



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

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

Číslo 2/2024
Ročník XXIX.



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry
Recenzovaný časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 2/2024

Ročník XXIX.

PRESEDA REDAKČNEJ RADY

Hedviga Pivovarníková

ODBORNÝ REDAKTOR

Oliver Rác

REDAKČNÁ RADA

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

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

AKO OVPLYVNĽUJÚ PREANALYTICKÉ CHYBY VAŠE LABORATÓRIUM?



Ako identifikovať až 70 % najčastejších preanalytických chýb za 3 sekundy? Zoznámte sa s automatizovanou linkou **DxA 5000 Fit**.

DxA 5000 Fit - inteligentná automatizácia pre stredne veľké laboratória

Viac na [BeckmanCoulter.com/DxA5000Fit](https://www.beckmancoulter.com/DxA5000Fit)



OBSAH

ÚVODNÍK

PRÍHOVOR PREZIDENTKY SSKB	9
Beáta Hubková: Doc. MUDr. Oliver Viktor Rác, laureát Ceny profesora Ivana Pecháňa	11
Oliver Viktor Rác: Integrácia vedeckých poznatkov do každodennej medicíny očami patofyziológa	15

ABSTRAKTY

Snežana Jovičič: Transformácia klinických laboratórií k digitalizácii	22
Vladimír Soška: Jak interpretovat výsledky analýzy krevních lipidů a lipoproteinů	24
Jozef Turay: Dyslipoproteinémia a ateroskleróza od začiatku po diagnostické novinky	27
Peter Minárik: Diétné stratégie pri manažmente dyslipoproteinémií a pri prevencii kardio-vaskulárnych chorôb	29
Janka Franeková, Tomáš Freiberg, Antonín Jabor: Familiárny hypercholesterolémie - fenotyp versus genotyp	32
Alena Vasilenková, Lenka Poláková, Katarína Schenková, Claudia Šebová: Pediatrické laboratórium: Špeciálne potreby pre špeciálnych pacientov	34
Claudia Šebová, Anna Šalingová, Mária Ostrožlíková, Simona Tárnoková, Matúš Prídavok, Katarína Lászlóvá, Danka Maceková, Katarína Schenková, Filip Mičev, Lucia Slabá, Darina Schich Behúlová, Anna Hlavatá: Biochemická genetika v Centre dedičných metabolických porúch Národného ústavu detských chorôb	37
Matúš Prídavok, Katarína Lászlóvá, Danka Maceková, Anna Šalingová, Simona Tárnoková, Anna Hlavatá, Jana Šaligová, Claudia Šebová: Tandemová hmotnostná spektrometria a problematika dedičných metabolických porúch	39
Anna Šalingová, Zuzana Pakanová, Marek Nemčovič, Claudia Šebová, Katarína Schenková, Anna Hlavatá, Katarína Juričková, Katarína Brennerová, Mária Matulová, Iveta Uhliariková, Filip Pančík, Rebeka Kodríková, Maroš Krchňák, Peter Baráth: Prínos MALDI-TOF/MS analýz v diagnostike dedičných metabolických porúch - projekt GlycoRare	41
Pavel Malina: Multimarkerová stratégia pri diagnostice zánčlivých a septických stavů se zaměřením na Interleukin-6	44
Jozef Firment: Dynamika hodnôt PCT pri septických a zápalových stavoch	46
Helena Lahoda Brodská: Markery zánčtu – nedílná súčasť antimikrobiálneho stewardshipu	49
Václava Adámková: Antimikrobiální stewardship v klinické praxi	51
Eubomíra Romanová: COVID-19, long COVID a autoimunita	53
Lukáš Palivec: Beckman Coulter – strategie, cíle, lidé	55
Jozefína Bernátová: Inovácie Beckman Coulter	57
Alena Tichá, Tereza Tietze, Eva Drncová: Naše cesta k DxI 9000 v rutinním provozu aneb co nám DxI 9000 dalo a vzalo	58
Katarína Babinská: Problematika nutričnej terapie u vybraných diagnóz	60
Krivos Juraj: Pohľad Slovenskej spoločnosti pre parenterálnu a enterálnu výživu na prax nutričnej terapie	62
Klaudia Šugrová, Jana Berecová Titková, Laura Berecová: Nutričná terapia v praxi a jej problémy	64
Ivan Bernát: Aktuálny legislatívny rámec oblasti diagnostických zdravotníckych pomôcok in vitro	67
Jozef Ševcech: Kapilárna elektroforéza: Nájde si miesto na Slovensku?	68
Petr Suchan: Naplnila laboratorní automatizace očekávání a cíle?	69
Jaroslav Racek: Může nám dieta ublížit?	70

Katarína Laurenčíková, Eubica Krajnáková: Úskalia interpretácie výsledkov zápalových parametrov u pacienta s adenokarcinómom pľúc.....	72
Katarína Schenková, Simona Tárnová, Katarína Brennerová, Vladimír Bzdúch, Jana Šaligová, Anna Šalingová, Matúš Prídavok, Katarína Lászlová, Renáta Górová, Jana Lisiová, Róbert Petrovič, Claudia Šebová: Sú dedičné metabolické poruchy len problém pediatrov?	73
Anna Dobišová, Ivan Pecháň: Metformín: Kedy by sme sa mali obávať laktátovej acidózy?	75
Peter Sečník: Nie je kortizol ako kortizol	78
Daniel Čierny, Lenka Plicová, Stanislava Suroviaková, Peter Bánovčín, Dušan Dobrota: Atypický likvorologický nález u pacientky s aseptickou meningitídou po liečbe NMDAR encefalítidy	80
Lukáš Plank: Úloha molekulovej patológie v personalizovanej diagnostike onkologických pacientov - jej možnosti a limity	82
Drahomíra Springer, Veronika Kučerová: Zapojení POCT systémů do diagnostického procesu v nemocnici	85
Lenka Poláková, Alena Vasilenková, Claudia Šebová: 23 rokov decentralizovanej medicíny v Národnom ústave detských chorôb	88
Jana Strigáčová, Zuzana Gallová: POC testy v nemocničnej praxi. Praktické skúsenosti	90
Ján Balla: Domáce spotrebiteľské testy	92
Matúš Prídavok, Dana Dobešová, Radana Brumarová, Katarína Brennerová, Jana Šaligová, David Friedecký, Claudia Šebová: Metabolická štúdia pacientov s deficitom TMEM70 a acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselín s krátkym reťazcom.....	97
Daniel Magula, Gabriela Vaverková, Silvia Vinklerová, Gabriela Chowaniecová: Vysoké hladiny B12 - marker prognózy u onkologických pacientov?	99
Anna Dobišová, Michaela Kopčová, Magda Suchánková, Elena Tibenská, Kinga Szaboová, Katarína Vlniešková, Ivan Pecháň, Juraj Koutun, Mária Bucová: Deficit vitamínu D: podceňovaný prediktívny rizikový faktor v sepe? .	102
Lenka Ramajová, Jana Lučeničová, Peter Božek: Ionizovaný vápnik priamym meraním alebo výpočtom? Porovnanie metódik.	104
Štefan Hajzer: Laboratórne stanovenie nekonjugovaného bilirubínu v sére novorodencov. Zlatý štandard neonatológov?.....	106
Michal Cibulka, Mária Brodňanová, Milan Grofik, Eubica Jesenská, Jela Schudichová, Daniel Čierny, Dušan Dobrota, Martin Kolisek: Plazmatické markery horčikovej homeostázy u pacientov s Parkinsonovou chorobou.....	109
Katarína Paľuvová, Mária Škereňová, Monika Turčanová Koprušáková, Bibiana Malicherová, Michal Cibulka, Lenka Plicová, Daniel Čierny, Jela Schudichová, Dušan Dobrota: Dôležitosť genotypizácie tiopurín-S-metyltransferázy (TPMT) pred podaním imunosupresívnej liečby.....	111
Bibiana Malicherová, Katarína Paľuvová, Lenka Plicová, Michal Cibulka, Daniel Čierny, Jela Schudichová, Dušan Dobrota: Genetická hemochromatóza, jedna príčina, viac ochorení	113
Eubica Jesenská, Miroslava Šimeková, Nataša Karaffová, Daniel Čierny, Dušan Dobrota: Terapeutické monitorovanie imunosupresív, validácia analytických výkonových kritérií.....	114
Lenka Plicová, Eubica Jesenská, Dušan Dobrota, Jela Schudichová, Romana Rástočná, Filip Rechterík: Stanovenie koncentrácie citrátov a oxalátov v moči pri metafylaxii urolitiázy	116
Mária Škereňová, Jozef Michalik, Lenka Plicová, Miroslava Šimeková, Daniel Čierny, Dušan Dobrota: Naše skúsenosti s izoelektrickou fokusáciou oligoklonálnych imunoglobulínov v likvore	118
Lenka Hrobárová, Viera Kupčová, Marcel Repiský, Monika Ďurfinová, Martin Prievalský, Milada Laššánová, Eva Uhlíková, Ladislav Turecký: Zmena zloženia mastných kyselín v sére pacientov s nealkoholovou tukovou chorobou pečene – diabetikov a nediatetikov	120
Lenka Nemcová, Monika Ďurfinová, Štefan Laššán, Eva Uhlíková, Viera Kupčová, Ladislav Turecký: Aktivita butyrylcholinesterázy v sére pacientov s COVID-19	122
Jana Varhačová, Renáta Šmilňáková, Františka Puškášová: Praktické skúsenosti s analyzátorom Evidence MultiSTAT v klinickom laboratóriu.....	124

