.: *In Vitro* Permeation of FITC-loaded Ferritins Across a Rat Blood-brain Barrier: A Model to Study the Delivery of Nanoformulated Molecules. *J Vis Exp.*, 2016, 114.
- Gautam, J., Miner, J. H., Yao, Y.: Loss of Endothelial Laminin  $\alpha 5$  Exacerbates Hemorrhagic Brain Injury. *Translational Stroke Research.*, 2019, 10 (6), 705 – 718.
- George, E. L., Georges-Labouesse, E. N., Patel-King, R. S., Rayburn, H., Hynes, R. O.: Defects in mesoderm, neural tube and vascular development in mouse embryos lacking fibronectin. *Development.*, 1993, 119 (4), 1079 – 1091.
- Gould, D. B., Phalan, F. C., Breedveld, G. J., van Mil, S. E., Smith, R. S., Schimenti, J. C., Aguglia, U., van der Knaap, M. S., Heutink, P., John, S. W.: Mutations in Col4a1 cause perinatal cerebral hemorrhage and porencephaly. *Science.*, 2005, 308 (5725), 1167 – 1171.
- Gubbiotti, M. A., Neill, T., Iozzo, R. V.: A current view of perlecan in physiology and pathology: A mosaic of functions. *Matrix Biol.*, 2017, 57 – 58, 285 – 298.
- Halder, S. K., Sapkota, A., & Milner, R.: The importance of laminin at the blood-brain barrier. *Neural Regeneration Research.*, 2023, 18 (12), 2557 – 2563.
- He, Y., Yao, Y., Tsirka, S. E., Cao, Y.: Cell-culture models of the blood-brain barrier. *Stroke.*, 2014, 45 (8), 2514 – 2526.
- Heithoff, B. P., George, K. K., Phares, A. N., Zuidhoek, I. A., Munoz-Ballester, C., Robel, S.: Astrocytes are necessary for blood-brain barrier maintenance in the adult mouse brain. *Glia.*, 2021, 69 (2), 436 – 472.
- Hohenester, E., Yurchenco, P. D.: Laminins in basement membrane assembly. *Cell Adh Migr.*, 2013, 7 (1), 56 – 63.
- Chaulagain, B., Gothwal, A., Lamptey, R. N. L., Trivedi, R., Mahanta, A. K., Layek, B., Singh, J.: Experimental Models of In Vitro Blood-Brain Barrier for CNS Drug Delivery: An Evolutionary Perspective. *Int J Mol Sci.*, 2023, 24 (3).
- Chua, P., Lim, W. K.: The strategic uses of collagen in adherent cell cultures. *Cell Biol Int.*, 2023, 47 (2), 367 – 373.
- Ineichen, B. V., Okar, S., Proulx, S. T., Engelhardt, B., Lassmann, H., Reich, D. S.: Perivascular spaces and their role in neuroinflammation. *Neuron.*, 2022, 110 (21), 3566 – 3581.

- Jagtiani, E., Yeolekar, M., Naik, S., Patravale, V.: In vitro blood brain barrier models: An overview. *J Control Release.*, 2022, 343, 13 – 30.
- Jin, J., Fang, F., Gao, W., Chen, H., Wen, J., Wen, X., Chen, J.: The Structure and Function of the Glycocalyx and Its Connection With Blood-Brain Barrier. *Front Cell Neurosci.*, 2021, 15, 739699.
- Karasek, M. A.: Microvascular endothelial cell culture. *J Invest Dermatol.*, 1989, 93, 33 – 38.
- Katt, M. E., Linville, R. M., Mayo, L. N., Xu, Z. S., Searson, P. C.: Functional brain-specific microvessels from iPSC-derived human brain microvascular endothelial cells: the role of matrix composition on monolayer formation. *Fluids Barriers CNS.*, 2018, 15 (1), 7.
- Khoshnoodi, J., Pedchenko, V., Hudson, B. G.: Mammalian collagen IV. *Microsc Res Tech.*, 2008, 71 (5), 357 – 370.
- Kim, J. A., Kim, H. N., Im, S. K., Chung, S., Kang, J. Y., Choi, N.: Collagen-based brain microvasculature model in vitro using three-dimensional printed template. *Biomicrofluidics.*, 2015, 9 (2), 024115.
- Kim, W., Kim, J., Lee, S. Y., Kim, H. M., Joo, K. M., Nam, D. H.: Simplified in vitro 3D co-culture-based blood-brain barrier model using transwell. *Biochem Biophys Res Commun.*, 2022, 620, 63 – 68.
- Kleinman, H. K., Martin, G. R.: Matrigel: basement membrane matrix with biological activity. *Semin Cancer Biol.*, 2005, 15 (5), 378 – 386.
- Kuhn, K.: Basement membrane (type IV) collagen. *Matrix Biol.*, 1995, 14 (6), 439 – 445.
- Lan, Y. L., Zhao, J., Ma, T., Li, S.: The Potential Roles of Aquaporin 4 in Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol.*, 2016, 53 (8), 5300 – 5309.
- Lancaster, M. A., Renner, M., Martin, C. A., Wenzel, D., Bicknell, L. S., Hurles, M. E., Homfray, T., Penninger, J. M., Jackson, A. P., Knoblich, J. A.: Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature.*, 2013, 501 (7467), 373 – 379.
- Lauer, R., Bauer, R., Linz, B., Pittner, F., Peschek, G. A., Ecker, G., Friedl, P., Noe, C. R.: Development of an *in vitro* blood-brain barrier model based on immortalized porcine brain microvascular endothelial cells. *Farmaco.*, 2004, 59 (2), 133 – 137.
- Li, G., Simon, M. J., Cancel, L. M., Shi, Z. D., Ji, X., Tarbell, J. M., Morrison, B., 3rd, Fu, B. M.: Permeability of endothelial and astrocyte cocultures: *in vitro* blood-brain barrier models for drug delivery studies. *Ann Biomed Eng.*, 2010, 38 (8), 2499 – 2511.
- Lippmann, E. S., Azarin, S. M., Kay, J. E., Nessler, R. A., Wilson, H. K., Al-Ahmad, A., Palecek, S. P., Shusta, E. V.: Derivation of blood-brain barrier endothelial cells from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol.*, 2012, 30 (8), 783 – 791.
- Liu, H., Wei, J. Y., Li, Y., Ban, M., Sun, Q., Wang, H. J., Zhao, D., Tong, P. G., Wang, L., Wang, K. J., Yue, J. L., Zhang, H. Y., Fang, W. G., Liu, D. X., Shang, D. S., Li, B., Jin, Y. P., Cao, L., Zhao, W. D., Chen, Y. H.: Endothelial depletion of Atg7 triggers astrocyte-microvascular disassociation at blood-brain barrier. *Journal of Cell Biology.*, 2023, 222 (5).
- Maherally, Z., Fillmore, H. L., Tan, S. L., Tan, S. F., Jassam, S. A., Quack, F. I., Hatherell, K. E., Pilkington, G. J.: Real-time acquisition of transendothelial electrical resistance in an all-human, *in vitro*, 3-dimensional, blood-brain barrier model exemplifies tight-junction integrity. *FASEB J.*, 2018, 32 (1), 168 – 182.
- Malik, J. R., Fletcher, C. V., Podany, A. T., Dyavar, S. R., Scarsi, K. K., Pais, G. M., Scheetz, M. H., Avedissian, S. N.: A novel 4-cell *in-vitro* blood-brain barrier model and its characterization by confocal microscopy and TEER measurement. *J Neurosci Methods.*, 2023, 392, 109867.
- Martinez, J. R., Dhawan, A., Farach-Carson, M. C.: Modular Proteoglycan Perlecan/HSPG2: Mutations, Phenotypes, and Functions. *Genes (Basel).*, 2018, 9 (11).
- Martino, M. M., & Hubbell, J. A.: The 12th – 14th type III repeats of fibronectin function as a highly promiscuous growth factor-binding domain. *FASEB J.*, 2010, 24 (12), 4711 – 4721.
- McKee, K. K., Harrison, D., Capizzi, S., Yurchenco, P. D.: Role of laminin terminal globular domains in basement membrane assembly. *J Biol*

*Chem.*, 2007, 282 (29), 21437 – 21447.

Mettouchi, A., Klein, S., Guo, W., Lopez-Lago, M., Lemichez, E., Westwick, J. K., Giancotti, F. G.: Integrin-specific activation of Rac controls progression through the G (1) phase of the cell cycle. *Mol Cell.*, 2001, 8 (1), 115 – 127.

Milner, R., Campbell, I. L.: Developmental regulation of beta1 integrins during angiogenesis in the central nervous system. *Mol Cell Neurosci.*, 2002, 20 (4), 616 – 626.

Miner, J. H., Cunningham, J., Sanes, J. R.: Roles for laminin in embryogenesis: Exencephaly, syndactyly, and placentopathy in mice lacking the laminin  $\alpha 5$  chain. *Journal of Cell Biology.*, 1998, 143 (6), 1713 – 1723.

Miosge, N., Sasaki, T., Timpl, R.: Evidence of nidogen-2 compensation for nidogen-1 deficiency in transgenic mice. *Matrix Biol.*, 2002, 21 (7), 611 – 621.

Miyazaki, T., Futaki, S., Suemori, H., Taniguchi, Y., Yamada, M., Kawasaki, M., Hayashi, M., Kumagai, H., Nakatsuji, N., Sekiguchi, K., Kawase, E.: Laminin E8 fragments support efficient adhesion and expansion of dissociated human pluripotent stem cells. *Nat Commun.*, 2012, 3, 1236.

Motallebnejad, P., Azarin, S. M.: Chemically defined human vascular laminins for biologically relevant culture of hiPSC-derived brain microvascular endothelial cells. *Fluids Barriers CNS.*, 2020, 17 (1), 54.

Murshed, M., Smyth, N., Miosge, N., Karolat, J., Krieg, T., Paulsson, M., Nischt, R.: The absence of nidogen 1 does not affect murine basement membrane formation. *Mol Cell Biol.*, 2000, 20 (18), 7007 – 7012.

Nakamura, K., Ikeuchi, T., Nara, K., Rhodes, C. S., Zhang, P., Chiba, Y., Kazuno, S., Miura, Y., Ago, T., Arikawa-Hirasawa, E., Mukoyama, Y. S., Yamada, Y.: Perlecan regulates pericyte dynamics in the maintenance and repair of the blood-brain barrier. *Journal of Cell Biology.*, 2019, 218 (10), 3506 – 3525.

Navone, S. E., Marfia, G., Invernici, G., Cris-

tini, S., Nava, S., Balbi, S., Sangiorgi, S., Ciusani, E., Bosutti, A., Alessandri, G., Slevin, M., Parati, E. A.: Isolation and expansion of human and mouse brain microvascular endothelial cells. *Nat Protoc.*, 2013, 8 (9), 1680 – 1693.

Perez-Lopez, A., Torres-Suarez, A. I., Martin-Sabroso, C., Aparicio-Blanco, J.: An overview of in vitro 3D models of the blood-brain barrier as a tool to predict the *in vivo* permeability of nanomedicines. *Adv Drug Deliv Rev.*, 2023, 196, 114816.

Petrovskaya, A. V., Barykin, E. P., Tverskoi, A. M., Varshavskaya, K. B., Mitkevich, V. A., Petrushanko, I. Y., Makarov, A. A.: Blood-Brain Barrier Transwell Modeling. *Mol Biol (Mosk)*, 2022, 56 (6), 1086 – 1094.

Pöschl, E., Schlötzer-Schrehardt, U., Brachvogel, B., Saito, K., Ninomiya, Y., Mayer, U.: Collagen IV is essential for basement membrane stability but dispensable for initiation of its assembly during early development. *Development.*, 2004, 131 (7), 1619 – 1628.

Prabhakarapandian, B., Shen, M. C., Nichols, J. B., Mills, I. R., Sidoryk-Wegrzynowicz, M., Aschner, M., Pant, K.: SyM-BBB: a microfluidic Blood Brain Barrier model. *Lab Chip.*, 2013, 13 (6), 1093 – 1101.

Proctor, R. A.: Fibronectin: a brief overview of its structure, function, and physiology. *Rev Infect Dis.*, 1987, 9, 317 – 321.

Rascher, G., Fischmann, A., Kroger, S., Duffner, F., Grote, E. H., Wolburg, H.: Extracellular matrix and the blood-brain barrier in glioblastoma multiforme: spatial segregation of tenascin and agrin. *Acta Neuropathol.*, 2002, 104 (1), 85 – 91.

Rauch, S. M., Huen, K., Miller, M. C., Chaudry, H., Lau, M., Sanes, J. R., Johanson, C. E., Stopa, E. G., Burgess, R. W.: Changes in brain beta-amyloid deposition and aquaporin 4 levels in response to altered agrin expression in mice. *J Neuropathol Exp Neurol.*, 2011, 70 (12), 1124 – 1137.

Roberts, J., Kahle, M. P., Bix, G. J.: Perlecan and the blood-brain barrier: beneficial proteolysis? *Front Pharmacol.*, 2012, 3, 155.

- Ruck, T., Bittner, S., Epping, L., Herrmann, A. M., Meuth, S. G.: Isolation of primary murine brain microvascular endothelial cells. *J Vis Exp.*, 2014, (93), e52204.
- Schneider, H., Errede, M., Ulrich, N. H., Virgintino, D., Frei, K., Bertalanffy, H.: Impairment of tight junctions and glucose transport in endothelial cells of human cerebral *cavernous malformations*. *J Neuropathol Exp Neurol.*, 2011, 70 (6), 417 – 429.
- Schwefel, K., Spiegler, S., Kirchmaier, B. C., Dellweg, P. K. E., Much, C. D., Pane-Farre, J., Strom, T. M., Riedel, K., Felbor, U., Rath, M.: Fibronectin rescues aberrant phenotype of endothelial cells lacking either CCM1, CCM2 or CCM3. *FASEB J.*, 2020, 34 (7), 9018 – 033.
- Simoes Da Gama, C., Morin-Brureau, M.: Study of BBB Dysregulation in Neuropathogenicity Using Integrative Human Model of Blood-Brain Barrier. *Front Cell Neurosci.*, 2022, 16, 863836.
- Smyth, N., Vatansever, H. S., Murray, P., Meyer, M., Frie, C., Paulsson, M., Edgar, D.: Absence of basement membranes after targeting the LAMC1 gene results in embryonic lethality due to failure of endoderm differentiation. *Journal of Cell Biology.*, 1999, 144 (1), 151 – 160.
- Soliman, Y., Al-Khodori, J., Yildirim Koken, G., Mustafaoglu, N.: A guide for blood-brain barrier models. *FEBS Lett.*, 2025, 599 (5), 599 – 644.
- Song, L., Pachter, J. S.: Culture of murine brain microvascular endothelial cells that maintain expression and cytoskeletal association of tight junction-associated proteins. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.*, 2003, 39 (7), 313 – 320.
- Steiner, E., Enzmann, G. U., Lyck, R., Lin, S., Ruegg, M. A., Kroger, S., Engelhardt, B.: The heparan sulfate proteoglycan agrin contributes to barrier properties of mouse brain endothelial cells by stabilizing adherens junctions. *Cell Tissue Res.*, 2014, 358 (2), 465 – 479.
- Sweeney, M. D., Ayyadurai, S., Zlokovic, B. V.: Pericytes of the neurovascular unit: key functions and signaling pathways. *Nat Neurosci.*, 2016, 19 (6), 771 – 783.
- Tajes, M., Ramos-Fernandez, E., Weng-Jiang, X., Bosch-Morato, M., Guivernau, B., Eraso-Pichot, A., Salvador, B., Fernandez-Busquets, X., Roquer, J., Munoz, F. J.: The blood-brain barrier: structure, function and therapeutic approaches to cross it. *Mol Membr Biol.*, 2014, 31 (5), 152 – 167.
- Theocharis, A. D., Skandalis, S. S., Gialeli, C., Karamanos, N. K.: Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev.*, 2016, 97, 4 – 27.
- Thomsen, M. S., Birkelund, S., Burkhart, A., Stensballe, A., Moos, T.: Synthesis and deposition of basement membrane proteins by primary brain capillary endothelial cells in a murine model of the blood-brain barrier. *J Neurochem.*, 2017, 140 (5), 741 – 754.
- Thomsen, M. S., Routhe, L. J., Moos, T.: The vascular basement membrane in the healthy and pathological brain. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 2017, 37 (10), 3300 – 3317.
- Thyboll, J., Kortessmaa, J., Cao, R., Soininen, R., Wang, L., Iivanainen, A., Sorokin, L., Risling, M., Cao, Y., Tryggvason, K.: Deletion of the laminin alpha4 chain leads to impaired microvessel maturation. *Mol Cell Biol.*, 2002, 22 (4), 1194 – 1202.
- Tilling, T., Engelbertz, C., Decker, S., Korte, D., Huwel, S., Galla, H. J.: Expression and adhesive properties of basement membrane proteins in cerebral capillary endothelial cell cultures. *Cell Tissue Res.*, 2002, 310 (1), 19 – 29.
- Tilling, T., Korte, D., Hoheisel, D., Galla, H. J.: Basement membrane proteins influence brain capillary endothelial barrier function in vitro. *J Neurochem.*, 1998, 71 (3), 1151 – 1157.
- Topfer, U., Holz, A.: Nidogen in development and disease. *Front Cell Dev Biol.*, 2024, 12, 1380542.
- Toyoda, K., Tanaka, K., Nakagawa, S., Thuy, D. H., Ujifuku, K., Kamada, K., Hayashi, K., Matsuo, T., Nagata, I., Niwa, M.: Initial contact of glioblastoma cells with existing normal brain endothelial cells strengthen the barrier function via fibroblast growth factor 2 secretion: a new in vitro blood-brain barrier model. *Cell Mol Neurobiol.*, 2013, 33 (4), 489 – 501.

- Uriel, S., Labay, E., Francis-Sedlak, M., Moya, M. L., Weichselbaum, R. R., Ervin, N., Cankova, Z., Brey, E. M.: Extraction and assembly of tissue-derived gels for cell culture and tissue engineering. *Tissue Eng Part C Methods.*, 2009, 15 (3), 309 – 321.
- van Schaik, P. E. M., Zuhorn, I. S., Baron, W.: Targeting Fibronectin to Overcome Remyelination Failure in Multiple Sclerosis: The Need for Brain- and Lesion-Targeted Drug Delivery. *Int J Mol Sci.*, 2022, 23 (15).
- Varatharaj, A., Galea, I.: The blood-brain barrier in systemic inflammation. *Brain Behav Immun.*, 2017, 60, 1 – 12.
- Wang, J., Milner, R.: Fibronectin promotes brain capillary endothelial cell survival and proliferation through  $\alpha 5 \beta 1$  and  $\alpha v \beta 3$  integrins via MAP kinase signalling. *J Neurochem.*, 2006, 96 (1), 148 – 159.
- Wang, S., Voisin, M. B., Larbi, K. Y., Dangerfield, J., Scheiermann, C., Tran, M., Maxwell, P. H., Sorokin, L., Nourshargh, S.: Venular basement membranes contain specific matrix protein low expression regions that act as exit points for emigrating neutrophils. *J Exp Med.*, 2006, 203 (6), 1519 – 1532.
- Wei, S. S., Chen, L., Yang, F. Y., Wang, S. Q., Wang, P.: The role of fibronectin in multiple sclerosis and the effect of drug delivery across the blood-brain barrier. *Neural Regeneration Research.*, 2023, 18 (10), 2147 – 2155.
- Winzen, U., Cole, G. J., Halfter, W.: Agrin is a chimeric proteoglycan with the attachment sites for heparan sulfate/chondroitin sulfate located in two multiple serine-glycine clusters. *J Biol Chem.*, 2003, 278 (32), 30106 – 30114.
- Wu, C., Ivars, F., Anderson, P., Hallmann, R., Vestweber, D., Nilsson, P., Robenek, H., Tryggvason, K., Song, J., Korpos, E., Loser, K., Beissert, S., Georges-Labouesse, E., Sorokin, L. M.: Endothelial basement membrane laminin  $\alpha 5$  selectively inhibits T lymphocyte extravasation into the brain. *Nat Med.*, 2009, 15 (5), 519 – 527.
- Xie, Y., Ye, L., Zhang, X., Cui, W., Lou, J., Nagai, T., Hou, X.: Transport of nerve growth factor encapsulated into liposomes across the blood-brain barrier: in vitro and in vivo studies. *J Control Release.*, 2005, 105 (1-2), 106 – 119.
- Xu, L., Nirwane, A., Yao, Y.: Basement membrane and blood-brain barrier. *Stroke Vasc Neurol.*, 2019, 4 (2), 78 – 82.
- Yurchenco, P. D., Schittny, J. C.: Molecular Architecture of Basement-Membranes. *Faseb Journal.*, 1990, 4 (6), 1577 – 1590.
- Zhou, S., Chen, S., Pei, Y. A., Pei, M.: Nidogen: A matrix protein with potential roles in musculoskeletal tissue regeneration. *Genes Dis.*, 2022, 9 (3), 598 – 609.



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

# INDOLY AKO PRIVILEGOVANÁ ŠTRUKTÚRA V ONKOFARMAKOLOGII: EXPERIMENTÁLNE HODNOTENIE NOVÝCH DERIVÁTOV S REDOXNE ZÁVISLÝM CYTOTOXICKÝM ÚČINKOM

## INDOLES AS A PRIVILEGED SCAFFOLD IN ONCOPHARMACOLOGY: EXPERIMENTAL EVALUATION OF NOVEL DERIVATIVES WITH REDOX-DEPENDENT CYTOTOXIC ACTIVITY

Miškufová, Viktória<sup>1\*</sup>; Zigová, Martina<sup>1</sup>; Budovská, Mariana<sup>2</sup>; Mojžiš, Ján<sup>1</sup>; Kudličková, Zuzana<sup>2</sup>; Vilková, Mária<sup>2</sup>; Michalková, Radka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice; <sup>2</sup>Ústav chemických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice, Slovenská republika

### OPEN ACCESS

\*Korešpondenčný autor: [radka.michalkova@uvlf.sk](mailto:radka.michalkova@uvlf.sk)

**Citovanie:** Miškufová, V., Zigová, M., Budovská, M., Mojžiš, J., Kudličková, Z., Vilková, M., Michalková, R.: Indoly ako privilegovaná štruktúra v onkofarmakológii: experimentálne hodnotenie nových derivátov s redoxne závislým cytotoxickým účinkom. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (2), 75 – 85.