Gabriela Sabolová, Ladislav Kočan, Miroslava Rabajdová, Janka Vašková: Pilotná štúdia biochemických parametrov u pacientov podstupujúcich kardiochirurgický výkon vo vzťahu k vybraným ochoreniam.....	126
Peter Artimovič, Eva Kriváková, Zuzana Badovská, Miroslava Rabajdová, Mária Mareková: Integrácia voľne dostupných transkriptomických dát v analýze receptivity endometria.....	129
Katarína Vlniešková, Lucia Nagyová, Miroslava Kamenská, Adela Svitková: Abúzus vybraných omamných látok v populácii mládeže v Bratislavskom kraji.....	132
Peter Minárik: Nealkoholická tuková choroba pečene (NAFLD) a extrahepatálne zhubné nádory.....	134
Veronika Mrázová, Mária Zuzulová, Jana Jarčušková, Miriam Mikušová, Ingrid Kultánová, Lucia Májovská: Moderná laboratórna diagnostika porúch fagocytózy.....	136
Mária Zuzulová, Jana Jarčušková, Veronika Mrázová, Adriana Číková, Martin Hrubíško: Význam diagnostiky selektívneho deficitu IgA.....	138

VEDECKÉ PRÁCE

Katarína Orešanská, Lenka Nemcová, Anna Dobišová, Ladislav Turecký, Monika Ďurfinová: Dynamika zmien parametrov oxidačného stresu u pacientov so SIRS.....	140
Silvia Mihóková, Peter Urdzík, Miroslava Rabajdová: Analýza zmeny expresie vybraných nekódujúcich RNA molekúl v patológiách reprodukčného systému a ich potenciálne využitie v laboratórnej diagnostike.....	146
Matúš Čoma: Analýza migrácie T-lymfocytov pomocou prietokovej cytometrie.....	154

PREHLADOVÉ ČLÁNKY

Antonín Jabor, Janka Franeková: Vnitřní prostředí, tekutinová strategie a sepse.....	159
Vladimír Heriban: Nový koncept práce nutričného terapeuta v systéme zdravotnej starostlivosti.....	167
Peter Chlebo, Ingrid Garajová, Mária Servátková, Zuzana Chlebová, Gabriela Vaverková, Silvia Vinklerová, Daniel Magula: Biochemické markery metabolizmu a výživy kriticky chorých pacientov.....	171
Peter Minárik, Daniela Mináriková: Od obezity k rakovine – cesty, mechanizmy, riziká.....	180
Ján Balla: POCT. Testovanie pri pacientovi; II. Stratégia implementácie POC testovania v zdravotníckych zariadeniach.....	187
Dušan Lipták, Rastislav Zanolit, Ján Kaňuch, Ján Balla: Dotazníkový prieskum point-of-care testovania medzi všeobecnými lekármi Slovenska.....	207

HISTÓRIA KLINICKEJ BIOCHÉMIE

Hedviga Pivovarníková: História Oddelenia klinickej biochémie vo Fakultnej nemocnici J.A.Reimana v Prešove.....	217
Jozef Turay: Sekcia pre aterosklerózu pri SSKB má 30 rokov.....	226

CONTENT

EDITORIAL

SSKB PRESIDENT MESSAGE	9
------------------------------	---

Beáta Hubková: Doc. MUDr. Oliver Viktor Rácz, mim prof., laureát Ceny profesora Ivana Pecháňa	11
--	----

Oliver Viktor Rácz: Integration of scientific knowledge into everyday clinical medicine as seen from a pathophysiologist.....	15
--	----

ABSTRACTS

Snežana Jovičič: The transformation of clinical laboratories towards digitalization	22
--	----

Vladimír Soška: How to interpret the results of blood lipid and lipoprotein analysis.....	24
--	----

Jozef Turay: Dyslipoproteinemia and atherosclerosis - from the beginning to diagnostic novelties	27
---	----

Peter Minárik: Dietary strategies in the management of dyslipidemias and in the prevention of cardiovascular diseases.....	29
---	----

Janka Franeková, Tomáš Freiburger, Antonín Jabor: Familial hypercholesterolemia - phenotype versus genotype	32
--	----

Alena Vasilenková, Lenka Poláková, Katarína Schenková, Claudia Šebová: The Pediatric Laboratory: Special Needs for Special Patients.....	34
--	----

Claudia Šebová, Anna Šalingová, Mária Ostrožlíková, Simona Tárnoková, Matúš Prídavok, Katarína Lászlóvá, Danka Maceková, Katarína Schenková, Filip Mičev, Lucia Slabá, Darina Schich Behúlová, Anna Hlavatá: Biochemical genetic testing in the Centre of inherited metabolic diseases of National Institute of Children's Diseases.....	37
--	----

Matúš Prídavok, Katarína Lászlóvá, Danka Maceková, Anna Šalingová, Simona Tárnoková, Anna Hlavatá, Jana Šaligová, Claudia Šebová: Tandem mass spectrometry and inherited metabolic disorders.....	39
--	----