**Prijaté:** 12.08.2026

**Akceptované:** 21.09.2026

**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Miškufová, V., Zigová, M., Budovská, M., Mojžiš, J., Kudličková, Z., Vilková, M., Michalková, R. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**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.

### ABSTRAKT

Predkladaná práca sa zaoberá hodnotením protinádorového potenciálu indolových derivátov 1-metoxyzobrassinínu (MB-591) a (2E)-1-(2-fluórfenyl)-3-(1-metoxy-1H-indol-3-yl)prop-2-én-1-ónu (ZK-CH-11a) v bunkovom modeli karcinó-

mu krčka maternice HeLa so zameraním na ich cytotoxickú aktivitu, selektivitu a možné mechanizmy účinku. Obe zlúčeniny indukovali koncentračne závislý pokles viability HeLa buniek s hodnotami IC<sub>50</sub> 8,42 μM pre MB-591 a 11,26 μM pre ZK-CH-11a a súčasne vykazovali priaznivejšiu selektivitu voči nádorovým bunkám v porovnaní s doxorubicínom, cisplatinou a chlorochínom. Významná redukcia cytotoxického účinku oboch zlúčenín v prítomnosti N-acetylcysteínu poukazuje na možnú účasť redoxných mechanizmov v ich biologickom pôsobení, zatiaľ čo modulácia cytotoxicity chlorochínom naznačuje zapojenie autofagicko-lyzozomálnych procesov. Kombinované pôsobenie MB-591 a ZK-CH-11a s doxorubicínom alebo cisplatinou nevedlo k významnému zvýšeniu cytotoxicity oproti samostatne aplikovaným cytostatikám, čo nepodporuje jednoznačný synergický charakter týchto interakcií. Výsledky identifikujú MB-591 a ZK-CH-11a ako perspektívne indolové deriváty s cytotoxickou aktivitou a priaznivou predbežnou selektivitou a zároveň pouka-

zujú na redoxnú homeostázu a autofagicko-lyzozomálny systém ako potenciálne determinanty ich účinku.

**Kľúčové slová:** autofágia; cytotoxicita; indolové deriváty; karcinóm krčka maternice; redoxná homeostáza

## ABSTRACT

The present study evaluates the anticancer potential of the indole derivatives 1-methoxyisobassinin (MB-591) and (2E)-1-(2-fluorophenyl)-3-(1-methoxy-1H-indol-3-yl)prop-2-en-1-one (ZK-CH-11a) in the HeLa cervical cancer cell model, focusing on their cytotoxic activity, selectivity, and potential mechanisms of action. Both compounds induced a concentration-dependent decrease in HeLa cell viability, with  $IC_{50}$  values of 8.42  $\mu$ M for MB-591 and 11.26  $\mu$ M for ZK-CH-11a, and exhibited more favorable selectivity toward cancer cells compared with doxorubicin, cisplatin, and chloroquine. The significant attenuation of the cytotoxic effects of both compounds in the presence of N-acetylcysteine suggests the possible involvement of redox-related mechanisms in their biological activity, while modulation of cytotoxicity by chloroquine indicates a potential role of autophagic-lysosomal processes. Combined treatment with MB-591 or ZK-CH-11a and doxorubicin or cisplatin did not result in a statistically significant increase in cytotoxicity compared with the cytostatic agents administered alone, providing no conclusive evidence of synergistic interactions. These findings identify MB-591 and ZK-CH-11a as promising indole derivatives with cytotoxic activity and favorable preliminary selectivity, while highlighting redox homeostasis and the autophagic-lysosomal system as potential determinants of their effects.

**Key words:** autophagy; cervical cancer; cytotoxicity; indole derivatives; redox homeostasis

## ÚVOD

Nádorové ochorenia patria medzi hlavné príčiny morbidity a mortality na celom svete. Napriek významnému pokroku v diagnostike a terapii, ako aj rastúcemu počtu dostupných protinádorových liečiv, zostáva liečba mnohých malignít limitovaná heterogenitou nádorových buniek, komplexnosťou nádorového mikroprostredia, systémovou toxicitou liečby a vznikom rezistencie. Predpokladá sa, že počet úmrtí súvisiacich s nádorovými ochoreniami bude v nasledujúcich rokoch naďalej narastať, čo zdôrazňuje potrebu identifikácie nových terapeutických cieľov a vývoja účinnejších protinádorových látok (Wan et al., 2019).

Medzi chemické štruktúry, ktoré v posledných desaťročiach priťahujú značnú pozornosť medicínskej chémie a onkofarmakológie, patrí indolový skelet. Indol predstavuje bicyklickú heterocyklickú zlúčeninu pozostávajúcu z benzénového a pyrolového kruhu a patrí medzi najčastejšie sa vyskytujúce štruktúrne motívy v prírodných aj syntetických bioaktívnych zlúčeninách. Jeho význam vo farmaceutickom výskume potvrdzuje prítomnosť indolového jadra vo viac ako 40 FDA-schválených liečivách, ktorých terapeutické využitie zahŕňa onkológiu, neurológiu, gastroenterológiu, infekčné aj kardiovaskulárne ochorenia. V oblasti onkológie sa indolový skelet nachádza v mnohých klinicky etablovaných chemoterapeutikách a cielených terapiách, čo poukazuje na jeho mimoriadny farmakologický potenciál (Dadashpour and Emami, 2018; Sridhar et al., 2024; Zeng et al., 2024).

Medzi najvýznamnejšie klinicky využívané indolové cytostatiká patria prirodzene sa vyskytujúce alkaloidy izolované z *Catharanthus roseus* (*Vinca rosea*), známe ako vinca alkaloidy (vinkristín, vinblastín, vinnorelbín). Tieto zlúčeniny vykazujú širokospektrálnu antineoplastickú aktivitu sprostredkovanú najmä inhibíciou tubulínovej polymerizácie, následnou mitotickou blokádou, inhibíciou angiogenézy a indukciou apoptotickej bunkovej smrti. V klinickej praxi sa využívajú najmä v terapii Hodgkinovho a non-Hodgkinovho lymfómu, neuroblastómu, ako aj karcinómov

semenníkov a prsníka (Hassan et al., 2024).

V posledných rokoch bolo do klinickej praxe zavedených viacero indolových derivátov vrátane sunitinibu, ktorý sa používa pri liečbe gastrointestinálnych stromálnych tumorov rezistentných na imatinib, pokročilého renálneho karcinómu a niektorých neuroendokrinných nádorov pankreasu. Medzi ďalšie klinicky využívané indolové deriváty patria nintedanib, osimertinib, alectinib, anlotinib a panobinostat, ktorých mechanizmus účinku zahŕňa moduláciu signálnych dráh regulujúcich proliferáciu, angiogénu a prežívanie nádorových buniek (Russo et al., 2023).

Experimentálne štúdie ukázali, že protinádorová aktivita indolových zlúčenín je sprostredkovaná viacerými mechanizmami účinku. Medzi najčastejšie patrí indukcia apoptózy prostredníctvom mitochondriálnej dráhy, aktivácia kaspázovej kaskády, modulácia exprese proteínov rodiny Bcl-2, ako aj narušenie mitochondriálneho membránového potenciálu (Tischlerova a kol., 2017; Qin et al., 2022; Yan et al., 2016; Zheng et al., 2025). Mnohé indolové deriváty sú zároveň schopné ovplyvňovať progresiu bunkového cyklu reguláciou cyklínov a cyklín-dependentných kináz, indukovať produkciu reaktívnych foriem kyslíka (ROS) a zasahovať do signálnych dráh PI3K/Akt/mTOR, STAT3 alebo MAPK (Ahmad et al., 2013). V posledných rokoch sa pozornosť sústreďuje aj na ich schopnosť modulovať autofágiu, ferroptózu a ďalšie formy regulovanej bunkovej smrti (Fan et al., 2023).

Významnú časť protinádorového výskumu predstavujú prírodné produkty a ich syntetické deriváty. Prírodné zlúčeniny dlhodobo slúžia ako zdroj nových farmakologicky aktívnych látok a významne prispeli k vývoju moderných protinádorových liečiv. Viac ako 60 % FDA-schválených antineoplastických liečiv pochádza priamo z prírodných produktov alebo bolo vyvinutých na základe ich štruktúrnych motívov (Qin et al., 2022).

Mimoriadne zaujímavú skupinu predstavujú indolové fytoalexíny, prirodzene sa vyskytujúce sekundárne metabolity kapustovitých rastlín (*Brassicaceae*), ktoré sú produkované ako súčasť obrannej odpovede

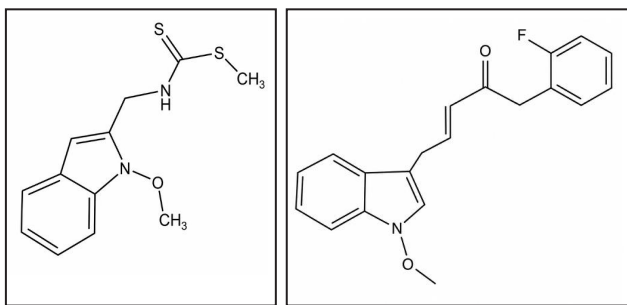
rastlín na biotický alebo abiotický stres (Ahmad et al., 2013). Medzi najviac skúmané zlúčeniny patrí brassinín a jeho deriváty, pri ktorých bola opakovane preukázaná schopnosť inhibovať proliferáciu nádorových buniek, indukovať apoptózu, narušovať redoxnú homeostázu a modulovať viaceré signálne dráhy spojené s nádorovou progresiou (Zigová a kol., 2024; Hong et al., 2021; Kello a kol., 2014; Wen et al., 2025). Zároveň narastá počet štúdií poukazujúcich na potenciálnu synergickú interakciu indolových fytoalexínov s konvenčnými chemoterapeutikami, ktorá by mohla prispieť k zvýšeniu terapeutickú účinnosti a prekonaniu mechanizmov liekovej rezistencie (Bakar-Ates and Ozkan, 2018; Yang et al., 2021; Park et al., 2021; Gu et al., 2022; Chripkova a kol., 2016; Budovská a kol., 2022).

Ďalšiu perspektívnu skupinu predstavujú indolové chalkóny, ktoré kombinujú biologicky aktívny indolový a chalkónový farmakofor v jednej molekule. Tieto zlúčeniny vykazujú výraznú cytotoxickú, antiproliferatívnu a proapoptotickú aktivitu voči širokému spektru nádorových buniek. Experimentálne práce ukázali, že ich účinok môže byť sprostredkovaný indukciou oxidačného stresu, poškodením mitochondriálnych funkcií, zastavením bunkového cyklu alebo inhibíciou polymerizácie tubulínu (Yan et al., 2022; Zhao et al., 2017; Mirzaei et al., 2017).

Počas posledných rokov bolo v rámci nášho výskumu pripravených a biologicky hodnotených množstvo syntetických derivátov indolových fytoalexínov a indolových chalkónov (Zigová a kol., 2024; Budovská a kol., 2023; Budovská a kol., 2022; Budovská a kol., 2022; Budovská a kol., 2025; Michalková kol., 2022).

Získané výsledky identifikovali fytoalexín 1-metoxyzobrasinín (MB-591) a indolový chalkón (2E)-1-(2-fluórfenyl)-3-(1-metoxi-1H-indol-3-yl)prop-2-én-1-ón (ZK-CH-11a) ako obzvlášť perspektívne zlúčeniny vykazujúce výraznú antiproliferatívnu a cytotoxickú aktivitu voči nádorovým bunkám, čo z nich robí zaujímavých kandidátov pre ďalší predklinický vývoj protinádorových liečiv. Na základe doterajších poznatkov sme sa v nadväzujúcej štúdii za-

**Obr. 1: Chemická štruktúra MB-591 (vľavo) a ZK-CH-11a (vpravo).**



merali na hodnotenie účinku MB-591 a ZK-CH-11a (Obr. 1) v kombinácii s konvenčnými cytostatikami, doxorubicínom a cisplatinou, ako aj s modulátormi bunkových procesov, N-acetyl-L-cysteínom (NAC) a chlorochínom (CQ). Cieľom bolo charakterizovať vzájomné pôsobenie testovaných zlúčenín s cytostatikami a zároveň bližšie objasniť možné zapojenie redoxnej homeostázy a autofagicko-lyzozomálnych procesov do ich cytotoxického účinku. Súčasťou hodnotenia bolo aj posúdenie cytotoxicity a selektivity testovaných zlúčenín voči nádorovým a nenádorovým bunkám.

## MATERIÁL A METÓDY

## Testované zlúčeniny

Predmetom experimentálneho hodnotenia boli indolové deriváty MB-591 a ZK-CH-11a. Syntetické postupy prípravy testovaných zlúčenín boli opísané v predchádzajúcich publikáciách, konkrétne 1-metoxyzobrassinínu (MB-591) v práci Budovská a kol. (2022) a (2E)-1-(2-fluórfenyl)-3-(1-metoxy-1H-indol-3-yl)prop-2-én-1-ónu (ZK-CH-11a) v práci Kudličková a kol. (2023). Následné *in vitro* experimenty sa realizovali na Ústave farmakológie Lekárskej fakulty Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach. Na prípravu zásobných roztokov boli testované zlúčeniny rozpustené v dimetylsulfoxide (DMSO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) a uchovávané pri teplote  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Pracovné roztoky požadovaných koncentrácií sa pripravovali následným riedením zásobných roztokov v kultivačnom médiu. Konečná koncentrácia DMSO v kultivačnom médiu nepresiahla

v žiadnom experimente 0,2 %, čím sa minimalizoval potenciálny vplyv rozpúšťadla na viabilitu buniek.

## Bunkové línie

Bunkové línie HeLa (ľudský adenokarcinóm krčka maternice) a BJ-5ta (ľudské dermálne fibroblasty) boli získané od American Type Culture Collection. HeLa bunky boli kultivované v rastovom médiu RPMI 1640 (Biosera, Kansas City, MO, USA) suplementovanom 10 % FBS (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) a 1×HyClone™ roztokom antibiotík/antimykotík (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA). BJ-5ta bunky sa kultivovali v médiu DMEM-M199 (4:1) obsahujúcom 10 % FBS a hygromycín B (0,01 mg/ml) (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA). Kultivácia prebiehala pri 37 °C v atmosfére s 5 % CO<sub>2</sub>. Životaschopnosť buniek bola pred každým experimentom overená pomocou trypanovej modrej a vo všetkých prípadoch bola vyššia ako 95 %.

### MTT test

Antiproliferatívny účinok zlúčenín MB-591 a ZK-CH-11a a stanovenie polovičnej inhibičnej koncentrácie ( $IC_{50}$ ) boli hodnotené pomocou kolorimetrického MTT testu [3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazóliumbromid] (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), ktorý je založený na redukcii žltého tetrazóliového MTT na fialové formazánové kryštály metabolicky aktívnymi bunkami, pričom množstvo vzniknutého formazánu koreluje s viabilitou buniek. Bunkové línie HeLa a BJ-5ta boli nasadené do 96-jamkových mikrotitračných platničiek (SARSTEDT, Nemecko) v hustote  $5 \times 10^3$  buniek na jamku v 80  $\mu$ L kultivačného média. Po 24-hodinovej inkubácii za štandardných kultivačných podmienok boli k bunkám pridané testované zlúčeniny MB-591 a ZK-CH-11a. Pre obe látky boli testované koncentrácie 1; 2; 5; 10; 20; 30 a 50  $\mu$ M. Bunky sa následne nechali inkubovať s látkou po dobu 72 hodín. Po ukončení expozície sa do každej jamky pridalo 10  $\mu$ L roztoku MTT (5 mg/mL) a bunky sa inkubovali 4 hodiny pri 37 °C, čím došlo k redukcii MTT na nerozpustný formazán. Následne sa do každej jamky pridalo 100  $\mu$ L 10 % roztoku do-

decylsulfátu sodného (SDS) a bunky sa inkubovali cez noc pri 37 °C, aby sa zabezpečilo úplné rozpustenie vzniknutých kryštálov formazánu. Metabolická aktivita buniek bola stanovená meraním absorbancie pri vlnovej dĺžke 540 nm pomocou prístroja Cytation™ 3 Cell Imaging Multi-Mode Reader (BioTek, Winooski, VT, USA), pričom každé meranie bolo realizované v troch nezávislých experimentoch a hodnoty IC<sub>50</sub> boli vypočítané metódou nelineárnej regresie. Selektivita účinku testovaných látok bola hodnotená na bunkovej línii BJ-5ta, ktorá bola kultivovaná za rovnakých podmienok. Ako negatívna kontrola bolo použité DMSO.

Okrem samotného cytotoxického účinku a selektivity týchto indolových derivátov sme analyzovali ich interakciu s konvenčnými cytostatikami (doxorubicínom a cisplatinou), ako aj modulátormi bunkovej smrti (chlorochínom a N-acetylcysteínom). Pre naše analýzy bola zvolená koncentrácia doxorubicínu 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,7; 1 a 2 µM a pre cisplatinu, chlorochín a N-acetylcysteín koncentrácie 1; 2; 5; 10; 20; 30 a 50 µM. Efekt týchto látok sme analyzovali samostatne ako aj v kombinácii s MB-591 a ZK-CH-11a v koncentráciách IC<sub>12,5</sub>, IC<sub>25</sub> a IC<sub>50</sub>.

### Štatistické spracovanie výsledkov

Všetky experimenty boli realizované v troch nezávislých opakovaníach a výsledky sú vyjadrené ako priemer ± smerodajná odchýlka (SD). Štatistická významnosť rozdielov medzi skupinami bola hodnotená jednofaktorovou analýzou rozptylu (one-way ANOVA) s následným post-hoc Tukeyho testom pre viacnásobné porovnania. Za štatisticky významné boli považované rozdiely s hodnotou  $p < 0,05$  (\*/# /+  $p < 0,05$ ; \*\*/###/++  $p < 0,01$ ; \*\*\*/####/+++  $p < 0,001$ ).

## VÝSLEDKY

Cytotoxický účinok zlúčenín MB-591 a ZK-CH-11a, ako aj ich selektivita voči nádorovým bunkám, boli hodnotené pomocou metabolického MTT testu. Obe testované zlúčeniny vykazovali koncentračne závislý pokles životaschopnosti buniek HeLa. Stano-

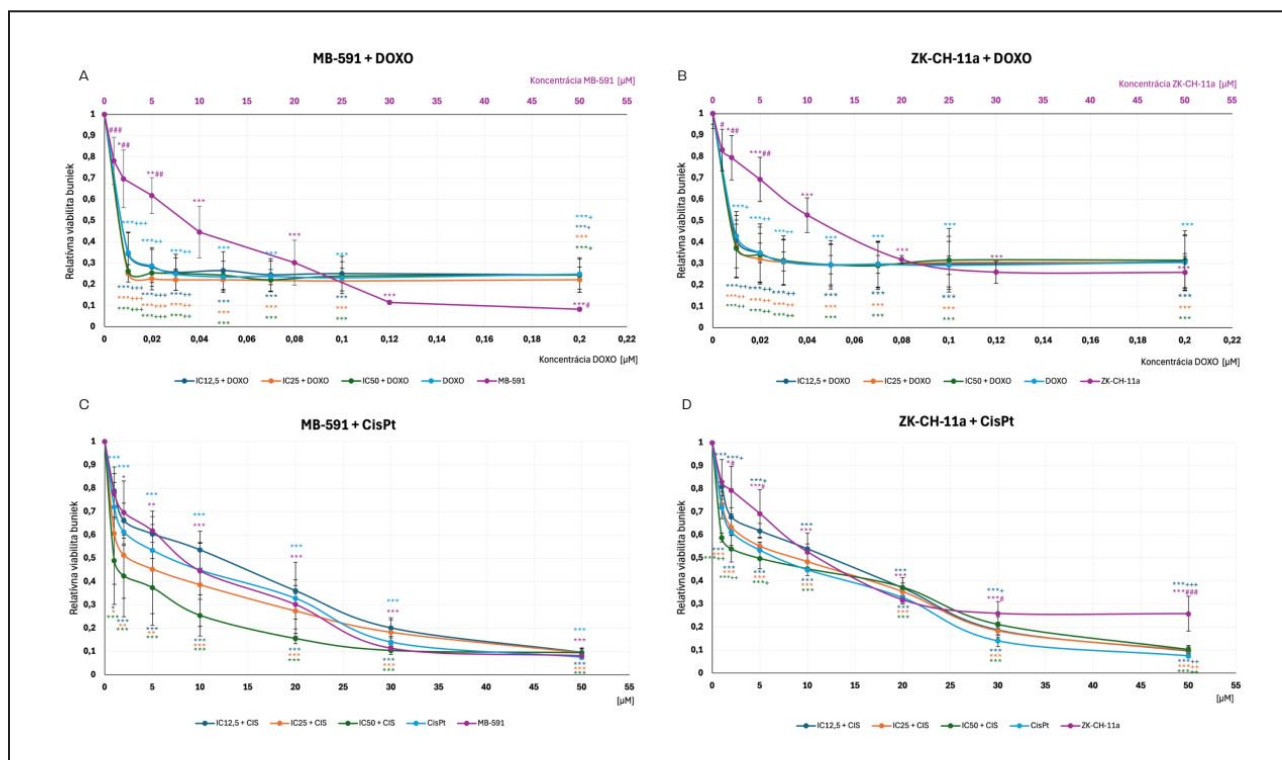
vená hodnota IC<sub>50</sub> pre zlúčeninu MB-591 predstavovala  $8,42 \pm 3,85$  µM, zatiaľ čo v prípade zlúčeniny ZK-CH-11a bola zaznamenaná hodnota IC<sub>50</sub>  $11,26 \pm 1,21$  µM (Tab. 1). Cytotoxická účinnosť testovaných zlúčenín bola porovnateľná s cisplatinou (IC<sub>50</sub> = 14,78 µM) a chlorochínom (IC<sub>50</sub> = 20,34 µM), zatiaľ čo v porovnaní s doxorubicínom (IC<sub>50</sub> = 0,45 µM) vykazovali obe zlúčeniny nižšiu účinnosť. Významným hodnoteným parametrom bola selektivita testovaných zlúčenín voči nádorovým bunkám, charakterizovaná indexom selektivity ( $SI = IC_{50} \text{ BJ-5ta} / IC_{50} \text{ HeLa}$ ). V prípade oboch zlúčenín boli na normálnych fibroblastoch BJ-5ta zaznamenané približne štvornásobne vyššie hodnoty IC<sub>50</sub> v porovnaní s nádorovými bunkami HeLa. Pre zlúčeninu MB-591 bola stanovená hodnota IC<sub>50</sub>  $35,21 \pm 5,22$  µM, čomu zodpovedal  $SI = 4,18$ , zatiaľ čo zlúčenina ZK-CH-11a dosiahla IC<sub>50</sub>  $41,71 \pm 0,13$  µM a  $SI = 3,70$ . Zistená selektivita bola priaznivejšia v porovnaní s cisplatinou ( $SI = 1,79$ ), chlorochínom ( $SI = 1,65$ ) aj doxorubicínu ( $SI = 2,64$ ). Tieto výsledky možno považovať za pozitívne, keďže poukazujú na preferenčný cytotoxický účinok oboch testovaných zlúčenín voči nádorovým bunkám HeLa pri súčasne nižšom cytotoxickom pôsobení na normálne fibroblasty BJ-5ta.

Na vyhodnotenie interakcie testovaných zlúčenín so štandardne používanými cytostatikami boli bunky HeLa inkubované s kombináciou testovanej látky vo fixných koncentráciách zodpovedajúcich hodnotám IC<sub>12,5</sub>, IC<sub>25</sub> a IC<sub>50</sub> a postupne sa zvyšujúcich koncentrácií doxorubicínu alebo cisplatin.

Inkubácia s doxorubicínom viedla už pri nízkych koncentráciách ku štatisticky významnému poklesu viability HeLa buniek oproti kontrole ( $p < 0,001$ ), pričom ďalším zvyšovaním koncentrácie už nedochádzalo k významnejšiemu poklesu viability. Porovnanie účinku kombinácie doxorubicínu s MB-591 alebo ZK-CH-11a sa približoval samotnému doxorubicínu (vs. DOXO:  $p > 0,05$ ; Obr. 2A, 2B).

V prípade cisplatin (CisPt) vykazovala látka MB-591 porovnateľný účinok ako samotné cytostatikum, pričom medzi účinkom CisPt, MB-591 a ich kombinácií neboli pri žiadnej zo sledovaných koncentrácií

**Obr. 2: Cytotoxický účinok testovaných zlúčenín MB-591 a ZK-CH-11a v kombinácii s doxorubicínom (DOXO) a cisplatinou (CisPt) na bunky HeLa.**



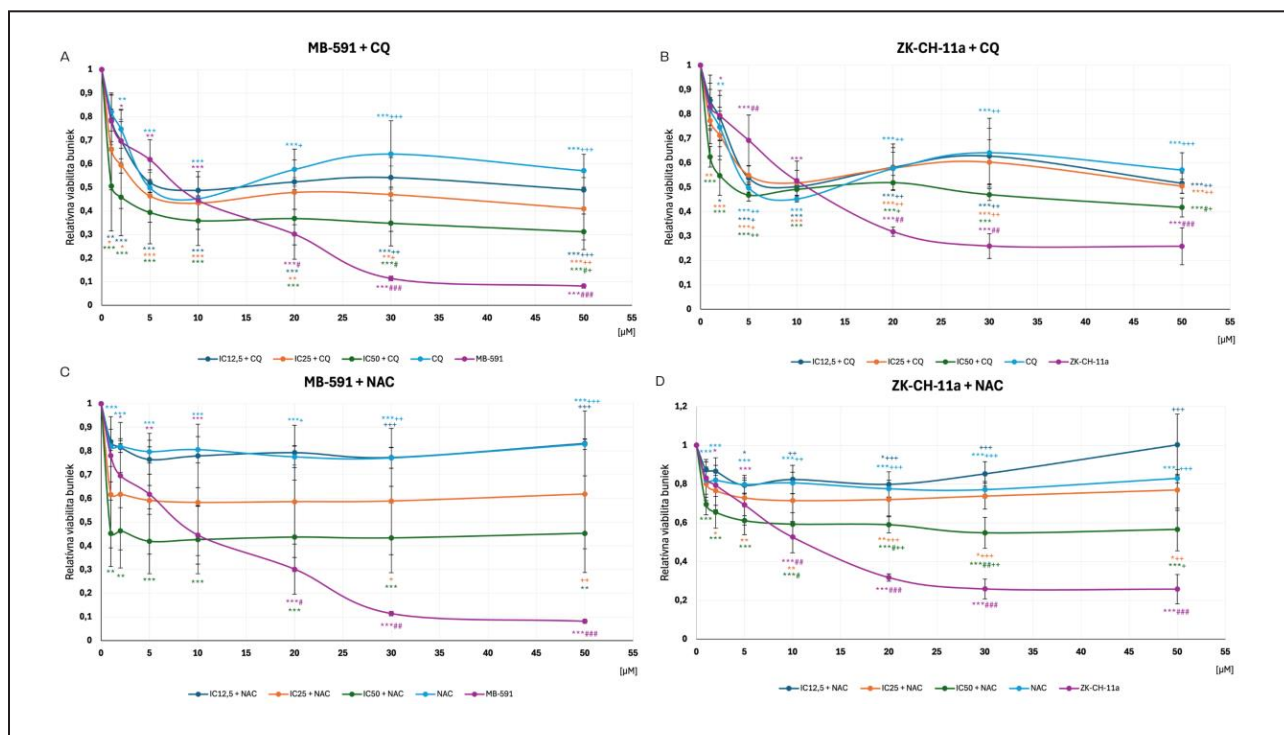
Znázornené sú kombinácie MB-591 + DOXO (A), ZK-CH-11a + DOXO (B), MB-591 + CisPt (C) a ZK-CH-11a + CisPt (D). Hodnoty relatívnej viability sú uvedené ako priemer  $\pm$  SD. Štatistická významnosť: \* vs. kontrola, # vs. príslušné cytostatikum, + vs. testovaná zlúčenina; \*/#/+  $p < 0,05$ , \*\*/##/++  $p < 0,01$ , \*\*\*/###/+++  $p < 0,001$ .

zaznamenané štatisticky významné rozdiely (Obr. 2C). Naopak, ZK-CH-11a vykazoval pri vyšších koncentráciách významne nižšiu účinnosť v porovnaní s CisPt ( $p > 0,05$ ; 0,001). Účinok kombinácií ZK-CH-11a s CisPt bol porovnateľný s účinkom samotného cytostatika, pričom pridanie ZK-CH-11a nevedlo k štatisticky významnému zvýšeniu cytotoxicity ( $p > 0,05$  vs. CisPt; Obr. 2D).

Obe testované látky výrazne viac znižovali viabilitu HeLa buniek oproti účinkom samotného chlorochínu (CQ). Kombinácia s CQ viedla pri oboch testovaných látkach k zmierneniu ich cytotoxického pôsobenia, čo sa prejavilo vyššou viabilitou buniek v porovnaní so samostatnou expozíciou MB-591 a ZK-CH-11a. Tento efekt bol výraznejší pri vyšších koncentráciách a vo viacerých prípadoch dosiahol štatistickú významnosť (Obr. 3A, 3B). Výsledky teda naznačujú, že CQ modifikuje odpoveď buniek na pôsobenie testovaných látok a čiastočne redukuje ich cytotoxický účinok.

Najvýraznejší efekt bol pri oboch testovaných zlúčeninách zaznamenaný v kombinácii s N-acetylcysteínom (NAC), ktorý pôsobí ako prekursor glutatiónu a významný antioxidant schopný eliminovať reaktívne formy kyslíka (ROS). Prítomnosť NAC zmiernovala pokles bunkovej viability vyvolaný pôsobením MB-591 aj ZK-CH-11a, pričom tento protektívny účinok bol výraznejší najmä pri vyšších koncentráciách testovaných látok a vo viacerých prípadoch dosahoval štatistickú významnosť (Obr. 3C, 3D). Podobný charakter odpovede pri oboch zlúčeninách naznačuje, že ich cytotoxické pôsobenie môže zahŕňať spoločný mechanizmus. Zníženie cytotoxicity v prítomnosti NAC zároveň podporuje predpoklad, že bunková smrť indukovaná MB-591 a ZK-CH-11a je aspoň čiastočne sprostredkovaná zvýšenou tvorbou ROS a následným oxidačným stresom.

**Obr. 3: Vplyv kombinácií testovaných zlúčenín MB-591 a ZK-CH-11a s modulátormi chlorochínom (CQ) a N-acetylcysteínom (NAC) na relatívnu viabilitu buniek HeLa.**



Znázornené sú kombinácie MB-591 + CQ (A), ZK-CH-11a + CQ (B), MB-591 + NAC (C) a ZK-CH-11a + NAC (D). Hodnoty sú uvedené ako priemer  $\pm$  SD. Štatistická významnosť: \* vs. kontrola, # vs. modulátor, + vs. testovaná zlúčenina; \*/#/+  $p < 0,05$ , \*\*/##/++  $p < 0,01$ , \*\*\*/###/+++  $p < 0,001$ .

## DISKUSIA

V predkladanej práci bol hodnotený cytotoxický účinok dvoch indolových zlúčenín, 1-metoxyzobras-sinínu (MB-591) a (2E)-1-(2-fluórfenyl)-3-(1-meto-xy-1H-indol-3-yl)prop-2-én-1-ónu (ZK-CH-11a), na bunkovej línii karcinómu krčka maternice HeLa. Sú-časne bol sledovaný účinok testovaných látok v kom-binácii s konvenčnými cytostatikami doxorubicínom a cisplatinou a s modulátormi bunkových procesov, chlorochínom (CQ) a N-acetylcysteínom (NAC). Obe zlúčeniny vykazovali koncentračne závislý pokles viability s hodnotami  $IC_{50}$  približne 8,42  $\mu$ M pre MB-591 a 11,26  $\mu$ M pre ZK-CH-11a, čo poukazuje na porovnateľnú cytotoxickú potenciou oboch látok.

V prípade MB-591 výsledky nadväzujú na naše predchádzajúce pozorovania, v ktorých bol 1-meto-xyzobras-sinín skúmaný na bunkách ovariálneho kar-cinómu A2780 a cisplatina-rezistentných A2780cis. MB-591 vykazoval antiproliferatívny účinok spre-vádzaný zmenami v regulácii bunkového cyklu,

apoptózy, autofágie a redoxnej homeostázy (Zigová a kol., 2024). Aktuálne výsledky na HeLa bunkách tak rozširujú poznatky o jeho biologickej aktivite na ďalší nádorový model.

Výsledky získané so ZK-CH-11a obdobne nad-väzujú na predchádzajúci výskum indolových chal-kónov nášho pracoviska. Michalková a kol. (2022) charakterizovali štruktúrne príbuzný derivát (2E )-1-(2-fluórfenyl)-3-(2-propoxy-1H - indol-3-yl)prop-2-én-1-ón indolchalkón (ZK-CH-11d), ktorý výraz-ne inhiboval proliferáciu buniek karcinómu prsníka pri minimálnom účinku na nenádorové bunky. Jeho účinok bol spojený so zástavou bunkového cyklu v G2/M fáze, mitochondriálnou apoptózou, poškodením DNA a moduláciou signálnych dráh. Tieto vý-sledky poskytujú vhodný mechanistický rámec pre štúdium ZK-CH-11a

Z translačného hľadiska je významným zistením priaznivá selektivita hodnotených zlúčenín. Index se-lektivity ( $SI = 3,70 - 4,18$ ) bol pri oboch zlúčeninách vyšší ako pri cisplatine (1,79), chlorochíne (1,65) aj

doxorubicíne (2,64). Klinické využitie konvenčných chemoterapeutík je často limitované ich nízkou selektivitou a toxicitou voči zdravým tkanivám, ktorá vedie k závažným nežiaducim účinkom a obmedzuje podávané dávky. Preferenčné pôsobenie testovaných zlúčenín na nádorové bunky pri nižšej cytotoxicite voči fibroblastom BJ-5ta preto predstavuje priaznivú vlastnosť podporujúcu ich ďalšie hodnotenie ako potenciálnych protinádorových látok (Elmorsy et al. 2024).

Výrazný mechanistický efekt bol pozorovaný pri kombinácii s N-acetylcysteínom (NAC), ktorý významne zmiernoval cytotoxicitu MB-591 aj ZK-CH-11a, najmä pri vyšších koncentráciách. NAC je prekursorom cysteínu potrebného na syntézu glutatiónu (GSH), jedného z hlavných intracelulárnych antioxidantov, a tým prispieva k udržiavaniu redoxnej homeostázy a ochrane buniek pred oxidačným stresom. Oxidačný stres sa podieľa aj na cytotoxicite viacerých konvenčných cytostatík vrátane doxorubicínu a cisplatiny, hoci nepredstavuje ich jediný ani primárny mechanizmus účinku (Zavala-Valencia et al., 2024; Doroshov et al., 2020). Ochranný účinok NAC pri MB-591 je v súlade s našimi predchádzajúcimi výsledkami, ktoré preukázali zvýšenú produkciu ROS po pôsobení MB-591 (Zigová a kol., 2024).

Podobná odpoveď ZK-CH-11a naznačuje, že redoxné procesy môžu byť významné aj pre jeho cytotoxicitu. Tento výsledok je dôležitý, pretože poukazuje na redoxnú homeostázu ako možný spoločný mechanizmus modulujúci účinok oboch zlúčenín. Samotný účinok NAC však nemožno považovať za definitívny dôkaz ROS-dependentnej cytotoxicity. Na potvrdenie úlohy ROS by preto bolo vhodné doplniť ich priame stanovenie a analýzu GSH/GSSG.

Výsledky s chlorochínom (CQ) naznačujú možné zapojenie autofagicko-lyzozomálneho systému do účinku MB-591 a ZK-CH-11a. Pri vyšších koncentráciách oboch látok bola v prítomnosti CQ pozorovaná vyššia viabilita buniek v porovnaní so samotným pôsobením testovaných látok, čo poukazuje na moduláciu ich cytotoxického účinku chlorochínom. Možné zapojenie autofágie pri MB-591 podpo-

rujú aj naše predchádzajúce výsledky, v ktorých boli pozorované zmeny procesov súvisiacich s autofágiou (Zigová a kol., 2024).

Pri príbuznom deriváte ZK-CH-11d bol naopak po pridaní CQ pozorovaný zvýšený cytotoxický účinok, čo poukazuje na rozdielnú odpoveď jednotlivých indolových derivátov na inhibíciu autofagicko-lyzozomálneho systému (Michalkova a kol., 2022). Presnú úlohu autofágie však nemožno určiť iba na základe viability a jej potvrdenie si vyžaduje hodnotenie autofagického toku.

Kombinácie s doxorubicínom a cisplatinou neprekročili cytotoxický účinok samotných cytostatík a naznačovali skôr aditívny než synergický charakter interakcie. Pri vyšších koncentráciách bol účinok kombinácií dominantne určovaný samotným cytostatikom.

Obe zlúčeniny, MB-591 a ZK-CH-11a, obsahujú spoločné 1-metoxindolové jadro, ale líšia sa bočnou funkčnou skupinou. MB-591 obsahuje ditiokarbamátovú skupinu, zatiaľ čo ZK-CH-11a patrí medzi chalkóny a obsahuje  $\alpha,\beta$ -nenасыtenú karbonylovú skupinu. Táto štruktúrna odlišnosť môže viesť k rozdielnemu spôsobu interakcie s bunkovými molekulami.

Ditiokarbamáty sú známe schopnosťou viazať ióny kovov, najmä meď, a ich komplexy môžu podporovať vznik reaktívnych foriem kyslíka (ROS). Zvýšená tvorba ROS následne naruša redoxnú rovnováhu bunky a môže prispievať k apoptóze a cytotoxicite. Podobný mechanizmus bol popísaný pri viacerých ditiokarbamátoch a ich komplexoch s meďou (Viola-Rhenals et al., 2018).

ZK-CH-11a obsahuje  $\alpha,\beta$ -nenасыtený karbonyl, ktorý je typickým Michaelovým akceptorom. Takéto skupiny môžu reagovať s nukleofilnými skupinami v bunke, predovšetkým s tiolmi cysteínu a glutatiónu (Jackson et al., 2016). Tým môže dôjsť k zníženiu množstva glutatiónu a k narušeniu antioxidantnej ochrany bunky, čo následne podporuje oxidačný stres a bunkovú smrť. V prípade ZK-CH-11a je tento mechanizmus zaujímavý aj vzhľadom na ochranný účinok NAC. Keďže NAC obsahuje nukleofilnú tio-

lovú skupinu, nemožno vylúčiť jeho priamu interakciu s elektrofilným  $\alpha,\beta$ -nenasýteným karbonylovým systémom ZK-CH-11a. Ochranný účinok NAC preto môže odrážať nielen moduláciu intracelulárneho redoxného prostredia, ale potenciálne aj priamu chemickú interakciu s testovanou zlúčeninou (Mlejnek, 2022; Kenari et al., 2021). Napriek rozdielnej chemickej povahe reaktívnych skupín môžu oba štruktúrne motívy prispievať k narušeniu intracelulárnej redoxnej homeostázy a indukcii oxidačného stresu, čo korešponduje s ochranným účinkom NAC pozorovaným pri oboch zlúčeninách.

## ZÁVER

Výsledky tejto práce poukazujú na protinádorový potenciál MB-591 a ZK-CH-11a a naznačujú významné zapojenie redoxných procesov, ako aj možnú účasť autofagicko-lyzozomálneho systému v mechanizme ich účinku. Práca tak rozširuje poznatky o biologickej aktivite MB-591 a ZK-CH-11a a podporuje ich ďalšie experimentálne hodnotenie ako potenciálnych protinádorových zlúčenín, predovšetkým so zameraním na objasnenie molekulových mechanizmov ich účinku a overenie protinádorovej aktivity v komplexnejších modelových systémoch.

## Konflikt záujmov

Autori pre túto štúdiu neudávajú konflikt záujmov.

## Použitie nástrojov umelej inteligencie

Autori nepoužili nástroje generatívnej umelej inteligencie.

## Príspevky autorov

Konceptualizácia :VM, RM; metodológia: VM, RM, syntéza testovaných látok: MB, ZK, MV; príprava článku: VM, RM; spracovanie údajov: VM, RM; spracovanie dát: VM, RM; príprava pôvodného rukopisu: VM; revízia textu: RM; vizualizácia: VM, RM; finančné prostriedky: VM, RM

## Financovanie

Práca vznikla s podporou grantu VVGS č. vvgs-2025-3644 a VEGA č. 1/0210/26

## Etické aspekty

Štúdia bola vykonaná v súlade so všetkými etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie.

## POĎAKOVANIE

*Radi by sme poďakovali Mgr. Martine Hájikovej za jej vynikajúcu technickú asistenciu.*

## ZOZNAM LITERATÚRY

Ahmad, A., Biersack B., Li, Y., Kong, D., Bao, B., Schobert, R., Padhye, S. B., Sarkar, F. H.: Targeted regulation of PI3K/Akt/mTOR/NF- $\kappa$ B signaling by indole compounds and their derivatives: mechanistic details and biological implications for cancer therapy. *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2013, 13(7):1002-13. DOI: 10.2174/18715206113139990078.

Budovská, M., Michalková, R., Mojžiš, J.: Indole phytoalexins-derived bis-indoles: Design, synthesis and *in vitro* antiproliferative evaluation. *Tetrahedron*, 2023, 143, 133573. DOI:10.1016/j.tet.2023.133573.

Budovská, M., Krochtová, K., Michalková, R., Mojžiš, J.: Aminoanalogues of isobrassinin, erucalexin and isocyclobassinin: Synthesis and evaluation of the antiproliferative and cytotoxic properties. *Tetrahedron*, 2022, 120, 132898. DOI:10.1016/j.tet.2022.132898.

Budovská, M., Očenášová, L., Očenáš, P., Michalková, R., Mojžiš, J.: Minilibrary of 6-bromo derivatives of indole phytoalexins: Synthesis, anticancer profile and structure-activity relationship (SAR) study. *Tetrahedron*, 2025, 171, 134432. DOI:10.1016/j.tet.2024.134432.

Budovská, M.; Michalková, R.; Kello, M.; Vaškova, J.; Mojžiš, J.: Design, Synthesis and Antiproliferative Evaluation of Bis-Indole Derivatives with a Phenyl Linker: Focus on Autophagy. *Molecu-*

les, 2023, 28, 251. DOI: 10.3390/molecules28010251.

Dadashpour, S., Emami, S.: Indole in the target-based design of anticancer agents: A versatile scaffold with diverse mechanisms. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 150, 9 – 29. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.02.065.

Doroshov, J. H., Esworthy, R. S., Chu, F.: Control of doxorubicin-induced, reactive oxygen-related apoptosis by glutathione peroxidase 1 in cardiac fibroblasts. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2020, 21, 100709. DOI:10.1016/j.bbrep.2019.100709.

Elmorsy, E. A. Saber, S., Hamad, R. S., Abdel-Reheim, M. A., El-Kott, A. F., Alshehri, M. A., Morsy, K., Salama, S. A., Youssef, M. E.: Advances in understanding cisplatin-induced toxicity: Molecular mechanisms and protective strategies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2024, 203, 106939. DOI:10.1016/j.ejps.2024.106939.

Fan, C., Li, M., Song, X., Luo, L., Jiang, J., Luo, J., Wang, H.: Discovery of novel 2-oximino-2-indolylacetamide derivatives as potent anticancer agents capable of inducing cell autophagy and ferroptosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2023, 80, 117176. DOI:10.1016/j.bmc.2023.117176.