Anna Šalingová, Zuzana Pakanová, Marek Nemčovič, Claudia Šebová, Katarína Schenková, Anna Hlavatá, Katarína Juričková, Katarína Brennerová, Mária Matulová, Iveta Uhliariková, Filip Pančík, Rebeka Kodríková, Maroš Krchňák, Peter Baráth: The contribution of MALDI-TOF/ MS analyzes in the diagnosis of inherited metabolic disorders - the GlycoRare project.....	41
---	----

Pavel Malina: A Multimarker Strategy in the Diagnosis of Sepsis and Inflammation, Focusing on Interleukin-6.....	44
---	----

Jozef Firment: Dynamics of PCT Values in Septic and Inflammatory Conditions	46
--	----

Helena Lahoda Brodská: Markers of Inflammation – an Essential Part of Antimicrobial Stewardship	49
--	----

Václava Adámková: Antimicrobial Stewardship in Clinical Practice	51
---	----

Eubomíra Romanová: COVID-19, long COVID and autoimmunity	53
---	----

Lukáš Palivec: Beckman Coulter – Strategy, Targets, People	55
---	----

Jozefína Bernátová: Beckman Coulter Innovations	57
--	----

Alena Tichá, Tereza Tietze, Eva Drncová: Our Way to DxI 9000 in Routine Operation or What DxI 9000 Gave and Took Away From Us.....	58
--	----

Katarína Babinská: Problems of Nutritional Therapy in Selected Diagnoses.....	60
--	----

Krivuš Juraj: The view of the Slovak Society for Parenteral and Enteral Nutrition on the practice of nutritional therapy	62
---	----

Klaudia Šugrová, Jana Berecová Titková, Laura Berecová: Nutritional therapy in practice and its problems.....	64
--	----

Ivan Bernát: Current Legislative Framework in the Field of Diagnostic Medical Devices in vitro	67
---	----

Jozef Ševcech: Capillary electrophoresis: Will it find a place in Slovakia?.....	68
---	----

Petr Suchan: Has the automation of laboratories met expectations and objectives?.....	69
--	----

Jaroslav Racek: Can Diet Harm Us?	70
--	----

Katarína Laurenčíková, Ľubica Krajnáková: The difficulties of interpreting the results of inflammatory parameters in a patient with lung adenocarcinoma	72
Katarína Schenková, Simona Tárnoková, Katarína Brennerová, Vladimír Bzdúch, Jana Šaligová, Anna Šalingová, Matúš Prídavok, Katarína Lászlová, Renáta Górová, Jana Lisyová, Róbert Petrovič, Claudia Šebová: Are inherited metabolic disorders just a problem for pediatricians?	73
Anna Dobišová, Ivan Pecháň: Metformin: When should we fear lactic acidosis?.....	76
Peter Sečník: There is no cortisol like cortisol.....	78
Daniel Čierny, Lenka Plicová, Stanislava Suroviaková, Peter Bánovčín, Dušan Dobrota: Atypical CSF Findings in a Patient with Aseptic Meningitis after Treatment of NMDAR Encephalitis.....	80
Lukáš Plank: The Role of Molecular Pathology in the Personalized Diagnostics of Oncological Patients - Its Availability and Limits	82
Drahomíra Springer, Veronika Kučerová: Integration of POCT Systems into the Hospital Diagnostic Process	85
Lenka Poláková, Alena Vasilenková, Claudia Šebová: 23 years of decentralised medicine at National Institute of Children's Diseases.....	87
Jana Strigáčová, Zuzana Gallová: POC tests in the hospital. Practical experience	90
Ján Balla: DIRECT-TO-CONSUMER TESTING	92
Matúš Prídavok, Dana Dobešová, Radana Brumarová, Katarína Brennerová, Jana Šaligová, David Friedecký, Claudia Šebová: Metabolomic study of patients with TMEM70 deficiency and short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency	97
Daniel Magula, Gabriela Vaverková, Silvia Vinklerová, Gabriela Chowanecová: High B ₁₂ levels - prognostic marker in oncology patients?	99
Anna Dobišová, Michaela Kopčová, Magda Suchánková, Elena Tibenská, Kinga Szaboová, Katarína Vlniešková, Ivan Pecháň, Juraj Koutun, Mária Bucová: Vitamin D deficiency: An underestimated predictive risk factor in sepsis?.....	102
Lenka Ramajová, Jana Lučeničová, Peter Božek: Ionized calcium by direct measurement or calculation? Comparison of methodologies.	104
Štefan Hajzer: Laboratory determination of unconjugated bilirubin in sera of newborns. Gold standard for neonatologists?	106
Michal Cibulka, Mária Brodňanová, Milan Grofik, Ľubica Jesenská, Jela Schudichová, Daniel Čierny, Dušan Dobrota, Martin Kolísek: Plasmatic markers of magnesium homeostasis in patients with Parkinson's disease	109
Katarína Paľuvová, Mária Škereňová, Monika Turčanová Koprušáková, Bibiana Malicherová, Michal Cibulka, Lenka Plicová, Daniel Čierny, Jela Schudichová, Dušan Dobrota: Importance of Thiopurine-S-methyltransferase (TPMT) Genotyping before Administration of Immunosuppressive Therapy	111
Bibiana Malicherová, Katarína Paľuvová, Lenka Plicová, Michal Cibulka, Daniel Čierny, Jela Schudichová, Dušan Dobrota: Genetic hemochromatosis, one cause, multiple diseases.....	113
Ľubica Jesenská, Miroslava Šimeková, Nataša Karaffová, Daniel Čierny, Dušan Dobrota: Therapeutic monitoring of immunosuppressant, validation of analytical criteria	114
Lenka Plicová, Ľubica Jesenská, Dušan Dobrota, Jela Schudichová, Romana Rástočná, Filip Rehtorík: Determination of citrate and oxalate concentrations in urine in metaphylaxis of urolithiasis.....	116
Mária Škereňová, Jozef Michalík, Lenka Plicová, Miroslava Šimeková, Daniel Čierny, Dušan Dobrota: Our experience with isoelectric focusing of oligoclonal immunoglobulins in cerebrospinal fluid.....	118
Lenka Hrobárová, Viera Kupčová, Marcel Repiský, Monika Ďurfinová, Martin Prievalský, Milada Laššánová, Eva Uhlíková, Ladislav Turecký: Changes in the spectrum of serum fatty acids of patients with non-alcoholic fatty liver disease – diabetics and non-diabetics.....	120
Lenka Nemcová, Monika Ďurfinová, Štefan Laššán, Eva Uhlíková, Viera Kupčová, Ladislav Turecký: Activity of butyrylcholinesterase in sera of patients with COVID-19.....	122

Jana Varhačová, Renáta Šmilňáková, Františka Puškášová: Hands-on experience with Evidence MultiSTAT analyzer in the clinical laboratory	124
Gabriela Sabolová, Ladislav Kočan, Miroslava Rabajdová, Janka Vašková: Pilot study of biochemical parameters in patients undergoing cardiac surgery in relation to selected diseases	126
Peter Artimovič, Eva Kriváková, Zuzana Badovská, Miroslava Rabajdová, Mária Mareková: Integration of publicly available transcriptomic data in the analysis of endometrial receptivity	129
Katarína Vlniešková, Lucia Nagyová, Miroslava Kamenská, Adela Svitková: Abuse of selected narcotic substances in the youth population in the Bratislava region	132
Peter Minárik: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and extrahepatic malignancies	134
Veronika Mrázová, Mária Zuzulová, Jana Jarčušková, Miriam Mikušová, Ingrid Kultánová, Lucia Májovská: Modern laboratory diagnostics of phagocytosis disorders	136
Mária Zuzulová, Jana Jarčušková, Veronika Mrázová, Adriana Číková, Martin Hrubíško: The significance of diagnosing selective IgA deficiency	138