Gu, Y., Becker, V., Qiu, M., Tang, T., Ampofo, E., Menger, M. D., Laschke, M. W.: Brassinin Promotes the Degradation of Tie2 and FGFR1 in Endothelial Cells and Inhibits Triple-Negative Breast Cancer Angiogenesis. *Cancers*, 2022, 14, 3540. DOI: 10.3390/cancers14143540.

Hassan, M., Shokrzadeh, M., Modanloo, M., Ziar, A., Riazzi, G. H., Emami, S.: New indole-based chalconoids as tubulin-targeting antiproliferative agents. *Bioorganic Chemistry*, 75, 2017, 86 – 98. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.09.005.

Hassan, S. M., Farid, A., Panda, S. S., Bekheit, M. S., Dinkins, H., Fayad, W., Girgis, A. S.: Indole Compounds in Oncology: Therapeutic Potential and Mechanistic Insights. *Pharmaceuticals*, 2024, 17, 922. DOI: 10.3390/ph17070922.

Hong, T., Ham, J., Song, J., Song, G., Lim, W.: Brassinin Inhibits Proliferation in Human Liver Cancer Cells via Mitochondrial Dysfunction. *Ce-*

*lls*, 2021, 10, 332. DOI: 10.3390/cells10020332.

Chripkova, M., Zigo, F., Mojžiš, J.: Antiproliferative Effect of Indole Phytoalexins. *Molecules*, 2016, 21, 1626. DOI: 10.3390/molecules21121626.

Jackson, P. A., Widen, J. C., Harki, D. A., Brummond, K. M.: Covalent Modifiers: A Chemical Perspective on the Reactivity of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Carbonyls with Thiols via Hetero-Michael Addition Reactions. *Journal of medicinal chemistry*, 2017, 60 (3), 839 – 885. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00788.

Kello, M., Drutovič, D., Chripkova, M., Pilátová, M., Budovská, M., Kulíková, L., Urdzik, P., Mojžiš, J.: ROS-Dependent Antiproliferative Effect of Brassinin Derivative Homobrassinin in Human Colorectal Cancer Caco2 Cells. *Molecules*, 2014, 19, 10877 – 10897. DOI: 10.3390/molecules190810877.

Kenari, F., Molnár, S., Perjési, P.: Reaction of Chalcones with Cellular Thiols. The Effect of the 4-Substitution of Chalcones and Protonation State of the Thiols on the Addition Process. Diastereoselective Thiol Addition. *Molecules*, 2021, 26, 4332. DOI: 10.3390/molecules26144332.

Kudličková, Z., Michalková, R., Salayová, A., Ksiažek, M., Vilková, M., Bekešová, S., Mojžiš, J.: Design, Synthesis, and Evaluation of Novel Indole Hybrid Chalcones and Their Antiproliferative and Antioxidant Activity. *Molecules*, 2023, 28 (18), 6583. DOI: 10.3390/molecules28186583.

Michalková, R., Kello, M., Kudličková, Z., Gazdova, M., Mirossay, L., Mojžišova, G., Mojžiš, J.: Programmed Cell Death Alterations Mediated by Synthetic Indole Chalcone Resulted in Cell Cycle Arrest, DNA Damage, Apoptosis and Signaling Pathway Modulations in Breast Cancer Model. *Pharmaceutics*, 2022, 14 (3), 503. DOI: 10.3390/pharmaceutics14030503.

Mlejnek, P.: Direct Interaction between N-Acetylcysteine and Cytotoxic Electrophile—An Overlooked *In Vitro* Mechanism of Protection. *Antioxidants*, 2022, 11, 1485. DOI: 10.3390/antiox11081485.

Park, W. Y., Park, J. E., Jung, J. H.: Apopto-

- tic Effect of Brassinin via Inhibition of CNOT2 and Activation of p53 and Its Combination Effect with Doxorubicin. *Applied Sciences*, 2021, 11, 10036. DOI: 10.3390/app112110036.
- Qin, R., You, F., Zhao, Q., Xie, X., Peng, C., Zhan, G., Han, B.: Naturally derived indole alkaloids targeting regulated cell death (RCD) for cancer therapy: from molecular mechanisms to potential therapeutic targets. *Journal of Hematology & Oncology*, 2022, 15, 133. DOI: 10.1186/s13045-022-01350-z.
- Russo, E., Grondona, C., Brullo, C., Spallarossa, A., Villa, C., Tasso, B.: Indole Antitumor Agents in Nanotechnology Formulations: An Overview. *Pharmaceutics*, 2023, 15 (7), 1815. DOI: 10.3390/pharmaceutics15071815.
- Sridhar, B. T., Yernale, N. G., Gani, R. S., Gupta, N., Ganachari, S. V., Mathada, B. S.: A concise review on recent development of indole derivatives for anticancer activities. *Journal of the Indian Chemical Society*, 2024, 101, 10, 101282. DOI:10.1016/j.jics.2024.101282.
- Tischlerova, V., Kello, M., Budovská, M., Mojžiš, J.: Indole phytoalexin derivatives induce mitochondrial-mediated apoptosis in human colorectal carcinoma cells. *World journal of gastroenterology*, 2017, 23 (24), 4341 – 4353. DOI: 10.3748/wjg.v23.i24.4341.
- Viola-Rhenals, M., Patel, K., Jaimes-Santamaria, L., Wu, G., Liu, J., Dou, Q.: Recent Advances in Antabuse (Disulfiram): The Importance of its Metal-binding Ability to its Anticancer Activity. *Current medicinal chemistry*, 2018, 25 (4), 506 – 524. DOI: 10.2174/0929867324666171023161121.
- Wan, Y., Li, Y., Yan, C., Yan, M., Tang, Z.: Indole: A privileged scaffold for the design of anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 183, 111691. DOI:10.1016/j.ejmech.2019.111691
- Wen, S.-Y., Gao, R.-R., Chen, Y.-Y., Wang, Y.-J., Wang, X.-T., Liu, H.-X.: Brassinin from *Brassica campestris* L. inhibits colorectal cancer by inducing p62/NRF2/GPX4-regulated ferroptosis. *Animal models and experimental medicine*, 2025, 8, 1155 – 1165. DOI:10.1002/ame2.12521.
- Yan, J., Xu, Y., Jin, X., Zhang, Q., Ouyang, F., Han, L., Zhan, M., Li, X., Liang, B., Huang, X.: Structure modification and biological evaluation of indole-chalcone derivatives as anti-tumor agents through dual targeting tubulin and TrxR. *European journal of medicinal chemistry*, 2022, 227, 113897. DOI:10.1016/j.ejmech.2021.113897.
- Zavala-Valencia, A. C., Velasco-Hidalgo, L., Martínez-Avalos, A., Castillejos-López, M., Torres-Espíndola, L. M.: Effect of N-Acetylcysteine on Cisplatin Toxicity: A Review of the Literature. *Biologics*, 2024, 18, 7 – 19. DOI: 10.2147/BTT.S438150.
- Zeng, W., Han, C., Mohammed, S., Li, S., Song, Y., Sun, F., Du, Y.: Indole-containing pharmaceuticals: targets, pharmacological activities, and SAR studies. *RSC medicinal chemistry*, 2024, 15 (3), 788 – 808. DOI: 10.1039/d3md00677h.
- Zhao, X., Dong, W., Gao, Y., Shin, D.-S., Ye, Q., Su, L., Jiang, F., Zhao, B., Miao, J.: Novel indolyl-chalcone derivatives inhibit A549 lung cancer cell growth through activating Nrf-2/HO-1 and inducing apoptosis in vitro and in vivo. *Scientific Reports*, 2017, 7, 3919. DOI: 10.1038/s41598-017-04411-3.
- Zheng, M., Liu, G., Han, Y., Qian, P., Wu, M., Xiang, M., Zhou, Y.: Synthesis, biological evaluation and mechanism study of a novel indole-pyridine chalcone derivative as antiproliferative agent against tumor cells through dual targeting tubulin and HK2. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2025, 282, 117058. DOI:10.1016/j.ejmech.2024.117058.
- Zigová, M., Michalková, R., Mojžiš, J.: Anticancer Potential of Indole Phytoalexins and Their Analogues. *Molecules*, 2024, 29, 2388. DOI: 10.3390/molecules29102388.
- Zigová, M., Mišková, V., Budovská, M., Michalková, R., Mojžiš, J.: Exploring the Antiproliferative and Modulatory Effects of 1-Methoxyisobassinin on Ovarian Cancer Cells: Insights into Cell Cycle Regulation, Apoptosis, Autophagy, and Its Interactions with NAC. *Molecules*, 2024, 29, 1773. DOI: 10.3390/molecules29081773.



## ORIGINAL ARTICLE

## INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CALCITRIOL IN RELATION TO ABCB1-MEDIATED DRUG RESISTANCE

**Homolya, Viktória<sup>1</sup>; Franko, Ondrej<sup>1</sup>; Čižmariková, Martina<sup>1\*</sup>; Kello, Martin<sup>1</sup>; Lešková, Beáta<sup>1</sup>; Gabzdilová, Juliana<sup>2</sup>; Homolya, Atila David<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Pavol Jozef Šafárik University, Košice; <sup>2</sup>Department of Hematology and Oncohematology, Louis Pasteur University Hospital, Faculty of Medicine, Pavol Jozef Šafárik University, Košice; <sup>3</sup>Department of Radiotherapy and Oncology, East Slovakia Institute of Oncology, Košice, Slovak Republic

 OPEN ACCESS

\*Correspondence: [martina.cizmarikova@upjs.sk](mailto:martina.cizmarikova@upjs.sk)

**Citation:** V., Franko, O.; Čižmariková, M., Kello, M., Lešková, B., Gabzdilová, J., Homolya, A. D.: Investigation of the effects of calcitriol in relation to ABCB1-mediated drug resistance. *Folia Pharmaceutica Cassoviensia*, 2026, 8 (3), 86 – 97.

**Received:** 13.08.2026

**Accepted:** 06.10.2026

**Published:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Homolya, V., Franko, O.; Čižmariková, M., Kello, M., Lešková, B., Gabzdilová, J., Homolya, A. D. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**Ethical considerations:** When reporting experiments on animals Observation of the ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research, published on July 14, 2020 (<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>), is required. The authors should ensure that all procedures were performed in compliance with the guidelines for animal care of their institutions or with national/international guidelines.

## ABSTRACT

ABCB1 transporter-mediated efflux contributes significantly to multidrug resistance in cancer, and natural compounds are being investigated as potential ABCB1 modulators. This study evaluated the effects of calcitriol on metabolic activity and adherent cell biomass of the ABCB1-overexpressing colorectal cancer cell line (COLO 320) using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay and crystal violet staining assay (CVA). Potential interac-

tions between calcitriol and ABCB1 were investigated using molecular docking, while its effects on ABCB1-associated activity were assessed using rhodamine 123 accumulation and ATPase assays. Calcitriol significantly reduced metabolic activity and the number of adherent COLO 320 cells, with inhibitory effects observed at concentrations of  $\geq 1 \mu\text{mol.l}^{-1}$  and  $\geq 15 \mu\text{mol.l}^{-1}$  in the MTT assay and in the CVA assay, respectively. The half-maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) values were  $17.08 \pm 4.61 \mu\text{mol.l}^{-1}$  and  $14.23 \pm 0.65 \mu\text{mol.l}^{-1}$ , respectively. Although molecular docking predicted a potential interaction between calcitriol and ABCB1 within the central binding cavity, the rhodamine 123 accumulation assay showed no effect on ABCB1-mediated efflux at non-toxic concentrations. In the ATPase assay, calcitriol did not stimulate ABCB1 ATPase activity but inhibited-verapamil stimulated ATP hydrolysis in a concentration-dependent manner, particularly at higher concentrations. These findings suggest an inhibitor-like interaction between calcitriol and ABCB1. However, the effects of calcitriol on efflux mechanisms may depend on the transported substrate and experimental model, and the precise biological significance of this interaction requires further investigation.

**Key words: ABCB1; ATPase activity; calcitriol; colorectal cancer; efflux; multidrug resistance**

## INTRODUCTION

Multidrug resistance (MDR) represents a major clinical challenge in cancer therapy. It is characterized by the ability of cancer cells to develop resistance to multiple chemotherapeutic agents administered simultaneously, thereby enabling them to evade treatment and reduce its effectiveness (Gottesman et al., 2016). One of the principal mechanisms underlying MDR is the overexpression of ATP-binding cassette (ABC) transporters, which actively efflux a broad range of anticancer drugs from cells, resulting in reduced intracellular drug accumulation (Bukowski et al., 2020). This transport process is driven by the hydrolysis of adenosine triphosphate (ATP), which provides the energy required for transporter activity (Wiese and Stefan, 2019).

Among ABC transporters, ABCB1 (P-glycoprotein) is considered one of the most important mediators of MDR. Under physiological conditions, ABCB1 is expressed in several tissues, including the intestine, liver, and kidneys, but it is also overexpressed in many malignancies, including colorectal cancer (Teng et al., 2016; Sajid et al., 2023).

Despite extensive research efforts, the clinical application of ABCB1 inhibitors has been largely unsuccessful due to their toxicity, low selectivity, and unfavorable pharmacokinetic properties (Goebel et al., 2021; Engle and Kumar, 2022). Consequently, current research has increasingly focused on natural bioactive compounds and their synthetic derivatives as potential modulators of ABCB1 and the MDR phenotype. Numerous natural compounds, including polyphenols, chalcones, and vitamin derivatives, have demonstrated the ability to influence ABCB1 function (Čižmariková et al., 2019; Attia et al., 2020; Franko et al., 2025).

Calcitriol, the biologically active form of vitamin D<sub>3</sub>, is known not only for its role in calcium homeostasis but also for its antiproliferative and proapop-

totic effects in cancer cells. Furthermore, calcitriol has been implicated in the modulation of tumor progression and in enhancing the efficacy of certain chemotherapeutic agents (Özgen et al., 2023). Given the broad substrate specificity of ABCB1, calcitriol has been proposed as a potential modulator of its transporter function. However, previous experimental studies have yielded conflicting results, ranging from inhibition (Tan et al., 2018; Attia et al., 2020) to induction of ABCB1 transport activity (Durk et al., 2015; Tan et al., 2018).

These contradictory findings suggest that the effects of calcitriol on ABCB1 remain insufficiently understood and may depend on the experimental model, concentration, exposure time and substrate used to assess ABCB1 activity. Our study was conducted to gain further insights into the effects of calcitriol in relation to ABCB1-mediated transport and other transporter-related mechanisms. In the initial phase, the effect of calcitriol on cellular viability of the ABCB1-overexpressing colorectal cancer cell line COLO 320 was evaluated using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay and the crystal violet staining assay (CVA). Subsequently, molecular docking was used to investigate the potential binding of calcitriol within the ABCB1 binding cavity, while rhodamine 123 accumulation test performed using flow cytometry and commercially available colorimetric ATPase assay were used to assess the effects of calcitriol on ABCB1-mediated transport and to characterize its interaction with ABCB1 by assessing the activation and inhibition of its ATPase activity, respectively.

## MATERIALS AND METHODS

### Tested compound

The experiments were performed using calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>; MedChemExpress, Monmouth Junction, NJ, USA), which was used as an analytical standard. The compound was stored at -20 °C and dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) prior to use.

The final DMSO concentration in experimental conditions did not exceed 0.1% and had no effect on cell viability.

### Cell line and culture conditions

The human colorectal cancer cell line (COLO 320), characterized by ABCB1 overexpression (Franko et al. 2025), was kindly provided by the Institute of Medical Microbiology, University of Szeged, Hungary.

The cells were cultured in RPMI 1640 medium (Biosera, Kansas City, MO, USA) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS; Gibco, Thermo Fischer Scientific, Rockford, IL, USA) and a mixture of antibiotics (penicillin and streptomycin; Merck, Darmstadt, Germany). Cells were maintained under standard conditions at 37 °C in a humidified atmosphere containing 5% CO<sub>2</sub>. Prior to each experiment, cell viability was confirmed by trypan blue staining and exceeded 95%.

### MTT assay

The effect of calcitriol on cell viability was assessed using the MTT assay. This colorimetric assay measures cellular metabolic activity based on the reduction of the yellow tetrazolium salt MTT to insoluble purple formazan crystals by mitochondrial NAD(P)H-dependent oxidoreductases in viable cells. The formazan crystals are subsequently dissolved in 10% sodium dodecyl sulfate (SDS), and the resulting color intensity is measured spectrophotometrically.

Cells were seeded in 96-well plates (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) at a density of  $5 \times 10^3$  cells per well and incubated for 24 h before treatment with calcitriol at the indicated concentrations (1 – 50  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ). After 72 h exposure, 10  $\mu\text{L}$  of MTT solution (Promega, Madison, WI, USA; 5  $\text{mg.ml}^{-1}$ ) was added to each well. Following 4 h of incubation, the resulting formazan crystals were dissolved in 10% SDS (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Absorbance was measured at 540 nm using a Cytation™ 3 Cell Imaging Multi-Mode Reader (BioTek, Winooski, VT, USA).

Results are expressed as the percentage of viable cells relative to the untreated control and were calculated as follows:  $\text{Viability (\%)} = [(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / (A_{\text{control}} - A_{\text{blank}})] \times 100$ , where  $A_{\text{sample}}$  is the absorbance of the treated cells,  $A_{\text{control}}$  is the absorbance of the vehicle control (cells treated with 0.1% DMSO, corresponding to the highest calcitriol concentration used), and  $A_{\text{blank}}$  is the absorbance of the cell-free culture medium. Half-maximal inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) values were determined from three independent experiments.

### Crystal violet assay (CVA)

Cell viability was also assessed using the CVA assay. Crystal violet (Centralchem, s.r.o., Slovakia), a triarylmethane dye, binds to fixed adherent cells and is used to quantify total cell biomass. The intensity of the solubilized dye correlates with relative cell viability and proliferation.

Cells were cultured and treated with calcitriol under the same conditions as in the MTT assay. After 72 h of incubation, cells were washed with phosphate-buffered saline (PBS; pH = 7.2 – 7.4), fixed with 4% paraformaldehyde, and stained with crystal violet. Excess dye was removed, and plates were air-dried. Bound dye was then solubilized in DMSO, and absorbance was measured at 590 nm using a Cytation™ 3 Cell Imaging Multi-Mode Reader (BioTek, Winooski, VT, USA).

Results are expressed as percentage of viable cells relative to the untreated control and were calculated as follows:  $\text{Viability (\%)} = [(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / (A_{\text{control}} - A_{\text{blank}})] \times 100$ , where  $A_{\text{sample}}$  is the absorbance of the treated cells,  $A_{\text{control}}$  is the absorbance of the vehicle control (cells treated with 0.1% DMSO, corresponding to the highest calcitriol concentration used), and  $A_{\text{blank}}$  is the absorbance of the cell-free culture medium.  $\text{IC}_{50}$  values were calculated from three independent experiments.

### Molecular docking

The three-dimensional structure of ABCB1 (PDB ID: 9CTC) was retrieved from the Protein Data Bank

and prepared by removing water molecules and non-protein components. The chemical structure of calcitriol was obtained from the PubChem database and converted into PDBQT format using RDKit and Meeko tools. Molecular docking was performed using AutoDock Vina v1.2.7, Smina (2019 build), and Gnina V1.0 software. The binding site was defined within the grid box of  $32 \times 32 \times 32$  Å. The exhaustiveness parameter was set to 100 to ensure extensive conformational sampling. A total of 20 binding poses were generated for the ligand, calcitriol.

Results were evaluated based on binding free energy ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) and predicted dissociation constants ( $pK_d$ ).

### Rhodamine 123 accumulation assay

ABCB1 functional activity was assessed using the rhodamine 123 accumulation assay, which indirectly evaluates the inhibitory effects of tested compounds on ABCB1 efflux function. Rhodamine 123 is a fluorescent ABCB1 substrate, and its intracellular accumulation inversely correlates with transporter activity. Verapamil, a known ABCB1 inhibitor, was used as a positive control. Rhodamine 123 and verapamil were dissolved in DMSO and stored as stock solutions. Verapamil was stored at room temperature, protected from light, whereas rhodamine 123 was stored at  $-20$  °C. Fluorescence intensity was measured by flow cytometry.

COLO 320 cells overexpressing ABCB1 ( $1 \times 10^6$  cells.mL<sup>-1</sup>) were suspended in phenol red-free high glucose DMEM (Gibco, Thermo Fischer Scientific, Rockford, IL, USA) medium and pre-incubated with calcitriol (5 and 10  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) or verapamil (20  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) for 10 min at room temperature. Rhodamine 123 (5.2  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ; BLD Pharm, Shanghai, China) was then added, and cells were incubated for 20 min in a water bath at 37 °C. After washing with PBS, intracellular fluorescence was measured using a BD FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

Results are expressed relative to untreated controls. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation from three independent experiments. Fluorescence activity ratio (FAR) was calculated according to the following formula:  $FAR = \frac{F_{\text{treated}} - F_{\text{autofluorescence}}}{F_{\text{rhodamine123}} - F_{\text{autofluorescence}}}$ .