ORIGINAL RESEARCH MANUSCRIPTS

Katarína Orešanská, Lenka Nemcová, Anna Dobišová, Ladislav Turecký, Monika Ďurfinová: Dynamics of Changes in Oxidative Stress Parameters in Patients with SIRS	140
Silvia Mihóková, Peter Urdzík, Miroslava Rabajdová: Analysis of changes in the expression of selected non-coding RNA molecules in pathologies of the reproductive system and their potential use in laboratory diagnostics	146
Matúš Čoma: Flow cytometric analysis of T cell migration.....	154

REVIEWS

Antonín Jabor, Janka Franeková : „Milieu interieur“, fluid stewardship, and sepsis.....	159
Vladimír Heriban: New Work Concept of Nutritional Therapist in the Health Care System.....	167
Peter Chlebo, Ingrid Garajová, Mária Servátková, Zuzana Chlebová, Gabriela Vaverková, Silvia Vinklerová, Daniel Magula: Biochemical markers of metabolism and nutrition of critically ill patients	171
Peter Minárik, Daniela Mináriková: From obesity to cancer - pathways, mechanisms, risks.....	180
Ján Balla: Point-of-care testing. II. Strategy for implementing POC testing in healthcare facilities	187
Dušan Lipták, Rastislav Zanolit, Ján Kaňuch, Ján Balla: Questionnaire survey of point-of-care testing among general practitioners in Slovakia.....	207

HISTORY OF CLINICAL BIOCHEMISTRY

Hedviga Pivovarníková: History of the Department of Clinical Biochemistry at the J.A.Reiman University Hospital in Prešov	217
Jozef Turay: Slovak Atherosclerotic Section of the Slovak Society of Clinical Biochemistry is 30 years old	226



ÚVODNÍK

*Vážené a milé kolegyně a kolegovia,
vážení členovia Slovenskej spoločnosti klinickej bioché-
mie!*

*S poteším píšem tieto riadky, ktoré však nevystihnú
všetko úsilie, námahu, čas, trpezlivosť, odbornosť, snahu
odovzdávať svoje znalosti a skúsenosti, ktoré venovali
nielen členovia výboru Slovenskej spoločnosti klinickej
biochémie (SSKB) a členovia redakčnej rady pri zostavo-
vaní časopisu, ale aj všetci jeho prispievatelia, podporova-
telia, a ktoré sú obsahom práve tohto tzv. kongresového
čísła nášho odborného časopisu „Laboratórna diagnostika
2/2024“.*

*Tohtoročný XV. Kongres SSKB, ktorý sa koná v hoteli
Chopok v malebnom prostredí Demänovskej Doliny nášho
krásneho Slovenska je významný aj tým, že sa odovzdáva
Cena profesora Ivana Pecháňa, popredného slovenského
vedca, pedagóga, lekára a klinického biochemika, ktorá je
udeľovaná na najvýznamnejšom odbornom podujatí v od-
bore klinická biochémia, akým je Kongres Slovenskej spo-
ločnosti klinickej biochémie, a to raz za dva roky.*

*Cena profesora Ivana Pecháňa podporuje zvyšovanie
a prehlbovanie profesionálnej úrovne, rozvoj vedeckej
a odbornej úrovne a oceňuje všeobecne uznávané špič-
kové výsledky vynikajúcej, dlhodobej odbornej, pedago-
gickej, vedeckej a výskumnej činnosti, publikačnú a pred-
náškovú aktivitu v odbore klinickej biochémie a zásluhy
o budovanie a rozvoj klinickej biochémie a laboratórnej
diagnostiky in vitro. Cena je súčasne poctou odbornej ve-
rejnosti tejto významnej osobnosti odboru i spomienkou
na človeka, ktorý výrazne ovplyvnil nasmerovanie odboru
klinickej biochémie na Slovensku.*

*Je už len na nás, na zodpovednosti nás všetkých, akým
smerom sa medicínsky odbor klinickej biochémie bude
uberať. Majme na mysli, že vždy bol a bude naším cie-
lom pacient, a preto zveľaďme odbor klinickej bioché-
mie a laboratórnej medicíny, ktoré sú srdcom modernej
zdravotnej starostlivosti a zohrávajú dôležitú úlohu pri
skríningu chorôb, diagnostike, hodnotení rizika, výbere
liečby, monitorovaní liečby, prognóze a ďalších aspektoch
klinického rozhodovania a sú základom efektívnej
starostlivosti o pacienta.*

*Vzájomnú komunikáciu, vzdelávanie, stretnutia, nad-
väzovanie a prehlbovanie kontaktov s partnermi z Európy
a z celého sveta nám umožňujú mnohé národné odborné
podujatia ako aj aktivity EFLM, IFCC a jedným z nich je
práve aj XV. Kongres SSKB 2024. Vzdelanie sú základy, na
ktorých stavíme našu budúcnosť.*

*A môžeme sa zamyslieť aj nad citátom Aristotela, sta-
rogréckeho filozofa a encyklopedického vedca, filozofa
staroveku, zakladateľa logiky a západnej filozofie (384–
321 pred n. l.), ktorého v stredoveku nazývali jednodu-
cho „Filozof“.*

*„Vzdelávanie mysle bez vzdelávania srdca nie je žiadne
vzdelávanie.“*

Poďakovanie patrí všetkým...

*Prajem hlavne pevné zdravie, silu, trpezlivosť, nádej
a dni plné radosti a šťastia...*

26.6.2024

Hedviga Pivovarníková
prezidentka SSKB

Maximize Your Lab's Potential with Just 3.8 m²



Biolumi® CX8

Efficiency

Flexibility

Reliability

Convenience

MAGLUMI® CLIA Test Menu with 236 Parameters

Thyroid

TSH (3rd Generation) ^{FDA}
T4 ^{FDA}
T3 ^{FDA}
FT4 ^{FDA}
FT3 ^{FDA}
Tg (Thyroglobulin)
TGA (Anti-Tg)
Anti-TPO
TRAb
TMA
Rev T3
T-Uptake

Bone Metabolism

Calcitonin
Osteocalcin
*PTH (1-84)
25-OH Vitamin D ^{FDA}
Intact PTH
β-CTX
total P1NP

Hepatic Fibrosis

HA
PIIIP N-P
C IV
Laminin
Cholyglycine
GP73

Anemia

Vitamin B12
Ferritin
Folate (FA)
EPO
RBC Folate
*Anti-Intrinsic Factor
*Active B12

Metabolism

Pepsinogen I
Pepsinogen II
Gastrin-17
GH (hGH)
IGF-I
IGFBP-3

Drug Monitoring

Digoxin
CSA (Cyclosporine A)
FK 506 (Tacrolimus)

Infectious Disease

Respiratory
2019-nCoV IgG
2019-nCoV IgM
SARS-CoV-2 S-RBD IgG
SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody
SARS-CoV-2 Ag
Mycoplasma pneumoniae IgG
Mycoplasma pneumoniae IgM
Chlamydia pneumoniae IgG
Chlamydia pneumoniae IgM
*Respiratory Syncytial Virus IgM
*Coxsackievirus B IgM
*Adenovirus IgM
*Influenza A Virus IgM
*Influenza B Virus IgM
**Legionella pneumophila* IgM
*Human Parainfluenza Virus IgM