### ATPase activity assay

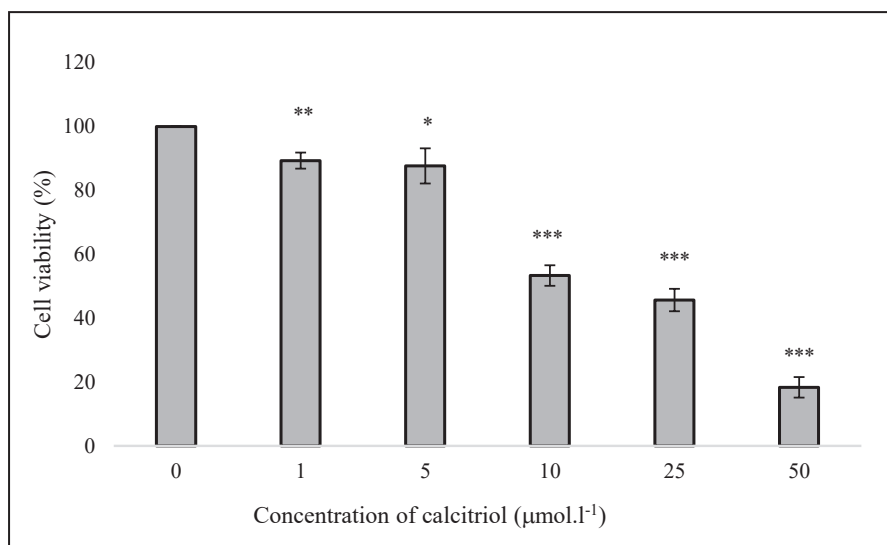
ABCB1 ATPase activity was assessed using the MDR1 PREDEASY™ ATPase Assay Kit (Solvo Biotechnology, Budapest, Hungary) according to the manufacturer's instructions. Both activation and inhibition assays were performed using MDR1-Sf9 membranes selectively expressing recombinant human ABCB1. Calcitriol was tested at concentrations of 0.14, 0.41, 1.23, 3.7, 11.11, 33.33, 100, and 300  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ .

The assay is based on ATP hydrolysis by ABCB1, which produces ADP and inorganic phosphate (Pi). The released Pi was quantified using a colorimetric reaction measured at 600 nm using a Cytation™ 3 Cell Imaging Multi-Mode Reader (BioTek, Winooski, VT, USA). Sodium orthovanadate was supplied with the MDR1 PREDEASY™ ATPase Assay Kit (Solvo Biotechnology, Budapest, Hungary) as a ready-to-use solution and was used at a final concentration of 1.2 mmol.l<sup>-1</sup> to inhibit ABCB1 ATPase activity and distinguish vanadate-sensitive ABCB1 activity from non-specific ATPase activity. Vanadate-sensitive ATPase activity was calculated as the difference between ATP hydrolysis measured in the absence and presence of sodium orthovanadate. The activation assay assessed the ability of calcitriol to stimulate ABCB1 ATPase activity, whereas the inhibition assay evaluated its effect on verapamil-stimulated ATPase activity. The results were calculated using the template provided by the manufacturer.

### Statistical analysis

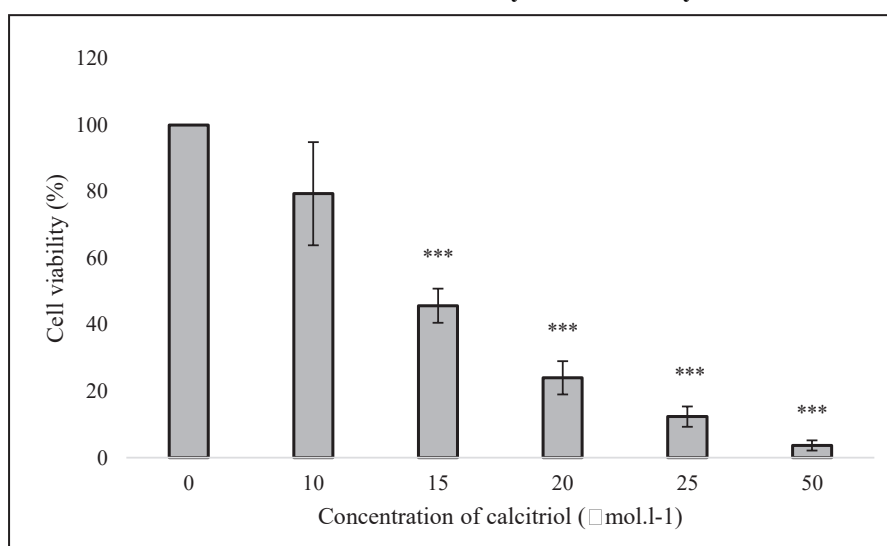
Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD) from three independent experiments. Statistical significance was evaluated using Student's t-test. A p-value  $< 0.05$  was considered statistically significant.

**Fig. 1: Effect of calcitriol on COLO 320 cell viability determined by MTT assay after 72 h exposure**



Data are presented as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). Statistical significance: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  for treated vs. the control

**Fig. 2: Effect of calcitriol on COLO 320 cell viability determined by CVA after 72 h exposure**



Data are presented as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). Statistical significance: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  for treated vs. the control.

## RESULTS

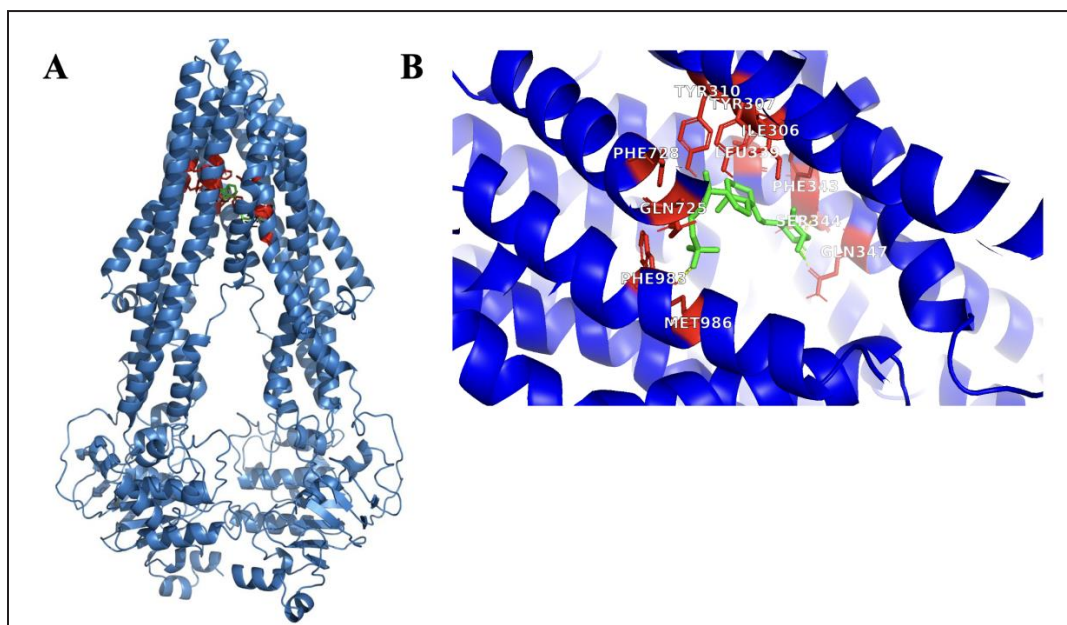
### Effect of calcitriol on cell viability in the MTT assay

The effect of calcitriol on COLO 320 cell viability was evaluated using the MTT assay after 72 h of incubation. Calcitriol significantly reduced the metabolic activity of cancer cells, at concentrations  $1 \mu\text{mol.l}^{-1}$  (Figure 1). The  $\text{IC}_{50}$  value was  $17.08 \pm 4.61 \mu\text{mol.l}^{-1}$ .

### Effect of calcitriol on cell viability in the CVA assay

To further confirm the effect of calcitriol on cell viability, cell viability was additionally validated using the CVA assay. Treatment with calcitriol resulted in a significant, concentration-dependent reduction in the number of adherent COLO 320 cells at concentrations of  $\geq 15 \mu\text{mol.l}^{-1}$  (Figure 2). The  $\text{IC}_{50}$  value was  $14.23 \pm 0.65 \mu\text{mol.l}^{-1}$ .

**Fig. 3: Predicted binding of calcitriol in the central binding cavity of the ABCB1 transporter**



Legend: A, overall protein structure showing the binding site; B, detailed view of the binding cavity showing calcitriol in green and the interacting amino acid residues in red.

The results obtained from both assays demonstrated a pronounced inhibitory effect of calcitriol on cell viability of resistant COLO 320 cells under the experimental conditions used.

#### **Molecular docking of calcitriol to ABCB1**

Molecular docking predicted a potential binding of calcitriol within the central transmembrane cavity of the ABCB1 transporter (Figure 3A). The best binding energy obtained using AutoDock Vina was  $-8.12 \text{ kcal.mol}^{-1}$ , corresponding to moderate binding affinity ( $pK_d \approx 5.95$ ). Comparable values obtained with alternative docking tools (Smina:  $-8.7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ; Gnina:  $-8.76 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ) indicated consistency of the prediction.

The binding pocket exhibited a predominantly hydrophobic character, composed of aromatic and aliphatic amino acid residues, which may stabilize the ligand through hydrophobic and  $\pi$ - $\pi$  interactions (Figure 3B).

#### **Effect of calcitriol on Rhodamine 123 efflux**

The functional activity of ABCB1 was assessed in COLO 320 cells using the rhodamine 123 accumu-

lation assay. Calcitriol was tested at non-toxic concentrations ( $5$  and  $10 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ ), below the  $\text{IC}_{50}$  values determined for COLO 320 in both viability assays (MTT and CVA). In contrast to verapamil, no significant effect of calcitriol on ABCB1 transport activity was observed under the experimental conditions used, despite the predicted binding (Table 1).

#### **ABCB1 ATPase activity in the presence of calcitriol**

To assess the effect of calcitriol on ABCB1 activity independently of other transporters, specific ABCB1 ATPase activity was evaluated using both activation and inhibition assays (Figure 4). In the inhibition assay, performed in the presence of verapamil as an activator of ABCB1 ATPase activity, calcitriol produced a concentration-dependent decrease in vanadate-sensitive ATPase activity. The compound exhibited very strong inhibition of relative ATPase activity at a concentration as low as  $10 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ . The activation assay showed that calcitriol did not stimulate ABCB1 ATPase activity, as the relative ATPase activity remained comparable to the control level.

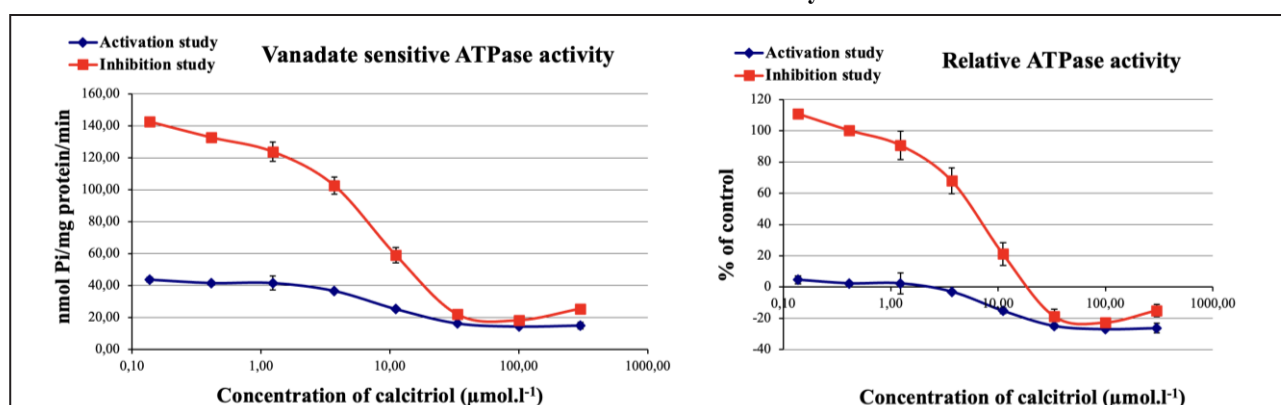
These findings suggest that calcitriol is more likely

**Tab. 1: Effect of calcitriol on rhodamine 123 accumulation in ABCB1-overexpressing COLO 320 cells**

| Treatment               | Concentration ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) | Relative fluorescence (mean $\pm$ SD) | FAR  | p-value |
|-------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|------|---------|
| Control (rhodamine 123) | 5.2                                      | 1.00 $\pm$ 0.00                       | 1.00 | —       |
| Verapamil               | 20                                       | 2.29 $\pm$ 0.37                       | 2.76 | 0.02*   |
| Calcitriol              | 5                                        | 1.03 $\pm$ 0.03                       | 1.04 | 0.11    |
| Calcitriol              | 10                                       | 0.98 $\pm$ 0.04                       | 0.97 | 0.48    |

FAR – Fluorescence Activity Ratio. Data are presented as mean  $\pm$  SD from three independent experiments. Statistical significance was evaluated vs. untreated control cells: \*  $p < 0.05$  for treated vs. the control.

**Figure 4: Effect of calcitriol on ABCB1-associated ATPase activity, displaying the dose-response curves for the activation and inhibition assays**



to act as an inhibitor than as a substrate of ABCB1, based on its inhibitor-like effect on ABCB1-associated ATP hydrolysis observed in the ATPase assay.

## DISCUSSION

Overcoming multidrug resistance (MDR), largely driven by ABCB1 overexpression, remains a major challenge in cancer therapy. Natural bioactive compounds and their derivatives are therefore being investigated for their potential to modulate ABCB1 activity and the MDR phenotype (Čižmaríková et al., 2019; Franko et al., 2025).

In the present study calcitriol reduced the viability of COLO 320 colorectal cancer cells, as demonstrated by both the MTT and CVA assays. The consistent concentration-dependent effects observed using these two independent methods indicate that calcitriol reduces the cellular metabolic activity or adherent biomass of this ABCB1-overexpressing cell line.

Molecular docking predicted that calcitriol could bind within the central transmembrane cavity of ABCB1. The predominantly hydrophobic character of this cavity is compatible with interactions involving the lipophilic calcitriol molecule. However, molecular docking predicts energetically favorable ligand-protein interactions and binding poses and does not establish direct binding or transporter inhibition (Kitchen et al., 2004; Pagadala et al., 2017).

The ATPase assay provided additional information about the possible interaction between calcitriol and ABCB1. Calcitriol did not stimulate ABCB1 ATPase activity in the activation assay but inhibited verapamil-stimulated activity in a concentration-dependent manner in the inhibitory assay. These findings suggest an inhibitor-like interaction with ABCB1, although further studies are needed to determine the nature and mechanism of this interaction. To the best of our knowledge, although previous studies have investigated the effects of calcitriol on ABCB1 ex-

pression and transport activity, its effect on ABCB1-associated ATPase activity has not previously been reported. Thus, the present study provides the first experimental evidence of calcitriol-induced modulation of ABCB1-associated ATPase activity. Overall, caution should be exercised when interpreting the ATPase findings. The absence of ATPase stimulation suggests that calcitriol does not behave as a typical ATPase-stimulating ABCB1 substrate under the conditions tested. However, this result does not definitively exclude the possibility that calcitriol is an atypical ABCB1 substrate, because ATPase assays do not always distinguish substrates from modulators and may produce different responses depending on the concentration and experimental conditions (Lee et al., 2019). Similarly, inhibition of verapamil-stimulated ATP hydrolysis demonstrates an effect on ABCB1-associated ATPase activity but does not by itself prove inhibition of substrate transport (Shirasaka et al., 2006; Gameiro et al., 2017). ATPase and transport assays may therefore provide complementary but non-equivalent information about compound-transporter interactions (Gameiro et al., 2017).

The results of the rhodamine 123 accumulation assay did not provide unequivocal evidence that calcitriol inhibited ABCB1-mediated efflux. This apparent discrepancy between the ATPase and accumulation assays may be related to differences in the processes measured by these approaches. Previous studies have shown that rhodamine 123 efflux, ATPase activity, and cellular accumulation assays can produce different assessments of the interaction between a compound and ABCB1 (Munić et al., 2010). In addition, the effect of a compound on ABCB1-mediated transport may depend on the transported substrate, because inhibition observed with one substrate does not necessarily predict inhibition of another substrate's transport (Zolnerciks et al., 2011; Jouan et al., 2016). This is particularly relevant for rhodamine 123-based assays, which may not detect compounds that interact preferentially with other ABCB1 binding sites (Jouan et al. 2016). Furthermore, previous studies of the COLO 320 model have indicated the involvement of other

efflux transporters, including ABCC1/2 and ABCG2. ABCC1 and ABCC2 appeared to contribute more substantially to the overall efflux phenotype, whereas ABCG2 showed minimal functional involvement under the conditions examined by Franko et al. 2025. These additional transporters may therefore contribute to the overall efflux response and could partially mask an effect of calcitriol on ABCB1-mediated rhodamine 123 transport.

Finally, differences in assay format, compound concentration, incubation conditions, and the use of cellular versus membrane-based experimental systems may also contribute to differences between ATPase and transport measurements (Munić et al. 2010). Taken together, these factors suggest that the effect of calcitriol on the efflux mechanisms may be complex and cannot be characterized solely as direct inhibition of ABCB1-mediated transport.

The combined docking and ATPase results support a potential interaction between calcitriol and ABCB1, whereas the rhodamine 123 assay indicates that this interaction did not produce measurable inhibition of rhodamine 123 efflux under the tested conditions. Thus, calcitriol may affect ABCB1 at the level of ATPase activity without producing a corresponding change in the transport of rhodamine 123.

Despite the lack of unequivocal inhibition in the rhodamine 123 accumulation assay, calcitriol consistently reduced the metabolic activity and adherent cell biomass of COLO 320 cells. This effect may therefore not be attributable solely to inhibition of ABCB1-mediated efflux. Beyond its canonical role as a drug efflux transporter, ABCB1 has also been implicated in cellular processes related to cell survival and apoptosis, suggesting that its contribution to the MDR phenotype may extend beyond substrate transport. Experimental studies have reported that ABCB1 can suppress caspase activation and contribute to resistance to apoptosis in an efflux-independent manner (Tainton et al., 2004).

The biological effects of calcitriol may likewise involve multiple mechanisms, including alterations in cellular metabolism and potentially apoptosis-related

pathways. In colorectal cancer models, calcitriol has been shown to reduce the expression of glycolysis-related proteins, decrease glycolytic activity, and increase mitochondrial respiration (Huang et al., 2021). Thus, the reduction in COLO 320 cell viability observed in the present study may reflect mechanisms that are independent of direct inhibition of ABCB1-mediated substrate transport.

The literature presents contradictory findings regarding the effects of calcitriol on ABCB1 and the MDR phenotype. Tan et al. (2018) reported that calcitriol and its analog calcipotriol inhibited ABCB1 efflux activity in HEK293/P-gp (human embryonic kidney cells overexpressing ABCB1) and MDCKII/P-gp (canine kidney cells overexpressing human ABCB1) cell lines overexpressing ABCB1 at concentrations of 10 and 50  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . This effect was associated with increased intracellular accumulation of substrates and restored sensitivity to vincristine (Tan et al., 2018). In contrast, Attia et al. (2020) observed increased ABCB1 gene expression following calcitriol exposure in MCF-7 (human breast cancer) cells even at sub-micromolar concentrations (Attia et al., 2020). Similarly, in Caco-2 (human colorectal cancer) cells, prolonged exposure to calcitriol (10 days) was associated with induction of ABCB1 protein expression, while a 72-h treatment increased its functional activity (Fan et al., 2009). Conversely, Yan and Nuriding (2014) reported that vitamin D increased the sensitivity of resistant leukemia cells to chemotherapeutic agents in a dose-dependent manner, accompanied by decreased ABCB1 expression (Yan and Nuriding, 2014).

Compared with these studies, the present results indicate that calcitriol can inhibit verapamil-stimulated ABCB1 ATPase activity but did not demonstrate clear inhibition of ABCB1-mediated rhodamine 123 efflux under the conditions tested. These discrepancies highlight the importance of the cell model, transported substrate, compound concentration incubation conditions, and assay endpoint when evaluating the interaction between calcitriol and ABCB1 (Munić et al., 2010; Zolnericiks et al., 2011; Jouan et al., 2016).

Overall, our findings support the view that calcitriol may interact with ABCB1, but that its effect on transporter function is complex and may be substrate-dependent (Zolnericiks et al., 2011; Jouan et al., 2016).

## CONCLUSION

Our findings suggest that calcitriol may interact with ABCB1 and modulate its ATPase activity; however, its effects on transporter function appear to be complex and may vary depending on the transported substrate and experimental conditions. The observed reduction in COLO 320 cell viability cannot be attributed solely to inhibition of ABCB1-mediated drug efflux and may reflect the involvement of multiple cellular mechanisms. Further studies employing additional ABCB1 substrates, including conventional anticancer drugs, other efflux transporters, and analyses of ABCB1 expression, together with investigations of downstream cellular pathways, are warranted to elucidate the biological significance and underlying mechanisms of the calcitriol-ABCB1 interaction. Additional studies are also needed to evaluate the effects of the tested compound across a range of healthy cell lines and, consequently, establish its selectivity toward cancer cells. An important limitation of this study is the use of an *in vitro* model, which may not fully reflect the effects of calcitriol *in vivo*. Future studies should therefore validate these findings in appropriate *in vivo* models to determine how the MDR phenotype, particularly the overexpression of MDR-associated efflux transporters, affects the accumulation, anticancer efficacy, and therapeutic safety of calcitriol under physiologically relevant conditions.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## Ethical aspects

The study was conducted in accordance with all ethical requirements necessary for its implementation.

## Generative ai statement

The authors declare that no generative AI was used in the presented original article.

## Author contributions

Conceptualization: VH, MČ, methodology: VH, MČ, OF, MK, investigation: VH, OF, MK, MČ, BL, data analysis: VH, OF, MK, writing original draft: VH, ADH, JG, writing – review & editing: VH, MČ, ADH, JG, funding acquisition: VH, MČ, MK.

## FUNDING/ ACKNOWLEDGMENTS

The study was supported by the following grants: VVGS-2025-3645, VEGA 1/0446/22, VEGA 1/0498/23, and VEGA 1/0123/26.