Hepatitis

HBsAg
Anti-HBs
HBeAg
Anti-HBe
Anti-HBc
Anti-HBc IgM
Anti-HCV
Anti-HAV
HAV IgM
*HBV Pre-S1 Ag
*HEV IgG
*HEV IgM

Others

HIV Ab/Ag Combi
Syphilis
Chagas
HTLV I+II
H. pylori IgG
H. pylori IgA
H. pylori IgM
**H. pylori* Ag
Dengue Virus IgG
Dengue Virus NS1
*Dengue Virus IgM
Monkeypox Virus Ag

Hypertension

Direct Renin
Aldosterone
Angiotensin I
Angiotensin II
Cortisol
ACTH

STAT-EX™

*hs-cTnI ^{STAT-EX™}
*NT-proBNP ^{STAT-EX™}
*Myoglobin ^{STAT-EX™}
*D-Dimer ^{STAT-EX™}
*PCT ^{STAT-EX™}
*CRP ^{STAT-EX™}

Kidney Function

β2-MG
Albumin
*NGAL

EBV

EBV VCA IgG
EBV VCA IgM
EBV VCA IgA
EBV EA IgG
EBV EA IgA
EBV NA IgG
EBV NA IgA

Glyco Metabolism

C-Peptide
Insulin
GAD 65
Anti-IA2
ICA
IAA (Anti Insulin)
Proinsulin
*Glucagon
*Anti-ZnT8

Veterinary Testing

cTSH cTT4
cFT4

Tumor Markers

AFP
CEA
Total PSA
f-PSA
CA 125
CA 15-3
CA 19-9
PAP
CA 50
CYFRA 21-1
CA 242
CA 72-4
NSE
Anti-nRNP/Sm IgG
S-100
SCCA
TPA-snibe
ProGRP
HE4
HER-2
PIVKA-II
*AFP-L3%

Prenatal Screening

AFP (Prenatal Screening)
free Estriol
free β-HCG
PAPP-A
*Inhibin A

Cardiac

CK-MB
Troponin I
Myoglobin
hs-cTnI
hs-CRP
H-FABP
NT-proBNP
BNP
D-Dimer
Lp-PLA2
MPO
HCY
*sST2
*hs-cTnI ^{STAT-EX™}
*NT-proBNP ^{STAT-EX™}
*Myoglobin ^{STAT-EX™}
*D-Dimer ^{STAT-EX™}

Immunoglobulins

IgM IgA
IgE IgG

Autoimmune

Connective Tissue Disease
ANA Screen
ENA Screen
Anti-dsDNA IgG
Anti-Sm IgG
Anti-Rib-P IgG
Anti-SS-B IgG
Anti-SS-A IgG
Anti-Jo-1 IgG
Anti-Scl-70 IgG
Anti-Centromeres IgG
Anti-Histones IgG
Anti-nRNP/Sm IgG
*Anti-Ro-52 IgG
*Anti-PM-Scl IgG
*Anti-Nucleosome IgG

Rheumatoid Arthritis

Anti-CCP
*RF IgM
*RF IgG
*RF IgA
*RF Screen

Celiac Disease

Anti-tTG IgA
Anti-tTG IgG
DGP IgA
DGP IgG

Autoimmune Liver Disease

Anti-M2-3E IgG

Endocrinology

Anti-TPO
TGA (Anti-Tg)
TRAb TMA
GAD 65
Anti-IA2 ICA
IAA (Anti Insulin)
*Anti-ZnT8

Vasculitis

Anti-MPO IgG
*Anti-PR3 IgG
*Anti-GBM IgG

Antiphospholipid Syndrome

Anti-Cardiolipin IgG
Anti-Cardiolipin IgM
*Anti-Cardiolipin IgA
*Anti-Cardiolipin Screen
β2-Glycoprotein I IgG
β2-Glycoprotein I IgM
*β2-Glycoprotein I IgA
*β2-Glycoprotein I Screen

Fertility

FSH
LH
HCG/β-HCG ^{FDA}
PRL (Prolactin)
Estradiol
Testosterone
free Testosterone
DHEA-S
Progesterone
free Estriol
17-OH Progesterone
AMH
SHBG
Androstenedione
PIGF
sFlt-1
*Inhibin A
*Inhibin B

TORCH

Toxo IgG
Toxo IgM
Rubella IgG
Rubella IgM
CMV IgG
CMV IgM
HSV-1/2 IgG
HSV-1/2 IgM
HSV-1 IgG
HSV-2 IgG
HSV-1 IgM
HSV-2 IgM
*Toxo IgG Avidity
*CMV IgG Avidity

Coagulation Markers

D-Dimer PIC
TAT tPAIC
TM *FDP

Inflammation Monitoring

CRP
PCT (Procalcitonin)
TNF-α
IL-6 (Interleukin 6)
SAA (Serum Amyloid A)
*VEGF
*PCT ^{STAT-EX™}
*CRP ^{STAT-EX™}

*Available soon



Laboratórna Diagnostika, XXVIII, 2, 2024: 11–13

**Doc. MUDr. Oliver Viktor Rácz, CSc., mim prof.,
laureát Ceny profesora Ivana Pecháňa**

(7.1.1947, Košice)



Ako deti „samostatného vedeckého pracovníka“ sme doma často chodili po špičkách pred pracovňou nášho otca, z ktorej sa ozývali hlasné údery na písacom stroji značky Erika. Bol to zvuk, ktorý nás upokojil, vedeli sme, že je všetko v poriadku a že keď sa ten zvuk utíši, môže začať zábava. Lebo aj na tú si náš otec často nájde čas. Ako deti sme v zime každý jeden víkend trávili na lyžovačkách. Ako správny doktor nám naše natrhnuté páperové bundičky zalepil leukoplastom a aj keď sme sa z lyžovačiek občas vrátili bez šnúrok do lyžiarok (veru, kedysi neboli klipsne), o zábavu bolo postarané. V lete sme chodievali stanovať, kde nám (ale aj ostatným dovolenkárom) mamka na dvojplatničke pripravila palacinky, alebo slivkové knedle. Po výletoch a túrach nám milí ujoovia Vlčkovia či tety Hanky po večeroch rozprávali rozprávky a až neskôr sme si uvedomili, že títo milí ujoovia a tety, sú uznávaní profesori. Veru, mali sme pekné detstvo. Okrem toho, že sme doma plynule rozprávali po slovensky aj po maďarsky, otec zaviedol aj dni, keď sa smelo rozprávať len po anglicky, ale to nás, jeho dve najmladšie dcéry, asi len chcel umlčať. Najstaršia dcéra sa konečne popri nás dostala k slovu a otec sa jej mohol venovať. Občas to bolo aj o tom, že ju napomenul, aby nečítala počas prechádzky a knihu, ktorú jej vybral z rúk dočítal počas tej istej prechádzky sám. Otec ovláda aj nemecký, poľský jazyk a dohovoriť sa aj po taliansky; narodil sa totiž do učiteľskej rodiny a jeho otec

bol okrem iného aj uznávaným prekladateľom svetovej literatúry.

Ako deti sme neriešili, aké úspechy žne náš otec vo svete vedy. Boli sme hrdé, že je „samostatný“ vedecký pracovník. V tom čase sme samostatnosti pripisovali obrovský význam, vede sme nerozumeli. Boli sme pyšné, že vedel vyrátať v hlave aj tie najzložitejšie príklady. Že keď som sa počas štúdia učila na skúšku z mikrobiológie a rozprávala som mu o zaujímavostiach, ktoré som sa dozvedela ako novinku, on o týchto „novinkách“ už dávno vedel zo zahraničnej literatúry.

Mám tú česť pracovať na fakulte, kde pôsobí môj otec už takmer 50 rokov. Vedela som, že je dobrým prednášateľom, o to krajšie je to však počuť od jeho bývalých a súčasných študentov, ktorým dodnes vštepuje nie len súvislosti ohľadom patologickej fyziológie a biochémie, ale aj to, ako byť človekom. Cením si jeho neustálu aktivitu vzdelávať sa a posúvať vedomosti ďalej, že sa naďalej aktívne zúčastňuje na vedeckých podujatiach, študuje, analyzuje, píše, prednáša, cestuje a popritom si nájde čas aj na plávanie, korčuľovanie, návštevu koncertov a vernisáží umenia. Je hrdým držiteľom preukazu kapitána plachetníc. So sestrami si ceníme aj to, že sa nikdy nestážoval, že nemá syna, ale hrdo hlása, že s tromi dcérami sa cíti byť kráľom.

A či si zaslúži ocenenie za úspechy na poli klinickej biochémie? Za to hovoria jeho výsledky, ktorých nie je málo:

Lekársku fakultu UPJŠ v Košiciach vyštudoval s červým diplomom. Mimochodom, na tejto fakulte študoval z dôvodu, že biochémia sa študovať na inej fakulte v tom čase nemohla.

Postgraduálne štúdium absolvoval na Enzymologickej ústave Maďarskej akadémie vied v Budapešti.

Má habilitáciu z lekárskej biochémie na LF UK Bratislava a atestáciu z klinickej biochémie.

Za vysokoškolského profesora bol menovaný ministerským predsedom Maďarskej republiky.

Popri dlhoročnom vedení Ústavu patologickej fyziológie UPJŠ LF v Košiciach, bol vedúcim Oddelenia biochémie a metabolizmu Ústavu experimentálnej medicíny LF UPJŠ v Košiciach, odborným garantom a pedagógom na Fakulte ošetrovateľstva Štátnej vysokej školy v poľskom Sanoku a na Univerzite v Miškovci.

Bol predsedom Akademického senátu UPJŠ v Košiciach, predsedal Rade vysokých škôl Slovenskej republiky a bol prorektorom UPJŠ v Košiciach.

Aktuálne je vedeckým sekretárom a je bývalým prezidentom Spolku lekárov v Košiciach, ako aj prezidentom Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie.

Je autorom vyše 650 odborných publikácií s vyše 560 ohlasmi.

Monografia jeho autorského kolektívu „Glykohemoglobín a glykované bielkoviny pri diabetes mellitus“ z roku 1989, ktorá je výsledkom výskumu v oblasti diabetes mellitus a antioxidačnej ochrany organizmu je ocenená cenou Slovenského literárneho fondu.

Podrobnejšie informácie nájdete napríklad na nasledujúcich stránkach: <https://www.pametnaroda.cz/sk/racz-oliver-1947>, <https://www.upjs.sk/en/LF/employee/oliver.racz/>, <https://haik.upjs.sk/data/vupch/LF/sk/oliver.racz.html>

Členstvo v redakčných radách časopisov

- Bulletin of European Association of Professors Emeriti (Taliansko)
- Diabetologia Hungarica (Maďarsko)
- Electronic Journal of Internal Federation of Clinical Chemistry (eJIFCC, Taliansko)
- Kazuistiky v diabetológii (Česká Republika)
- Laboratórna Diagnostika (Slovenská Republika) – odborný redaktor
- Orvosi Hetilap (Maďarsko)

Členstvo v odborných spoločnostiach

- Slovenská lekárska spoločnosť, vrátane členstva v Spolku lekárov v Košiciach, Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie a čestného členstva Slovenskej diabetologickej spoločnosti
- Slovenská spoločnosť pre biochémiu a molekulárnu biológiu
- Slovenská lekárska komora, vrátane členstva v Regionálnej lekárskej komore Košice,
- European Association for the Study of Diabetes (EASD)
- International Society for the History of Medicine (ISHM)
- Association Médicale Internationale de Notre-Dame de Lourdes (AMIL)
- European Association of Professors Emeriti (EAPE)
- Magyar Diabetes Társaság (Hungarian Diabetes Association) – čestný člen, člen
- Magyar Laboratórium Diagnosticszikai Társaság (Hungarian Society of Laboratory Medicine)

Významné ocenenia

- Nositeľ Strieborného rádu Malteziánskych rytierov, 2001; udelené v súvislosti s dodávkou potravín a liekov počas revolúcie v Rumunsku (Vianoce 1989).

- Strieborná medaila vlády Slovenskej Republiky za zásluhy v oblasti výskumu a výučby patologickej fyziológie, 2005.
- Pamätná medaila Daniela Fehéra, Svetová asociácia maďarských profesorov, 2005.
- Čestné členstvo a diplom Maďarskej diabetologickej spoločnosti, 2008.
- Uznanie dekana fakulty pri príležitosti 20. výročia „Nežnej revolúcie“ a „Dňa študentsva“ UPJŠ LF Košice, 12. novembra 2009.
- Cena profesora Rudolfa Koreca, udelená Slovenskou diabetologickou spoločnosťou, 2009.
- Cena Antala Genersicha, udelená Nadáciou A. Genersicha, 2010.
- Zlatá medaila Slovenskej lekárskej spoločnosti, 2012.
- Čestné členstvo Slovenskej diabetologickej spoločnosti, 2017.
- Udelenie Pamätného listu dekana Lekárskej fakulty Univerzity Šafárika pri príležitosti životného jubilea, 2017.
- Profesor Emeritus, Univerzita v Miskolc, 2017.
- Cena Per Hyltoft Petersena, Slovenská spoločnosť laboratórnej medicíny, 2017.
- Cena Samosprávy Mestskej časti Košice-Staré Mesto, 2018.
- Medaila „Propter Merita“ Slovenskej lekárskej spoločnosti, 2018.
- Čestná cena akademika Teofila Rudolfa Niederlanda Slovenskej lekárskej spoločnosti, 2022.
- Ďakovný list Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, 2022.
- Cena Markusovszkého za publikáciu v časopise Orvosi Hetilap, 2023.
- Zlatý diplom Lekárskej fakulty UPJŠ z príležitosti 50. výročia promócie, 2023.
- Cena profesora Ivana Pecháňa Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, 2024.

doc. Ing. Beáta Hubková, PhD.

cobas® pro a cobas® pure integrované riešenia

Nová generácia integrovaných riešení **cobas®** tvorená analyzátormi **cobas® pro** a **cobas® pure** je plne harmonizovaná.



cobas® pure integrované riešenia



cobas® pro integrované riešenia

Tieto SWA analyzátory používajú rovnaké reagensie, detekčné technológie a referenčné intervaly a ponúkajú rovnaké portfólio metód. Štandardizácia vedie k správnej a spoľahlivej liečbe, optimalizácii správy pacientov a zjednodušeniu prevádzkových a logistických laboratórnych procesov. Identické užívateľské rozhrania systémov **cobas®** navyše zjednodušujú školenia a umožňujú flexibilnejšie rozmiestnenie zamestnancov.