## REFERENCES

- Attia, Y. M., El-Kersh, D. M., Ammar, R. A., Adel, A., Khalil, A., Walid, H., Eskander, K., Hamdy, M., Reda, N., Mohsen, N. E. et al.: Inhibition of aldehyde dehydrogenase-1 and P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by curcumin and vitamin D3 increases sensitivity to paclitaxel in breast cancer. *Chem-Biol. Interact.*, 2020, 315, 108865. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279719308762>>. Accessed June 2, 2025.
- Bukowski, K., Kciuk, M., Kontek, R.: Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21 (9), 32370233. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32370233/>>. Accessed September 10, 2025.
- Čižmáriková, M., Takáč, P., Spengler, G., Kincses, A., Nové, M., Vílková, M., Mojžiš, J.: New chalcone derivative inhibits ABCB1 in multidrug resistant T-cell lymphoma and colon adenocarcinoma cells. *Anticancer Res.*, 2019, 39 (12), 6499 – 6505. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31810914/>>. Accessed November 2, 2025.
- Durk, M. R., Fan, J., Sun, H., Yang, Y., Pang, H., Pang, K. S., De Lannoy, I. A. M.: Vitamin D receptor activation induces P-glycoprotein and increases brain efflux of quinidine: An intracerebral microdialysis study in conscious rats. *Pharm. Res.*, 2015, 32 (3), 1128 – 1140. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11095-014-1524-y>>. Accessed June 2, 2025.
- Engle, K., Kumar, G.: Cancer multidrug-resistance reversal by ABCB1 inhibition: A recent update. *Eur. J. Med. Chem.*, 2022, 239, 114542. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523422004445>>. Accessed June 2, 2025.
- Fan, J., Liu, S., Du, Y., Morrison, J., Shipman, R., Pang, K. S.: Up-regulation of transporters and enzymes by the vitamin D receptor ligands, 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 and vitamin D analogs, in the Caco-2 cell monolayer. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009, 330 (2), 389 – 402. <[https://jpet.aspetjournals.org/article/S0022-3565\(24\)38549-0/abstract](https://jpet.aspetjournals.org/article/S0022-3565(24)38549-0/abstract)>. Accessed June 2, 2025.
- Franko, O., Čižmáriková, M., Kello, M., Michalková, R., Weselowska, O., Šroda-Pomianek, K., Marques, S.R., Bednář, D., Háziková, V., Liška, T.J., Habalová, V.: Acridine-based chalcone 1C and ABC transporters. *Int. J. Mol. Sci.*, 2025, 26 (9), 40362377. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40362377/>>. Accessed September 10, 2025.
- Gameiro, M., Silva, R., Rocha-Pereira, C., Carmo, H., Carvalho, F., Bastos, M. D. L., Remião, F.: Cellular models and in vitro assays for the screening of modulators of P-gp, MRP1 and BCRP. *Molecules*, 2017, 22 (4), 600. <<https://www.mdpi.com/1420-3049/22/4/600>>. Accessed August 9, 2026.
- Goebel, J., Chmielewski, J., Hrycyna, C. A.: The roles of the human ATP-binding cassette transporters P-glycoprotein and ABCG2 in multidrug resistance in cancer and at endogenous sites: Future opportunities for structure-based drug design of inhibitors. *Cancer Drug Resist.*, 2021, 4 (4), 784 – 804. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34993424/>>. Accessed November 2, 2025.
- Gottesman, M. M., Lavi, O., Hall, M. D., Gillet, J. P.: Toward a better understanding of the complexity of cancer drug resistance. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2016, 56, 85 – 102. <<https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146>>

annurev-pharmtox-010715-103111>. Accessed September 22, 2025.

Huang, C. Y., Weng, Y. T., Li, P. C., Hsieh, N. T., Li, C. I., Liu, H. S., Lee, M. F.: Calcitriol suppresses Warburg effect and cell growth in human colorectal cancer cells. *Life*, 2021, 11 (9), 963. <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8466965/>>. Accessed August 9, 2026.

Jouan, E., Le Vée, M., Mayati, A., Denizot, C., Parmentier, Y., Fardel, O.: Evaluation of P-glycoprotein inhibitory potential using a rhodamine 123 accumulation assay. *Pharmaceutics*, 2016, 8 (2), 12. <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4932475/>>. Accessed August 9, 2026.

Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., Bajorath, J.: Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2004, 3 (11), 935 – 949. <<https://www.nature.com/articles/nrd1549>>. Accessed June 9, 2026.

Lee, T. D. et al.: A high-throughput screen of a library of therapeutics identifies cytotoxic substrates of P-glycoprotein. *Mol. Pharmacol.*, 2019, 96 (5), 629 – 640. <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6790066/>>. Accessed August 9, 2026.

Munić, V., Kelnerić, Ž., Mikac, L., Eraković Haber, V.: Differences in assessment of macrolide interaction with human MDR1 (ABCB1, P-gp) using rhodamine-123 efflux, ATPase activity and cellular accumulation assays. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2010, 41 (1), 86 – 95. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20621639/>>. Accessed August 9, 2026.

Özgen, Ö., Özen Eroğlu, G., Küçük Hüseyin, Ö., Akdeniz, N., Hepokur, C., Kuruca, S., Yaylım, İ.: Vitamin D increases the efficacy of cisplatin on bladder cancer cell lines. *Mol. Biol. Rep.*, 2023, 50 (1), 697 – 706. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-022-08044-2>>. Accessed June 2, 2025.

Pagadala, N. S., Syed, K., Tuszynski, J.: Software for molecular docking: A review. *Biophys. Rev.*, 2017, 9 (2), 91 – 102. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12551-016-0247-1>>. Accessed May 10, 2026.

Sajid, A., Rahman, H., Ambudkar, S. V.: Advances in the structure, mechanism and targeting of chemoresistance-linked ABC transporters. *Nat. Rev. Cancer*, 2023, 23 (11), 762 – 779. <<https://www.nature.com/articles/s41568-023-00612-3>>. Accessed August 15, 2025.

Shirasaka, Y., Onishi, Y., Sakurai, A., Nakagawa, H., Ishikawa, T., Yamashita, S.: Evaluation of human P-glycoprotein (MDR1/ABCB1) ATPase activity assay method by comparing with in vitro transport measurements: Michaelis–Menten kinetic analysis to estimate the affinity of P-glycoprotein to drugs. *Biol. Pharm. Bull.*, 2006, 29 (12), 2465 – 2471. <[https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/29/12/29\\_12\\_2465/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/29/12/29_12_2465/_article)>. Accessed August 9, 2026.

Tainton, K. M. et al.: Mutational analysis of P-glycoprotein: Suppression of caspase activation in the absence of ATP-dependent drug efflux. *CDD*, 2004, 11 (9), 1028 – 1037. <<https://www.nature.com/articles/4401440>>. Accessed August 9, 2026.

Tan, K. W., Sampson, A., Osa-Andrews, B., Iram, S. H.: Calcitriol and calcipotriol modulate transport activity of ABC transporters and exhibit selective cytotoxicity in MRP1-overexpressing cells. *Drug Metab. Dispos.*, 2018, 46 (12), 1856 – 1866. <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7333660/>>. Accessed September 10, 2025.

Teng, Y. N., Sheu, M. J., Hsieh, Y. W., Wang, R. Y., Chiang, Y. C., Hung, C. C.:  $\beta$ -Carotene reverses multidrug resistant cancer cells by selectively modulating human P-glycoprotein function. *Phytomedicine*, 2016, 23 (3), 316 – 323. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094471131600026X>>. Accessed September 10, 2025.

Wiese, M., Stefan, S. M.: The A-B-C of small-molecule ABC transport protein modulators: From inhibition to activation—a case study of multidrug resistance-associated protein 1 (ABCC1). *Med. Res. Rev.*, 2019, 39 (6), 2031 – 2081. <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/med.21573>>. Accessed September 10, 2025.

Yan, M., Nuriding, H.: Reversal effect of vitamin D on different multidrug-resistant cells. *Genet. Mol. Res.*, 2014, 13 (3), 6239 – 6247. < <https://www.geneticsmr.org/articles/reversal-effect-of-vitamin-d-on-different-multidrugresistant-cells.pdf>>. Accessed July 10, 2025.

Zolnerciks, J. K., Booth-Genthe, C. L., Gupta, A., Harris, J., Unadkat, J. D.: Substrate- and species-dependent inhibition of P-glycoprotein-mediated transport: Implications for predicting in vivo drug interactions. *Pharm. Sci.*, 2011, 100 (8), 3055 – 3061. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022354915320177>>. Accessed August 9, 2026.



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

# STANOVENIE TOXICITY LÁTKO UŽÍVANÝCH NA LIEČBU VYSOKÉHO CHOLESTEROLU

## DETERMINATION OF THE TOXICITY OF DRUGS USED FOR THE TREATMENT OF HIGH CHOLESTEROL LEVEL

**Novotná Katarína, Falis Marcel\***

Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

### OPEN ACCESS

\*Korešpondenčný autor: [marcel.falis@uvlf.sk](mailto:marcel.falis@uvlf.sk)

**Citovanie:** Novotná, K., Falis, M.: Stanovenie toxicity látok užívaných na liečbu vysokého cholesterolu. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 98 – 103.

**Prijaté:** 22.05.2026

**Akceptované:** 22.09.2026

**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Novotná, K., Falis, M. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**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.

Výsledky ukázali, že niacín vykazuje vyšší toxický účinok než atorvastatín, ktorý ani pri najvyššej testovanej koncentrácii nespôsobil mortalitu umožňujúcu výpočet  $LC_{50}$ . Zistené rozdiely poukazujú na variabilitu toxicity medzi jednotlivými hypolipidemikami a zdôrazňujú význam hodnotenia ich bezpečnostného profilu.

**Kľúčové slová:** *Artemia franciscana*; atorvastatín;  $LC_{50}$ ; niacín; toxicita

### ABSTRACT

### ABSTRAKT

Zvýšené hladiny cholesterolu patria medzi významné rizikové faktory aterosklerotických kardiovaskulárnych ochorení. Liečba hypercholesterolémie zahŕňa viaceré skupiny hypolipidemík, ktorých účinnosť je dobre dokumentovaná, avšak ich bezpečnostný profil môže byť rozdielny. V praktickej časti tejto práce bola hodnotená toxicita atorvastatínu a niacínu pomocou modelu *Artemia franciscana*. Mortalita lariev bola sledovaná po 24, 48 a 72 hodinách expozície a na základe získaných údajov boli vypočítané hodnoty  $LC_{50}$ .

Elevated cholesterol levels represent a major risk factor for atherosclerotic cardiovascular diseases. Pharmacological treatment includes several classes of lipid-lowering agents whose efficacy is well established, though their safety profiles may differ. The practical part of this thesis evaluated the toxicity of atorvastatin and niacin using the model *Artemia franciscana*. Mortality was assessed after 24, 48, and 72 hours of exposure, and  $LC_{50}$  values were calculated based on the collected data.

The results demonstrated that niacin exhibited higher toxicity compared to atorvastatin, which did not reach mortality sufficient for  $LC_{50}$  determi-

**nation. These findings highlight differences in the toxicological profiles of hypolipidemic agents and emphasize the importance of assessing their safety.**

**Keywords:** *Artemia franciscana*; atorvastatin; LC<sub>50</sub>; niacin; toxicity

## ÚVOD

Zvýšené hodnoty cholesterolu patria medzi najčastejšie metabolické poruchy súčasnej populácie a predstavujú významný rizikový faktor pre rozvoj aterosklerotických kardiovaskulárných ochorení (RANG a kol. 2019, WHO 2023). Liečba hypercholesterolémie zahŕňa viaceré skupiny hypolipidémik, medzi ktoré patria statíny, niacín, fibráty, ezetimib a moderné biologické prípravky. Ich účinnosť je dobre zdokumentovaná, avšak jednotlivé liečivá môžu vykazovať rozdielny bezpečnostný profil a potenciálne toxické účinky (Mach a kol., 2020; Grundy a kol., 2019).

V teoretickej časti rigorózneho práce boli spracované poznatky o mechanizmoch účinku, farmakokinetike a rizikách liečiv používaných pri liečbe hypercholesterolémie. Praktická časť bola zameraná na hodnotenie toxicity atorvastatínu a niacínu pomocou alternatívneho biotestu II. generácie na modeli *Artemia franciscana*, ktorý umožňuje rýchle a reprodukovateľné posúdenie akútnej toxicity (Dvořák a kol., 2005).

Cieľom práce bolo porovnať toxický účinok atorvastatínu a niacínu stanovením letálnych koncentrácií LC<sub>50</sub> a zhodnotiť ich potenciálne riziká z toxikologického hľadiska.

## MATERIÁL A METÓDY

Na hodnotenie toxicity atorvastatínu a niacínu bol použitý biologický model *Artemia franciscana*. Cysty boli liahnuté v aerovanej umelej morskej vode pripravenej podľa použitého laboratórneho protokolu. Po 24 – 48 hodinách liahnutia boli vyselektované životaschopné naupliá, ktoré boli prenesené do Petriho misiek s pripravovanými roztokmi testovaných látok (Dvořák a kol., 2005).

Atorvastatín a niacín boli rozpustené v morskej vode s obsahom 1% roztoku DMSO a pripravené v sériách riedení s rastúcimi koncentraciami. Do každej Petriho misy bolo umiestnených 10 nauplií, pričom každá koncentrácia bola realizovaná vo viacerých paralelných opakovaniach. Expozícia prebiehala pri stabilnej teplote bez prísunu potravy.

Mortalita *Artemia franciscana* bola hodnotená po 24, 48 a 72 hodinách. Za uhynuté jedince boli považované tie, ktoré nevykazovali pohyb ani po jemnom mechanickom podráždení. Výsledky boli zapísané do protokolov a spracované pomocou základných štatistických metód (Dvořák a kol., 2005). Hodnoty LC<sub>50</sub> boli vypočítané interpoláciou a softvérom ToxRat.

## VÝSLEDKY

Mortalita *Artemia franciscana* bola hodnotená po 24, 48 a 72 hodinách expozície atorvastatínu a niacínu v rôznych koncentráciách. Výsledky ukázali rozdielnu mieru toxicity medzi testovanými látkami.

### Atorvastatín

V Tab. 1 môžeme vidieť, že pri atorvastatíne bola mortalita nízka vo všetkých testovaných koncentráciách. Ani po 72 hodinách expozície nedošlo k výraznému nárastu mortality a nebolo možné vypočítať hodnotu LC<sub>50</sub>, keďže mortalita nedosiahla hodnoty potrebné na vykonanie výpočtu. Atorvastatín sa v použitom modeli javil ako málo toxický. Najvyššia zaznamenaná mortalita dosiahla 18 % po 72 hodinách expozície pri koncentrácii 50 mg/L, čo potvrdzuje nízku akútnu toxicitu atorvastatínu v použitom modeli.

Na grafe 1 je znázornená letalita artemií v závislosti od koncentrácie a času pri atorvastatíne. Vo všetkých sledovaných časových bodoch bola mortalita nízka a nevykazovala závislosť od dávky. Tento priebeh poukazuje na relatívne nízku akútnu toxicitu atorvastatínu za podmienok testu. Z prezentovaných výsledkov vyplýva, že LC<sub>50</sub> je vyššia ako najvyššia testovaná koncentrácia 100 mg/l.

**Tab. 1: Mortalita *Artemia franciscana* po expozícii atorvastatínu**

| Koncentrácia (mg/L) | 24 h (%) | 48 h (%) | 72 h (%) |
|---------------------|----------|----------|----------|
| 0 (kontrola)        | 0        | 0        | 6        |
| 6,25                | 2        | 2        | 2        |
| 12,5                | 0        | 0        | 4        |
| 25                  | 0        | 0        | 10       |
| 50                  | 0        | 0        | 18       |
| 100                 | 0        | 0        | 2        |

**Tab. 2: Mortalita *Artemia franciscana* po expozícii niacínu**

| Koncentrácia (mg/L) | 24 h (%) | 48 h (%) | 72 h (%) |
|---------------------|----------|----------|----------|
| 0 (kontrola)        | 0        | 0        | 6        |
| 37,5                | 0        | 0        | 8        |
| 75                  | 0        | 0        | 8        |
| 150                 | 0        | 0        | 12       |
| 300                 | 2        | 10       | 20       |
| 600                 | 94       | 100      | 100      |

## Niacín

Niacín vykazoval podstatne výraznejšiu toxicitu v porovnaní s atorvastatínom (Tab. 2). Pri najvyššej testovanej koncentrácii niacínu (600 mg/L) bola zaznamenaná výrazná mortalita už po 24 hodinách (94 %), pričom po 48 a 72 hodinách bola mortalita úplná. Mortalita *Artemia franciscana* rástla úmerne s koncentráciou aj s dĺžkou expozície a už pri stredných dávkach bola pozorovaná jasná tendencia k zvyšujúcemu sa letálnemu účinku.

Pri nižších koncentráciách (37,5 – 150 mg/L) sa po 24 hodinách neprejavila žiadna mortalita, avšak po 72 hodinách došlo k miernemu nárastu úhynu, ktorý nepresiahol 12 %. Tento priebeh naznačuje časovo závislý toxický účinok niacínu.

Hodnoty LC<sub>50</sub> pre niacín boli stanovené pre časové intervaly 24, 48 a 72 hodín, pričom s predlžovaním

expozície klesali, čo potvrdzuje zosilňovanie toxického účinku v čase. Hodnota LC<sub>50</sub> pre niacín potvrdila vysokú citlivosť *Artemia franciscana* na túto látku a poukazuje na jeho vyšší toxický potenciál v porovnaní s atorvastatínom.

LC<sub>50</sub> pre niacín (Tox.Rat.Pro.Version 3.3.0. @)

Výpočet LC<sub>50</sub> pre niacín ukázal zaujímavý trend:

LC<sub>50</sub> 24 h – 445,1 mg/l

LC<sub>50</sub> 48 h – 348,1 mg/l

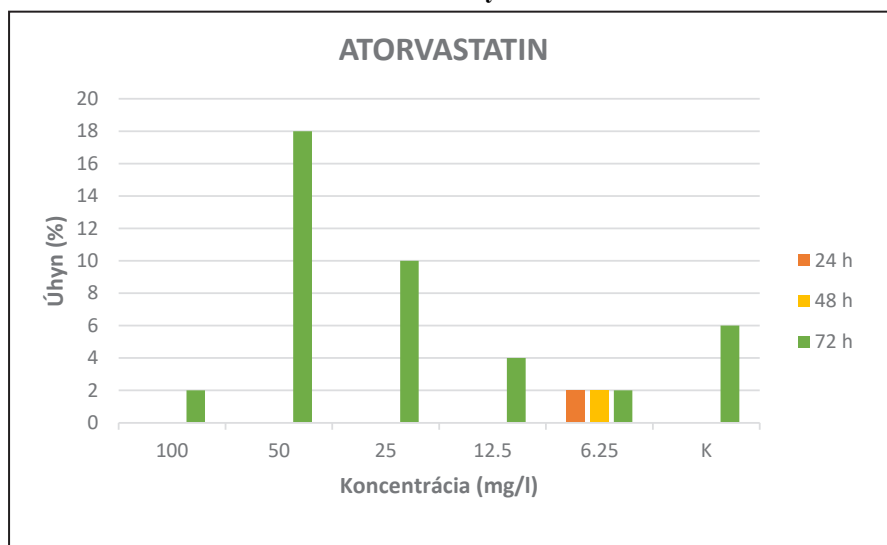
LC<sub>50</sub> 72 h – 312,4 mg/l

Tento trend potvrdzuje, že toxický účinok niacínu sa s časom zosilňuje, čo je typická vlastnosť látok s kumulatívnym alebo časovo závislým mechanizmom účinku.

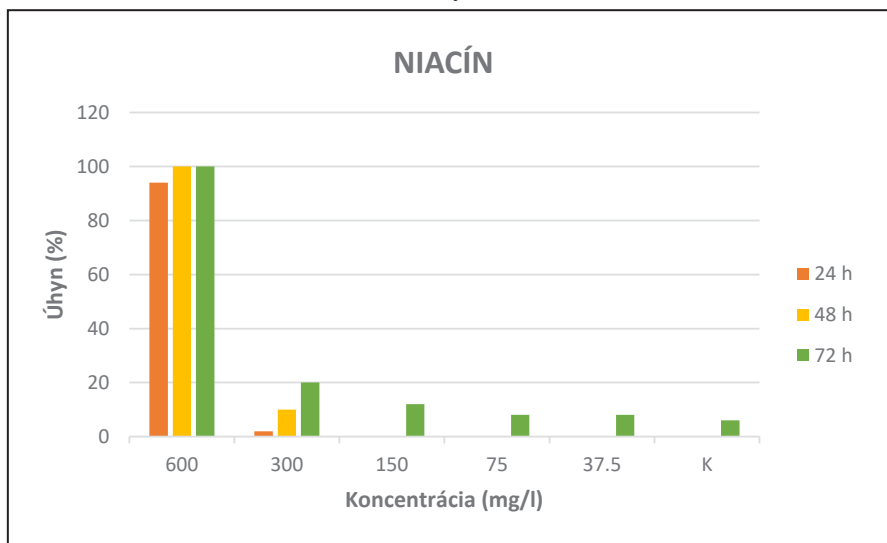
## Porovnanie toxicity atorvastatínu a niacínu

Pri porovnaní oboch testovaných látok bol zaznamenaný jednoznačný rozdiel v ich toxickom účinku.

**Graf 1: Atorvastatín - závislosť letality artemií od koncentrácie a času**



Graf 2: Niacín – závislosť letality artemií od koncentrácie a času



Atorvastatín nevykazoval výraznú mortalitu ani pri najvyšších testovaných koncentráciách a jeho účinok zostával stabilný počas celého trvania experimentu. Naopak, niacín spôsoboval postupný, koncentráciou aj časom závislý nárast mortality, pričom pri vyšších koncentráciách dosahoval takmer úplnú letalitu.

Zatiaľ čo atorvastatín neumožnil výpočet  $LC_{50}$ , pri niacíne bolo možné túto hodnotu stanoviť vo všetkých časových intervaloch, pričom jej postupné znižovanie od 24 h po 72 h poukazovalo na zvyšujúci sa toxický účinok v čase.