Zhodné
reagensie



Konzistentné
výsledky



Prevádzka
bez prerušení



Rovnaké
technológie



Rovnaké
portfólio metód

Harmonizácia Roche analytických riešení rozširuje laboratórne scenáre pre využitie integrovaných riešení **cobas® pro** a **cobas® pure** a zaisťuje konzistentné výsledky naprieč systémami aj lokalitami.

COBAS, COBAS C a COBAS E sú ochranné známky spoločnosti Roche.

© 2024 Roche

Roche Slovensko, s.r.o.

Diagnostická divízia

Príbinova 19

811 09 Bratislava

www.roche.sk



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 15–21

INTEGRÁCIA VEDECKÝCH POZNATKOV DO KAŽDODENNEJ MEDICÍNY OČAMI PATOFYZIOLÓGA

INTEGRATION OF SCIENTIFIC KNOWLEDGE INTO EVERYDAY CLINICAL MEDICINE AS SEEN FROM A PATOPHYSIOLOGIST

Oliver Viktor Rác

Ústav patologickej fyziológie, LF UPJŠ v Košiciach
Univerzita Miskolc, Fakulta zdravotníctva, Maďarsko

olliracz@gmail.com

Z príležitosti udelenia Ceny profesora Ivana Pecháňa Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, 6. 10. 2024

Kto som? Patofyziológ, biochemik, alebo laboratórny diagnostik?

Pri hodnotení jednotlivých odborností praktickej a výskumnej medicíny by sme mali vychádzať z definície McDermotta zo slávnej Cecilovej učebnice medicíny [1].

Medicine is not a science but a learned profession, deeply rooted in a number of sciences and charged with the obligation to apply them for man's benefit.

Z toho vyplýva, že delenie medicíny na stále užšie kategórie je z praktického hľadiska potrebné, ale principiálne nie je správne a dobrý lekár v hoci ktorej špecializácii by mal mať aj adekvátnu úroveň vedomostí z medicíny ako celku. V tomto zmysle chápali medicínu moji významní učitelia, profesori Rudolf Korec, František Pór a Brunó F. Straub [2-4].

Moja cesta k medicíne a k vedeckej činnosti sa začala veľmi skoro, konkrétne knihami Julesa Verneho o ceste pod morom, vo vzduchu a na Mesiac, ktoré som začal čítať vo veku päť rokov. Potom nasledovali krásne školské roky (ktoré preskočím, ale v skutočnosti boli dosť rozdielne oproti tomu, čo mám oficiálne v životopise) a úspešné prijímacie skúšky na lekársku fakultu.

Keď som v roku 1965 nastúpil na Lekársku fakultu UPJŠ v Košiciach, mal som šťastie, že som v prvých troch rokoch ešte zažil jej významné obdobie s vynikajúcimi odborníkmi na čele jednotlivých pracovísk. Dozvedeli sme sa, že existuje dvojaká genetika – tá falošná lisenkovská a tá skutočná, mendelovská. V roku 1967 sme mali možnosť vypočuť si prednášku Fredericka Sangera o sekvenciách nukleotidov (do Košíc prišiel na pozvanie profesora Mäsiara), za čo potom dostal druhú Nobelovu cenu. Deň po prvej transplantácii Christianom Barnardom profesor Rudolf Korec venoval celú prednášku histórii, súčasnosti a perspektívam transplantácie orgánov. Posledné roky nášho štúdia boli poznačené husákovskou normalizáciou po okupácii našej vlasti vojskami Varšavskej zmluvy výmenou mnohých vážnych a dobrých odborníkov neschopnými straníckymi kádrami, ale ani oni neboli schopní potlačiť naše zaniehanie robiť dobrú medicínu v praxi a vo výskume. Aj sme to dlhé roky robili, a pred rokom sme za to mohli prevziať Zlatý diplom absolventov LF UPJŠ Košice.

Červené krvinky, ktoré nechceli starnúť

Po promócií som krátko pracoval na Ústave patologickej fyziológie, ale už v roku 1972 som sa dostal na postgraduálne štúdium na Enzymologický ústav Maďarskej akadémie vied. V Budapešti ma už po niekoľkých týždňoch hodili do hlbokéj vody. Dostal som za úlohu skúmať zme-

ny enzýmov počas starnutia krviniek, k čomu som musel rozdeliť červené krvinky na mladé a staré a merať aktivitu rôznych enzýmov v jednotlivých frakciách. Problémom bolo, že tie malé potvory nechceli starnúť a výsledky sme museli interpretovať úplne z iného hľadiska. Naše nečakané nálezy sme prezentovali na medzinárodných kongresoch a publikovali vo významnom biochemickom časopise [5-7]. Problém spočíval v tom, že postupná osmotická hemolýza (na rozdiel od literárnych údajov) nedelila erytrocyty podľa veku, ale otvárala póry v membráne, cez ktorú sa do hemolýzátu dostali najprv malé molekuly a väčšie (bielkoviny podľa ich rozmerov) až potom. Kandidátsku dizertáciu [8] som obhájil v roku 1976 a vrátil som sa domov od orwellovskej reality do Košíc.

Pokrok napriek ťažkým podmienkam a cesta k diabetológii

Profesorovi Korecovi v tom období už zakázali publikovať výsledky výskumu, študenti nesmeli používať jeho vynikajúcu učebnicu [9] a zobrali mu aj cestovný pas. Pracoval sám v špinavej pivnici. Nikto mu však nemohol zobrať to, že bol zakladateľom vedeckého výskumu v diabetológii na Slovensku a za ťažkých podmienok úspešne transplantoval Langerhansove ostrovcy diabetickým potkanom [10]. V tom období sa aj náš kolektív venoval diabetológii. Vtedy prišli prvé správy o glykácii hemoglobínu [11-12] a moje skúsenosti s prácou s červenými krvinkami nám pomohli realizovať merania HbA_{1c} už v roku 1978 [13-15, obr.1 a 2]. Toto úspešné obdobie sme zhrnuli vydaním monografie o tejto téme [16]. Zvláštnou náhodou bolo to, že kniha vyšla z tlačiarne dva dni pred 17. novembrom 1989.

Od patofyziológie k antioxidantným systémom

Na košickej Lekárskej fakulte UPJŠ bol v roku 1984 založený Ústav experimentálnej medicíny. Napriek tomu, že som splnil všetky predpoklady, nemohol som sa stať jeho riaditeľom, pretože som nebol členom KSS. Bol som menovaný za vedúceho biochemického a metabolického oddelenia, kde sme sa zaoberali oxidačným stresom a antioxidantnými enzýmami. Ešte z čias pobytu v Budapešti som mal skúsenosti s meraním glukóza-6-fosfát dehydrogenázy a iných enzýmov, k tomu sme pridali superoxidismutázu, katalázu, glutatiónreduktázu a iné enzýmy (obr. 3). Dosahovali sme dobré a zaujímavé výsledky a občas sa nám podarilo dostať sa na medzinárodné odborné akcie, ale kontakty so špičkovými pracoviskami neboli možné.

Problémom bolo, že prístrojové vybavenie ústavu neumožnilo štúdium týchto systémov na úrovni tkanív a expresie génov.