## DISKUSIA

Výsledky experimentu preukázali jasné rozdiely v akútnej toxicite medzi atorvastatínom a niacínom v modeli *Artemia franciscana*. Tento organizmus sa v ekotoxikologických testoch používa pre svoju citlivosť, rýchlu odozvu a jednoduchú manipuláciu, čo umožňuje spoľahlivo porovnať účinok rôznych látok v krátkom časovom intervale. Obe látky sú bežne používané hypolipidemiká, pričom je známe, že ich bezpečnostný profil sa v klinickej praxi výrazne líši, tieto rozdiely boli potvrdené na úrovni akútnej toxicity v experimentálnych podmienkach (HiMedia, 2022; Letco Medical, 2021; Poncarová a kol., 2025).

Atorvastatín nevykazoval v testovanom rozsahu koncentrácií výrazný letálny účinok. Počas celého

sledovaného obdobia (24 – 72 hodín) zostávali hodnoty mortality nízke a ani pri najvyššej dávke neprekročili hranicu potrebnú na výpočet  $LC_{50}$ . Tento výsledok poukazuje na nízku akútnu toxicitu atorvastatínu voči *Artemia franciscana* v podmienkach použitého testu. V prostredí sa atorvastatín radí medzi látky s obmedzeným akútnym toxickým potenciálom, čo potvrdzujú aj iné ekotoxikologické štúdie, v ktorých mortalita pri krátkodobom pôsobení zostala nízka (Poncarová a kol., 2025; Kravos a kol., 2024).

Na rozdiel od toho niacín vykazoval výrazné a konzistentné toxické pôsobenie. Účinky boli dávko- aj časovo závislé, pričom vyššie koncentrácie spôsobovali rýchly nárast mortality už po 24 hodinách, a po 48 – 72 hodinách bol účinok najvyššej koncentrácie letálny pre všetky sledované jedince. V nižších a stredných koncentráciách bola mortalita miernejšia, no aj tam sa prejavil jednoznačný stúpajúci trend. Softvér ToxRat umožnil vypočítať hodnoty  $LC_{50}$ , ktoré sa postupne znižovali so zvyšujúcou sa dobou expozície, čo potvrdzuje zvýšenú citlivosť organizmu v čase. Tieto výsledky ukazujú, že niacín má v akútnych podmienkach vyšší toxický potenciál ako atorvastatín, hoci v klinickej praxi sú jeho nežiadúce účinky známe najmä pri dlhodobom užívaní.

Porovnanie oboch látok v tomto experimente tak poukazuje na zásadné rozdiely v ich akútnej toxicite, ktoré nie sú priamo viditeľné v klinických štúdiách,

ale môžu mať význam pri hodnotení environmentálneho dopadu alebo pri skúmaní biologických mechanizmov toxicity. Skutočnosť, že niacín spôsoboval významný nárast letality aj pri krátkodobej expozícii, zatiaľ čo atorvastatín nie, ukazuje, že tieto liečivá, hoci podobne používané v terapii, môžu pôsobiť na žiabronôžky úplne rozdielne.

Použitý biologický model má svoje limity a nemožno z neho priamo vyvodzovať klinické závery. Napriek tomu poskytuje cenný doplnujúci pohľad na bezpečnostný profil liečiv, ktorý môže byť užitočný najmä pri environmentálnych analýzach alebo pri predklinickom hodnotení látok. Experiment tak potvrdil, že jednoduché testy akútnej toxicity môžu odhaliť rozdiely, ktoré nie sú zrejmé z farmakologických alebo klinických údajov, a môžu byť základom pre ďalší, podrobnejší výskum.

Celkovo možno konštatovať, že výsledky tejto práce dopĺňajú teoretické vedomosti o hypolipidemikách o praktické zistenia z experimentálneho modelu a potvrdzujú význam komplexného hodnotenia bezpečnostného profilu liečiv, ktoré sú dlhodobo používané v medicínskej praxi.

## ZÁVER

Zrealizovaný experiment ukázal výrazné rozdiely v akútnej toxicite medzi atorvastatínom a niacínom v modeli *Artemia franciscana*. Atorvastatín v testovanom rozsahu koncentrácií nevykazoval významný letálny účinok, čo znemožnilo výpočet  $LC_{50}$  a poukazuje na jeho nízku akútnu toxicitu v podmienkach testu. Naopak, niacín spôsobil jasný koncentráciou aj časom závislý nárast mortality, pričom jeho účinok bol dostatočne výrazný na stanovenie hodnôt  $LC_{50}$ .

Výsledky potvrdili, že liečivá používané na liečbu hypercholesterolémie sa môžu výrazne líšiť nielen svojím farmakologickým účinkom, ale aj akútnym toxickým profilom. Model *Artemia franciscana* poskytol jednoduchý a citlivý nástroj na porovnanie ich účinku a umožnil rýchlu identifikáciu látky s vyšším rizikom akútnej toxicity. Experiment tak dopĺňa teoretické poznatky o bezpečnostnom profile hypolipi-

demík a môže slúžiť ako základ pre ďalšie štúdie hodnotiace ich pôsobenie v rôznych biologických a environmentálnych podmienkach.

## Konflikt záujmov

Autori pre túto štúdiu neudávajú konflikt záujmov.

## Použitie nástrojov umelej inteligencie

Autori nepoužili nástroje generatívnej umelej inteligencie.

## Etické aspekty

Štúdia bola vykonaná v súlade so všetkými etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie.

## Financovanie

Táto práca bola financovaná grantom VEGA (1/0240/25) Ministerstva školstva, výskumu, vývoja a mládeže SR.

## Príspevky autorov

Novotná Katarína: vykonanie pokusov, spracovanie údajov, metodika, literárny prehľad; Falis Marcel: konceptualizácia, spracovanie údajov, formálna analýza, revízia textu.

## ZOZNAM LITERATÚRY

Dvořák, P., Šucman, M., Šandová, R., Hájek, J., Kocián, P.: *Ekotoxikologické testy* [Ecotoxicological tests]. Praha: Univerzita Karlova, 2005.

Grundy, S. M., Stone, N. J., Bailey, A. L., Beam, C., Birtcher, K. K., Blumenthal, R. S., et al.: AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the management of blood cholesterol. *Journal of the American College of Cardiology*, 2019, 73 (24), 285 – 350 [cit. 2025-08-17].

Himedia Laboratories: *Safety Data Sheet – Nicotinic Acid*. 2022. <https://www.himedialabs.com>. [cit. 2025-08-29]

Kravos, A., Žgajnar Gotvajn, A., Prosen, H.: Cardiovascular Drugs as Water Contaminants

and Analytical Challenges in the Evaluation of Their Degradation. *Processes*, 2024, 12, 2177. <https://doi.org/10.3390/pr12102177>.

LETICO MEDICAL. *Niacin USP – Safety Data Sheet*. 2021. <https://letcomedical.com>. [cit. 2025-08-29].

Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., et al.: ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 2020, 41 (1), 111–188. [cit.2025-08-17]. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>.

Ritter, J. M., Flower, R. J., Henderson, G., Loke, Y. K., MacEwan, D., Rang, H. P. : *Rang & Dale's Pharmacology*. 9. vyd. Edinburgh: Elsevier, 2019.

Poncarová, M., Šorf, M., Poštulková, E., Klementová, Š., Hájek, J., Fojtíková, P., Kahoun, D., Hrouzek, P., Medková, D., Petráňová, P.: Effects of atorvastatin and its photoproducts on three trophic levels of the aquatic food web. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 2025, 22, 14293 – 14308. <https://doi.org/10.1007/s13762-025-06551-w>

World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs). 2023 [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). [cit. 2025-08-17].



## PÔVODNÁ ŠTÚDIA

ÚLOHA FARMACEUTA PRI POSKYTOVANÍ LEKÁRENSKEJ STAROSTLIVOSTI O PACIENTOV S OCHORENÍM *DIABETES MELLITUS* 2. TYPUTHE ROLE OF THE PHARMACIST IN THE PHARMACEUTICAL CARE OF PATIENTS WITH TYPE 2 *DIABETES MELLITUS*Barabášová, Nikola<sup>1</sup>; Mačková, Zuzana<sup>1</sup>; Krivošová, Michaela<sup>2</sup>; Laca Megyesi, Štefánia<sup>1</sup>; Gazdová, Mária<sup>1\*</sup><sup>1</sup> Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice; <sup>2</sup> Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine, Martin, Slovenská republika OPEN ACCESS\*Korešpondenčný autor: [maria.gazdova@uvlf.sk](mailto:maria.gazdova@uvlf.sk)

**Citovanie:** Barabášová, N., Mačková, Z., Krivošová, M., Laca Megyesi, Š., Gazdová, M.: Úloha farmaceuta pri poskytovaní lekárenskej starostlivosti o pacientov s ochorením diabetes mellitus 2. typu. Folia Pharmaceutica Cassoviensia, 2026, 8 (3), 104 – 112.

**Prijaté:** 03.07.2026**Akceptované:** 27.07.2026**Publikované:** 21.10.2026

**Copyright:** 2026 Barabášová, N., Mačková, Z., Krivošová, M., Laca Megyesi, Š., Gazdová, M. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

**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.

## ABSTRAKT

*Diabetes mellitus* 2. typu predstavuje jedno z najčastejších chronických metabolických ochorení súčasnosti, ktorého výskyt má v globálnom aj národnom meradle stúpajúcu tendenciu. Ochorenie je spojené s výskytom viacerých komorbidít, zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom a negatívnym dopadom na kvalitu života pacientov. Farmaceut ako ľahko dostupný zdravotnícky pra-

covník zohráva významnú úlohu v manažmente ochorenia, najmä v oblasti edukácie, prevencie, skríningu a podpory adherencie k liečbe. Cieľom štúdie bolo analyzovať vybrané charakteristiky pacientov s *diabetes mellitus* 2. typu v porovnaní s pacientmi bez diabetu a zhodnotiť výskyt komorbidít a kognitívneho profilu v sledovanom súbore, ako aj poukázať na význam úlohy farmaceuta pri poskytovaní lekárenskej starostlivosti. Do analýzy bolo zahrnutých 47 pacientov, z toho 23 pacientov s *diabetes mellitus* 2. typu a 24 pacientov bez diabetu. Hodnotené boli demografické údaje, počet a výskyt vybraných komorbidít a kognitívne funkcie pomocou testu kreslenia hodín. Výsledky preukázali vyšší priemerný vek pacientov s *diabetes mellitus* 2. typu a zároveň vyšší priemerný počet komorbidít v porovnaní so skupinou bez diabetu. V skupine pacientov s *diabetes mellitus* 2. typu dominovala arteriálna hypertenzia, nasledovaná abdominálnou obezitou a dyslipidémiou. Väčšina pacientov s diabetom mala prítomné dve až tri komorbidity. Získané výsledky poukazujú na komplexný charakter *diabetes mellitus* 2. typu a význam multidisciplinárneho prístupu v jeho manažmente.

**Kľúčové slová:** *diabetes mellitus 2. typu*; farmaceut; farmakoterapia; lekárenská starostlivosť

## ABSTRACT

Type 2 *diabetes mellitus* is one of the most common chronic metabolic diseases today, with its incidence on the rise both globally and nationally. The disease is associated with the occurrence of several comorbidities, increased cardiovascular risk, and a negative impact on patients' quality of life. As an easily accessible healthcare professional, the pharmacist plays an important role in disease management, particularly in the areas of education, prevention, screening, and promoting adherence to treatment. The aim of this study was to analyze selected characteristics of patients with type 2 *diabetes mellitus* in comparison with patients without diabetes and to evaluate the incidence of comorbidities and cognitive profile in the study group, as well as to highlight the importance of the pharmacist's role in providing pharmacy care. The analysis included 47 patients, of whom 23 had type 2 *diabetes mellitus* and 24 did not have diabetes. Demographic data, the number and incidence of selected comorbidities and cognitive functions were evaluated using the Clock Drawing Test. The results showed a higher average age of patients with type 2 *diabetes mellitus* and a higher average number of comorbidities compared to the non-diabetic group. Arterial hypertension dominated in the group of patients with type 2 *diabetes mellitus*, followed by abdominal obesity and dyslipidemia. Most patients with diabetes had two to three comorbidities. The results obtained point to the complex nature of type 2 *diabetes mellitus* and the importance of a multidisciplinary approach in its management.

**Keywords:** pharmaceutical care; pharmacists; pharmacotherapy; type 2 *diabetes mellitus*

## ÚVOD

*Diabetes mellitus* predstavuje celosvetovo významnú príčinu morbiditu a mortality a zároveň výrazne prispieva k rastúcim nákladom na zdravotnú starostlivosť. Odhaduje sa, že počet osôb s diabetom na svete naďalej stúpa a v nasledujúcich desaťročiach dosiahne stovky miliónov prípadov. Najčastejšou formou ochorenia je *diabetes mellitus 2. typu* (DM2), ktorý tvorí približne 90 % všetkých prípadov diabetu (Dal Canto et al., 2019).

DM2 nepredstavuje ochorenie charakterizované výlučne chronickou hyperglykémiou, ale ide o komplexné multifaktoriálne metabolické ochorenie (Lu et al., 2024). Je často sprevádzaný viacerými komorbiditami, najmä arteriálnou hypertenziou, dyslipidémiou a obezitou, ktoré významne zhoršujú klinický priebeh ochorenia (Zhai et al., 2023; Fábryová, 2019). Manažment ochorenia si vyžaduje dlhodobú a komplexnú starostlivosť, ktorá zahŕňa kombináciu nefarmakologických opatrení a farmakologickej liečby (Davies et al., 2018). Dôležitou súčasťou je edukácia pacienta, podpora adherencie k liečbe a pravidelné monitorovanie zdravotného stavu. Pacient je v tomto procese aktívnym partnerom, ktorého spolupráca je nevyhnutná pre dosiahnutie optimálnej kompenzácie ochorenia (ADA, 2025). Na zabezpečenie takejto komplexnej starostlivosti je nevyhnutná spolupráca viacerých zdravotníckych odborníkov v rámci multidisciplinárneho tímu (Davies et al., 2018). Významné miesto v tomto tíme zastáva aj farmaceut, ktorý patrí medzi najdostupnejších zdravotníckych pracovníkov pre pacientov (Hughes et al., 2017). Prostredníctvom kontaktu s pacientom môže farmaceut aktívne prispievať k edukácii, podpore adherencie k liečbe a identifikácii liekových interakcií (Khunti et al., 2013). Uvedené skutočnosti poukazujú na potrebu koordinovanej a systematickej starostlivosti o pacientov s DM2, ktorá presahuje rámec samotnej farmakoterapie.

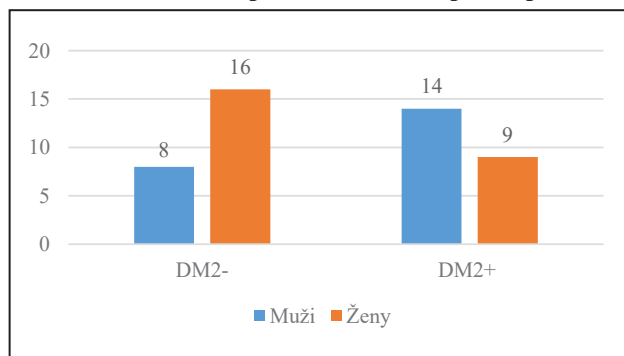
## MATERIÁL A METÓDY

V štúdií boli analyzované údaje získané z jednej verejnej lekárne a z jednej ambulancie všeobecného lekára v Humennom. Zber údajov prebiehal v období od 10. júna 2024 do 20. decembra 2024, ako súčasť projektu KOGNIMET-SK, ktorý je zameraný na skrining kognitívnych porúch v podmienkach verejných lekární (schválený Etickou komisiou Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave; číslo rozhodnutia EK FaF UK 01/2024). Do štúdie bolo náhodným výberom zaradených 47 pacientov, ktorí boli rozdelení podľa prítomnosti diagnózy DM2. V súbore pacientov neboli zahrnutí žiadni pacienti s diabetes mellitus 1. typu. U jedného respondenta zo skupiny DM2+ bola zaznamenaná kombinovaná liečba pozostávajúca z perorálnych antidiabetík a inzulínu. Všetci ostatní pacienti s DM2 užívali výlučne perorálnu antidiabetickú liečbu.

Zber údajov prebiehal formou osobnej konzultácie. Po vysvetlení cieľa štúdie a získaní informovaného súhlasu boli zaznamenané demografické údaje, prítomnosť alebo neprítomnosť DM2, komorbidít, chronická farmakoterapia a ďalšie relevantné údaje. Prevalencia DM2 v skúmanej vzorke bola určená na základe oficiálne zdokumentovanej diagnózy v anamnéze pacienta. Informácie o komorbiditách a chronickej liekovej terapii boli získané prostredníctvom štruktúrovaného rozhovoru alebo zo zdravotnej dokumentácie. Lieky boli následne posudzované podľa dostupnej odbornej literatúry s dôrazom na ich potenciál ovplyvňovať hladinu glykémie.

Kognitívne funkcie boli hodnotené pomocou testu kreslenia hodín (Clock Drawing Test, CDT). Pacient bol požiadaný nakresliť ciferník, doplniť čísla a vyznačiť polohu ručičiek podľa zadanej inštrukcie. Hodnotenie bolo uskutočnené podľa škály Shulmana (0 – 4 body), kde 0 predstavuje výrazne patologický výkon a 4 normálny nález (Ressner a Ressnerová, 2002). Všetky získané údaje boli zaznamenané do elektronickej databázy a následne spracované v programe Microsoft Excel. Pri spracovaní boli vypočítané priemerné hodnoty, najnižšie a najvyššie

Graf 1: Porovnanie prevalencie DM2 podľa pohlavia



zaznamenané hodnoty a ďalšie základné ukazovatele. Výsledky sú zobrazené v tabuľkách a grafoch. Rozdiely medzi pacientmi s DM2 a bez DM2 boli porovnávané pomocou jednoduchého porovnania priemerov a počtov.

## VÝSLEDKY

Do analýzy bolo zaradených spolu 47 pacientov. Skupinu DM2– (pacienti bez diagnózy DM2) tvorilo 24 osôb, zatiaľ čo skupinu DM2+ (pacienti s diagnostikovaným DM2) tvorilo 23 osôb.

### Porovnanie demografických parametrov medzi skupinami pacientov DM2– a DM2+

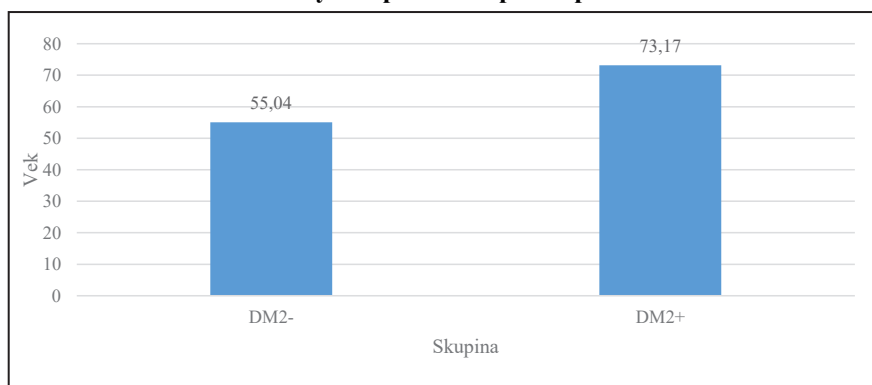
V skupine DM2– bolo zaradených 8 mužov a 16 žien. V skupine DM2+ bolo zaradených 14 mužov a 9 žien (graf 1).

Priemerný vek pacientov sa medzi sledovanými skupinami výrazne líšil. V skupine DM2– bol zaznamenaný priemerný vek  $55,04 \pm 3,07$  roka, zatiaľ čo v skupine DM2+ dosiahol priemerný vek  $73,17 \pm 6,12$  roka (graf 2).

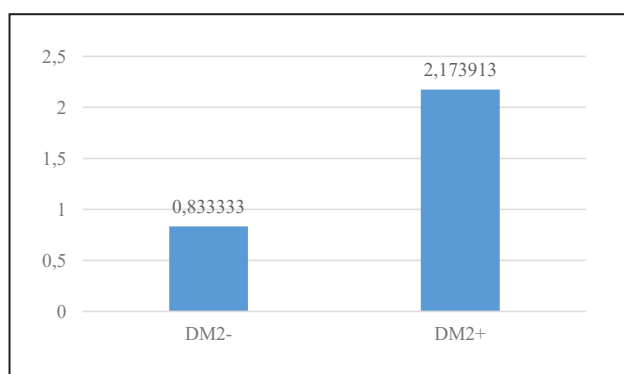
### Analýza komorbidít u pacientov s DM2

Priemerný počet komorbidít sa medzi sledovanými skupinami pacientov líšil. V skupine DM2– bol zaznamenaný priemerný počet komorbidít  $0,83 \pm 1,01$ , zatiaľ čo v skupine DM2+ dosiahol priemerný počet komorbidít hodnotu  $2,17 \pm 0,65$  (graf 3). Uvedené výsledky poukazujú na vyšší výskyt pridružených ochorení u pacientov s DM2.

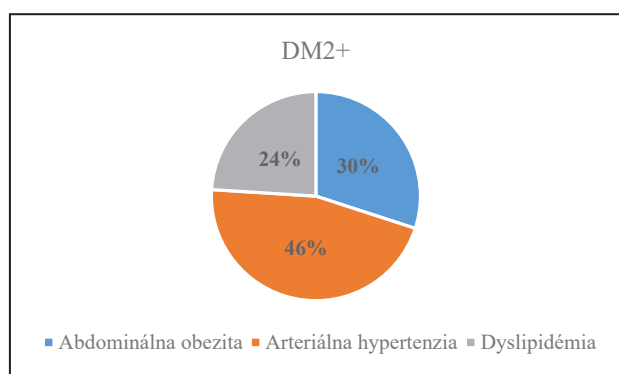
**Graf 2: Priemerný vek pacientov podľa prítomnosti DM2**



**Graf 3: Porovnanie priemerného počtu komorbidít medzi skupinou DM2+ a DM2–**



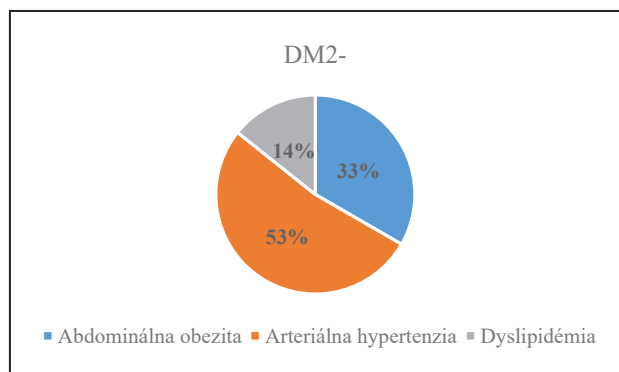
**Graf 4: Percentuálne zastúpenie jednotlivých komorbidít v skupine DM2+**



Výskyt jednotlivých komorbidít sa medzi sledovanými skupinami pacientov líšil. V skupine pacientov DM2+ bola najčastejšie zastúpená arteriálna hypertenzia, ktorá sa vyskytovala u 23 pacientov, nasledovaná abdominálnou obezitou u 15 pacientov a dyslipidémiou u 12 pacientov. V skupine pacientov DM2– bola najčastejšou komorbiditou arteriálna hypertenzia u 11 pacientov, následne abdominálna obezita u 7 pacientov a dyslipidémia u 3 pacientov. Uvedené hodnoty sú zobrazené v grafoch č. 4 a 5, ktoré znázorňujú percentuálne zastúpenie jednotlivých komorbidít v oboch sledovaných skupinách.

Rozloženie počtu komorbidít u pacientov s DM2 ukázalo, že najväčší podiel pacientov mal prítomné dve komorbidity (13 pacientov), nasledovaný pacientmi s tromi komorbiditami (7 pacientov). Jedna komorbidita bola zaznamenaná u 3 pacientov, pričom v sledovanom súbore sa nevyskytli pacienti bez komorbidít ani pacienti so štyrmi a viac komorbiditami (graf 6).

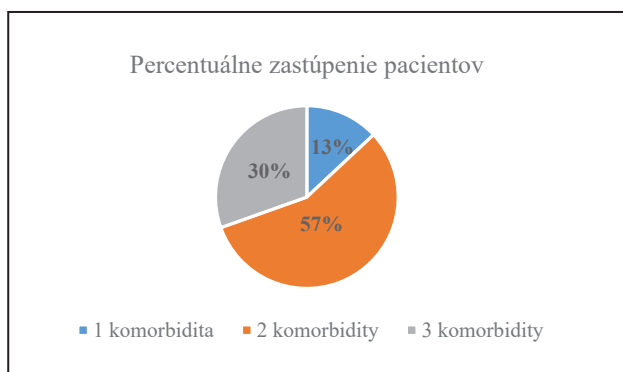
**Graf 5: Percentuálne zastúpenie jednotlivých komorbidít v skupine DM2–**



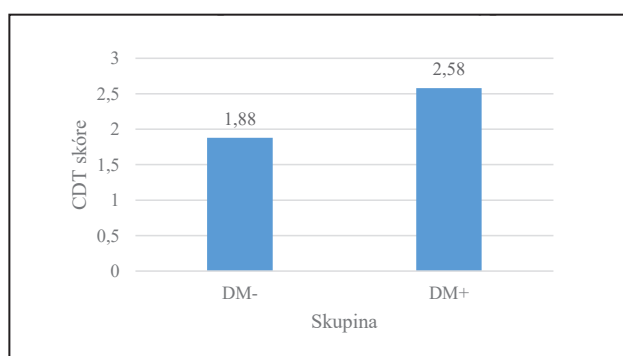
### Kognitívny profil pacientov s DM2 a bez DM2 na základe CDT testu

Hodnoty CDT skóre sa medzi sledovanými skupinami účastníkov výrazne líšili. V skupine pacientov bez diagnózy DM2 bolo zaznamenané priemerné CDT skóre  $1,88 \pm 0,95$ , zatiaľ čo v skupine pacientov s DM2 dosiahlo priemernú hodnotu  $2,58 \pm 1,26$ . Porovnanie oboch skupín zobrazuje

**Graf 6: Rozloženie počtu komorbidít u pacientov s DM2**



**Graf 7: Priemerné CDT skóre u pacientov s diabetom 2. typu a bez diabetu 2. typu**



graf č. 7, ktorý ilustruje rozdiel v priemernej úrovni kognitívneho výkonu hodnoteného pomocou CDT testu.

## DISKUSIA

*Diabetes mellitus* 2. typu predstavuje komplexné chronické metabolické ochorenie, ktoré je úzko prepojené s výskytom viacerých komorbidít a zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom. Cieľom štúdie bolo analyzovať vybrané charakteristiky pacientov s DM2 a porovnať ich s pacientmi bez diabetu, ako aj zhodnotiť význam farmaceutickej intervencie v podmienkach lekárenskej starostlivosti.

Výsledky sledovania preukázali, že pacienti s DM2 boli v priemere starší a mali vyšší počet komorbidít v porovnaní s nediabetickou skupinou. Dominantné zastúpenie arteriálnej hypertenzie, abdominálnej obezity a dyslipidémie korešponduje s definíciou metabolického syndrómu, ktorý je podľa odborných odporúčaní výrazným rizikovým faktorom rozvoja

DM2 a jeho komplikácií. Zároveň sa potvrdilo, že DM2 je ochorenie s významným systémovým dopadom, ktoré presahuje rámec samotnej hyperglykémie. Súčasné štandardné postupy zdôrazňujú potrebu včasnej identifikácie rizikových osôb a interdisciplinárnej spolupráce zdravotníckych pracovníkov vrátane farmaceuta (Matejka a kol., 2023). V tomto kontexte nadobúdajú výsledky tohto výskumu osobitný význam, keďže poukazujú na potenciál verejnej lekárne ako miesta pre skrining, edukáciu a podporu pacientov s DM2.

### Demografické charakteristiky pacientov s DM2 a bez diabetu

V sledovanom súbore bol priemerný vek pacientov s DM2 vyšší v porovnaní s pacientmi bez tejto diagnózy, čo je v súlade s poznatkami, že výskyt DM2 narastá predovšetkým vo vyšších vekových skupinách. Na Slovensku tvorí DM2 viac ako 90 % všetkých prípadov diabetu a najvyšší počet novodiagnostikovaných pacientov sa dlhodobo zaznamenáva vo vekových skupinách 60 – 79 rokov (NCZI, 2025). Tieto údaje potvrdzujú výraznú vekovú závislosť výskytu ochorenia. Podobný trend je pozorovaný aj v medzinárodnom kontexte. Podľa údajov Medzinárodnej diabetologickej federácie a Svetovej zdravotníckej organizácie dosahuje prevalencia DM v Európe približne 10 – 14 %, pričom výskyt ochorenia narastá s vekom populácie (Matejka a kol., 2023). Vek tak predstavuje jeden z najvýznamnejších neovplyvniteľných rizikových faktorov vzniku DM2. Vyšší vek pacientov s DM2 možno vysvetliť postupným rozvojom inzulínovej rezistencie a zhoršovaním funkcie  $\beta$ -buniek pankreasu, ako aj kumuláciou rizikových faktorov, medzi ktoré patrí obezita, arteriálna hypertenzia a dyslipidémia (Češka a kol., 2020). Tieto faktory sa často vyskytujú súbežne a ich spoločný výskyt je definovaný ako metabolický syndróm, ktorý predstavuje významný rizikový faktor rozvoja DM2 (Matejka a kol., 2023).

Pokiaľ ide o zastúpenie pacientov podľa pohlavia, v skupine pacientov s DM2 bol mierne vyšší podiel mužov v porovnaní so ženami. Epidemiologické

údaje však vo všeobecnosti poukazujú na relatívne podobnú prevalenciu DM medzi mužmi a ženami, hoci v jednotlivých regiónoch môžu existovať menšie rozdiely (Sun et al., 2022). Zistené zastúpenie podľa pohlavia možno preto interpretovať ako dôsledok charakteru malej lokálnej vzorky.

Z hľadiska lekárenskej praxe majú tieto demografické charakteristiky významné dôsledky. Starší pacienti s DM2 často trpia viacerými komorbiditami a užívajú viacero liekov, čo zvyšuje riziko polyfarmácie a liekových interakcií. V tejto súvislosti je významná úloha farmaceuta pri kontrole farmakoterapie, edukácii pacienta a podpore adherencie k liečbe (Matejka a kol., 2023).

### **Komorbidity u pacientov s DM2**

V sledovanom súbore pacientov s DM2 bol zaznamenaný vyšší počet komorbidít v porovnaní s pacientmi bez diabetu. Toto zistenie korešponduje s poznatkami, že DM2 je ochorenie, ktoré je úzko asociované s výskytom viacerých chronických ochorení, najmä arteriálnej hypertenzie, dyslipidémie a obezity. Uvedené ochorenia predstavujú hlavné komponenty metabolického syndrómu, ktorého prítomnosť významne zvyšuje riziko vzniku DM2, ako aj jeho komplikácií (Mokán a kol., 2021). Vyšší výskyt komorbidít u pacientov s DM2 možno vysvetliť spoločnými patofyziologickými mechanizmami, medzi ktoré patrí inzulínová rezistencia, chronický zápal a poruchy metabolizmu lipidov a glukózy. Kombinácia týchto faktorov vedie k postupnému rozvoju viacerých ochorení, ktoré sa často vyskytujú súbežne (Češka a kol., 2020). Podobné zistenia uvádzajú aj viaceré zahraničné štúdie, ktoré poukazujú na vysokú prevalenciu hypertenzie, dyslipidémie a obezity u pacientov s DM2 (Zhai et al., 2023; Lu et al., 2024). Z klinického hľadiska má vyšší počet komorbidít zásadný význam, keďže vedie k potrebe komplexnej farmakoterapie a k častému výskytu polyfarmácie. Polyfarmácia zvyšuje riziko vzniku liekových interakcií, nežiaducich účinkov a chýb v užívaní liekov, čo môže negatívne ovplyvniť kompenzáciu ochorenia a bezpečnosť liečby (Schneider et al., 2021).

V tomto kontexte zohráva farmaceut významnú úlohu pri pravidelnej kontrole farmakoterapie, identifikácii potenciálnych liekových problémov, edukácii pacienta a podpore adherencie k liečbe. Súčasné vedecké dôkazy poukazujú na to, že farmaceutické intervencie v oblasti liekového poradenstva a podpory self-manažmentu môžu prispieť k zlepšeniu kontroly glykémie a celkového zdravotného stavu pacientov s DM2 (Matejka a kol., 2023). Zistený vyšší počet komorbidít u pacientov s DM2 tak potvrdzuje potrebu individualizovaného a systematického prístupu k týmto pacientom, pričom farmaceut predstavuje dôležitý článok multidisciplinárneho tímu.

### **Kognitívne funkcie u pacientov s DM2**

V analyzovanom súbore dosiahli pacienti s DM2 mierne vyššie priemerné skóre v teste kreslenia hodín v porovnaní s pacientmi bez diabetu. Hoci literatúra poukazuje na zvýšené riziko kognitívneho poklesu u pacientov s DM2, tento nález môže byť ovplyvnený malým počtom sledovaných osôb, skríningovým charakterom použitého testu a prítomnosťou viacerých rušivých faktorov. Odborné zdroje však jednoznačne uvádzajú, že DM2 predstavuje významný rizikový faktor rozvoja kognitívnych porúch a demencie vo vyššom veku (Umegaki, 2014; Chen et al., 2025). Mechanizmy tohto vzťahu súvisia najmä s dlhodobou metabolickou dysreguláciou, cievnym poškodením a inzulínovou rezistenciou, ktoré môžu nepriaznivo ovplyvňovať mozgovú štruktúru (Chen et al., 2025). Z klinického hľadiska je však podstatné najmä to, že poruchy kognitívnych funkcií môžu znižovať schopnosť pacienta dodržiavať liečebný režim a efektívne sa podieľať na manažmente ochorenia. Súčasné štandardy preto odporúčajú venovať pozornosť hodnoteniu kognitívnych funkcií u starších pacientov s DM (ADA, 2024).

### **Význam farmaceutickej intervencie v starostlivosti o pacientov s DM2**

Výsledky analýzy poukazujú na skutočnosť, že pacienti s DM2 predstavujú rizikovú skupinu, ktorá je charakteristická vyšším vekom, častým výskytom

komorbidít a možnými zmenami kognitívnych funkcií. Tieto faktory spoločne vytvárajú zvýšené nároky na individuálny prístup k pacientovi a zdôrazňujú význam aktívnej farmaceutickej intervencie v rámci poskytovania lekárenskej starostlivosti. Vyšší vek a prítomnosť viacerých sprievodných ochorení sú často spojené s komplexnou farmakoterapiou a zvýšeným rizikom polyfarmácie. Farmaceut má v tomto kontexte dôležitú úlohu pri pravidelnej kontrole liekovej terapie, identifikácii potenciálnych liekových interakcií, duplicit v liečbe a hodnotení vhodnosti dávkovania. Súčasne môže farmaceut aktívne prispievať k zvyšovaniu bezpečnosti liečby prostredníctvom včasného rozpoznania liekových problémov (Hughes et al., 2017).

Možné poruchy kognitívnych funkcií u starších pacientov s DM2 môžu negatívne ovplyvňovať schopnosť pacienta porozumieť liečebnému režimu a dodržiavať odporúčania zdravotníckych pracovníkov. Farmaceut preto zohráva dôležitú úlohu pri poskytovaní zrozumiteľnej a individualizovanej edukácie, overovaní porozumenia pacienta a podpore adherencie k liečbe (ADA, 2024).

Zásadnú oblasťou farmaceutickej starostlivosti je aj skrining rizikových osôb vo verejných lekárnach. Štandardné postupy umožňujú farmaceutom realizovať skriningové vyšetrenia zamerané na včasnú identifikáciu rizikových pacientov a poskytovať im odborné poradenstvo, čím môžu prispieť k skorému záchytu ochorenia a k ďalšiemu smerovaniu pacienta v rámci zdravotníckeho systému (Matejka a kol., 2023). Zistené výsledky potvrdzujú prínos farmaceuta, aktívneho člena multidisciplinárneho tímu, ktorý sa podieľa na prevencii, včasnej identifikácii rizikových pacientov a optimalizácii farmakoterapie s cieľom zlepšiť kompenzáciu ochorenia a kvalitu života pacientov s DM2.

## **ZÁVER**

Cieľom štúdie bolo analyzovať vybrané charakteristiky pacientov s DM2 v porovnaní s pacientmi bez diabetu, zhodnotiť výskyt komorbidít, kognitívny

profil sledovaného súboru a poukázať na význam úlohy farmaceuta pri poskytovaní lekárenskej starostlivosti. Výsledky práce potvrdili, že pacienti s DM2 boli v priemere starší a mali vyšší počet komorbidít v porovnaní so skupinou bez DM2. V skupine DM2+ dominovala arteriálna hypertenzia, nasledovaná abdominálnou obezitou a dyslipidémiou, pričom väčšina pacientov mala prítomné dve až tri komorbidity. Tieto zistenia poukazujú na komplexný charakter ochorenia a potrebu multidisciplinárneho prístupu v jeho manažmente. Hodnotenie kognitívnych funkcií pomocou testu kreslenia hodín naznačilo rozdiely medzi sledovanými skupinami, čo podporuje závery odborných štúdií o možnej súvislosti medzi DM2 a kognitívnym poklesom. Aj keď výsledky nemožno vzhľadom na veľkosť súboru generalizovať na celú populáciu, poukazujú na význam včasnej identifikácie rizikových pacientov. Zistené výsledky navyše zdôrazňujú význam farmaceuta ako dostupného zdravotníckeho pracovníka, ktorý môže aktívne prispievať k optimalizácii farmakoterapie, identifikácii liekových interakcií, podpore adherencie k liečbe a realizácii preventívnych a skriningových aktivít v prostredí verejnej lekárne. Farmaceutická starostlivosť tak predstavuje dôležitý článok v komplexnom manažmente pacientov s DM2.

## **Konflikt záujmov**

Autori pre túto štúdiu neudávajú konflikt záujmov.

## **Použitie nástrojov umelej inteligencie**

Autori nepoužili nástroje generatívnej umelej inteligencie.

## **Etické aspekty**

Štúdia bola vykonaná v súlade so všetkými etickými predpismi potrebnými pre jej vypracovanie.

## **Financovanie**

Na túto štúdiu nebolo potrebné financovanie.

## **Príspevky autorov**

Barabášová Nikola – konceptualizácia, výskum,

spracovanie údajov, zdroje; Mačková Zuzana – konceptualizácia, metodika, formálna analýza; Krivošová Michaela – revízia textu; Gazdová Mária – konceptualizácia, formálna analýza; Laca Megyesi Štefánia – revízia textu

## ZOZNAM LITERATÚRY

American Diabetes Association Professional Practice Committee: Older Adults: Standards of Care in Diabetes – 2024. *Diabetes Care*, 2024, 47, suppl. 1, S244 – S257. DOI: 10.2337/dc24-S013.

American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes – 2025. *Diabetes Care*, 2025, 48, suppl. 1. Dostupné na internete: [https://diabetesjournals.org/care/issue/48/Supplement\\_1](https://diabetesjournals.org/care/issue/48/Supplement_1).

Češka, R., Štulc, T., Tesar, V., Lukáš, M. (Eds.): *Interna. Svazek 1*. 3. vyd., Praha, Stanislav Juhaňák – Triton, 2020, ISBN 978-80-7553-782-9.

Dal Canto, E., Ceriello, A., Rydén, L., Ferrini, M., Hansen, T. B., Schnell, O., Standl, E., Beulens, J. W. J.: Diabetes as a cardiovascular risk factor: an overview of global trends of macro and micro vascular complications. *Eur. J. Prev. Cardiol.*, 2019, 26 (2), 25 – 32.

Davies, M. J., D'Alessio, D. A., Fradkin, J., Kernan, W. N., Mathieu, C., Mingrone, G. et al.: Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018: A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*, 2018, 41 (12), 2669 – 2701. DOI: 10.2337/dci18-0033.

Fábryová, Ľ.: Obezita, *diabetes mellitus* (diabetes) a kardiovaskulárne ochorenia: nebezpečná metabolická triáda. *Forum Diabetol.*, 2019, 8 (3), 178 – 183.

Hughes, J. D., Wibowo, Y., Sunderland, B., Hoti, K.: The role of the pharmacist in the management of type 2 diabetes: current insights and future directions. *Integr. Pharm. Res. Pract.*, 2017, 6, 15 – 27. DOI: 10.2147/IPRP.S103783.

Chen, X., Huang, Y., Xiong, X.: Mechanisms underlying cognitive impairment and manage-

ment strategies in type 2 diabetes. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2025, 16, art. 1655768. DOI: 10.3389/fendo.2025.1655768.

Khunti, N., Willis, A., Davies, M., Khunti, K.: The role of pharmacists in the management of type 2 diabetes: A literature review. *Diabetes Primary Care*, 2013, 15 (3), 131 – 140.

Lu, X., Xie, Q., Pan, X., Zhang, R., Zhang, X., Peng, G., Zhang, Y., Shen, S., Tong, N.: Type 2 *diabetes mellitus* in adults: pathogenesis, prevention and therapy. *Signal Transduct. Target. Ther.*, 2024. DOI: 10.1038/s41392-024-01951-9.

Matejka, P., Jeník P., Snopková M., Sukeľ O., Jauschová A., Mačková Z. a kol.: *Štandardný postup pre výkon skríningu porúch glukózového metabolizmu a diabetes mellitus 2. typu v podmienkach verejných lekární*. Bratislava, Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky, 2023.

Mokáň, M., Galajda P., Martinka E., Bukovská A.: *Odporúčania pre prevenciu diabetes mellitus 2. typu. Štandardný postup č. 028*. Bratislava, Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky, 2021.

Národné centrum zdravotníckych informácií: *Činnosť diabetologických ambulancií v Slovenskej republike 2024*. Bratislava, NCZI, 2025. Dostupné na internete: [https://data.nczisk.sk/statistiky\\_vystupy/Diabetologia/Cinnost\\_diabetologickych\\_ambulancií\\_v\\_SR\\_2024.pdf](https://data.nczisk.sk/statistiky_vystupy/Diabetologia/Cinnost_diabetologickych_ambulancií_v_SR_2024.pdf).

Ressner, P., Ressnerová, E.: Test hodin, prehľadná informácie a zhodnocení škál dle Shulmana, Sunderlanda a Hendriksena. *Neurol. pro Praxi*, 2002, 3 (6), 316 – 322. ISSN 1339-4223.

Schneider, K. M., O'Donnell, B. E., Dean, D.: Polypharmacy in older adults with multimorbidity: a narrative review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, 18 (11), art. 5779.

Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B. et al.: IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2022, 183, art. 109119. DOI: 10.1016/j.diabres.2021.109119.

Zhai, Z., Yang, Y., Lin, G., Lin, W., Wu, J.,

Liu, X., Zhang, S., Zhou, Q., Liu, H., Guang, H.: The factors analysis of glycemic control. *Diabetol. Metab. Syndr.*, 2023, 15, art. 73.

hypertension and hyperlipidemia status among type 2 diabetic patients in the community and influencing

## 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**. Ak rukopis nesplňuje 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), adrenalin/liekopis (nie epinefrín/INN), hydroxykarbamin (nie hydroxyurea), kromoglykán (nie chromoglykán), cholestyramín (nie colestyramín, kolestyramín), lítium (lithium), manitol (nie mannitol).

Latinské termíny sa píše 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 čierobielej 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 šípku 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 obrázky).

**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 vyvedené 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. Oddelujú sa bodkočiarkou.

### ÚVOD

Uvádza sa stručný prehľad problematiky. Namiesto podrobného literárneho prehľadu je vhodnejšie sústrediť sa na striktné 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 zdroj je 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 duplicitu 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

d'alší 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., Mit'kina, 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.

Podczek, 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.

### PREHLADOVÉ 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 kazuistik je nasledovná:

**NÁZOV/AUTORI** – názov (aj v angličtine) má byť stručný a informatívny.

**ABSTRAKT** (v angličtine) – skrátaná 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 rozboru 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*