Nežná revolúcia znamenala obrovské zmeny aj v živote našej fakulty. Vznikali senáty, dekáni fakúlt a rektor univerzity boli zvolení prvýkrát v živote univerzity demokratickým tajným hlasovaním, prednostovia klinik boli menovaní na základe výberových konaní a cesta do zahraničia bola otvorená. Sám som zastával mnohé funkcie (vymenované v životopise), ale pokračoval som aj vo výskume. Niektoré naše práce z oblasti antioxidantných enzýmov boli publikované vo významných medzinárodných časopisoch a majú adekvátnu citačnú odozvu [17-21].

V roku 1992 som vyhral konkurz na miesto prednostu Ústavu patologickej fyziológie a túto funkciu som zastával až do odchodu do dôchodku v roku 2018. K výskumným aktivitám pribudli povinnosti s vedením kolektívu a modernizáciou výučby zapracovaním výsledkov vedeckej medicíny do prednášok, cvičení a učebných textov tak, ako to kedysi robil profesor Korec a po ňom profesor Zoltán Tomori a docentka Anna Šofranková.

Návrat k glykovanému hemoglobínu a k iným markerom glykemickej kompenzácie

Po publikovaní našej monografie v oblasti nášho záujmu o glykovanom hemoglobíne došlo k významnému technologickému pokroku. Naša metóda varenia hemolýzátov s kyselinou tiobarbiturovou sa stala obsolentnou a prestali sa používať aj jednoduché chromatografické metódy. Ich úlohu prevzali v biochemických laboratóriách imunochemické metódy na platforme automatických analyzátorov a vysokotlaková kvapalinová chromatografia (HPLC). Tento trend sme zachytili aj my, a v nasledujúcich rokoch sme priniesli mnohé nové poznatky o správnej interpretácii tohto zlatého štandardu kompenzácie chorých s diabetes mellitus [22-27, Obr. 4].

Za hlavný prínos sme považovali to, že sme už od začiatku vedeli, že hladina HbA_{1c} neodráža „priemernú glykémii“ chorého s diabetes mellitus, ale pre zložitú kinetiku glykácie lepšie vidí nedávne hyperglykémie, ako tie, ktoré sa vyskytli dávnejšie [28].

Namiesto pokojného odpočinku stále ešte výskum a vysokoškolská výuka

Po dosiahnutí dôchodkového veku som postupne ukončil (skoro) všetky odborné a spoločenské funkcie

a odvtedy sa môžem venovať výskumu bez stresu. Posledné roky sa venujem aj histórii medicíny, pretože nechcem, aby ďalšia generácia zabudla na veľikánov nedávnej minulosti. Bez nich by medicína nebola tam, kde je teraz. Niektorých som z nich osobne poznal a zaradil som k nim aj jedného lekára, bez ktorého ja by som nebol tam, kde som tu a teraz. (Tab. 1).

Vo výskume som ostal verný diabetu, ale pustili sme sa aj do riešenia problému „čiernej ovce“ lipidového metabolizmu, lipoproteínu(a).

Po mnohých prednáškach a publikáciách o glykovanom hemoglobíne som si dovoľil pozrieť sa na druhú stranu mince – na krátkodobé výkyvy glykémie. Tieto sú aspoň také dôležité pre rozvoj komplikácií a prognózy chorého ako úroveň celkovej kompenzácie, ale jej hodnotenie dodnes nie je vyriešené. Naše prvé výsledky a úvahy sme publikovali a prednášali nedávno [37,38; obr. 5] a pripravujeme projekt na integrovaný spôsob hodnotenia kompenzácie chorých s diabetes mellitus.

Tabuľka 1.

Významné osobnosti z nášho okolia a z oblasti diabetológie a biochémie, o ktorých sme publikovali životopisy

Prof. Dr. Antal Genersich (1842-1918)

Člen významnej rodiny Genersichov zo Spiša. Lekár, univerzitný profesor patologickej anatómie. Rektor univerzity v Cluj (dnes Rumunsko) a neskôr v Budapešti [29].

Prof. MUDr. František Pór (1899-1980)

Internista, jeden zo zakladateľov košickej lekárskej fakulty. Zakladateľ košickej internistickej školy [4,30].

Akademik Prof. Dr. Brunó F. Straub (1914-1996)

Biochemik, žiak Alberta Szent-Györgyiho. Objavitel' aktínu. Riaditeľ Enzymologického ústavu Maďarskej akadémie vied a Biologického centra v Szegede. Prezident Maďarska (1988-1989) [3].

Generálmajor MUDr. Štefan Šimko, CSc. (1916-2002)

Rodák z Košíc, chirurg. Po absolvovaní lekárskej fakulty v ilegality. Počas vojny pôsobil ako chirurg v partizánskej armáde J. B. Tita. Po návrate zakladateľ popáleninového centra v Košiciach-Šaci a medicíny katastrof [31].

Prof. William Ganz, MD. (1919-2009)

Rodák z Košíc, absolvent Lekárskej fakulty Karlovej univerzity v Prahe. Perzekvovaný počas holokaustu. V roku 1964 emigrácia do USA. Spolu s profesorom Swanom konštruktér moderného srdcového katétra [32].

Prof. MUDr. Rudolf Korec, DrSc. (1921-2003)

Prvý prednosta ústavu patologickej fyziológie, zakladateľ Slovenskej diabetologickej spoločnosti. Po roku 1970 pozbavený všetkých funkcií, zakázaná vedecko-publikačná činnosť. V roku 1990 zvolený za rektora Univerzity P. J. Šafárika [2].

Barónka prof. Dr. Eva Kohner (1929-2021)

Členka viacgeneračnej podnikateľskej rodiny z Maďarska. Prenasledovaná počas holokaustu a potom aj komunistickým režimom. Emigrácia do Anglicka v roku 1948, štúdium na lekárskej fakulte a po skončení zakladateľka skriningu a liečby diabetického retinopatie [33].

Prof. Samuel Rahbar MD (1929-2012)

Íránsky genetik. Počas výskumu dedičných hemoglobínopatií objavil zmenený hemoglobín u diabetikov. Počas študijnej cesty v USA sa zistilo, že ide o glykovaný hemoglobín HbA1c [34,35].

Oliver Rácz starší (1918-1997)

Spisovateľ, básnik a učiteľ. Počas holokaustu zachránil okrem iných Viliama Ganzu a Štefana Šimka. V roku 2019 dostal vyznamenanie Yad Vashem – Spravodlivý medzi národmi [36].

Druhá naša zaujímavá a momentálne aktuálna téma je *lipoproteín(a)*, abnormálny a škodlivý adukt LDL častice a chybného plazminogénu. V tejto oblasti sa snažíme pochopiť, prečo ten známy príčinný rizikový faktor objavený pred 60 rokmi sa dodnes dostatočne nevyužíva v preventívnej medicíne a v každodennej kardiológii. [39-41; obr.5].

Záver? Ešte nie!

Je dobrý pocit pozrieť sa pri tejto slávnostnej príležitosti na dlhú cestu plnú križovatiek a zákrut, ktoré mám za sebou. Na tej ceste som nikdy nebol sám, stáli pri mne moji rodičia, učители, neskôr moja vlastná rodina a spolupracovníci. Niektoré obdobia môjho života boli ťažké (vrátane rôznych umelo vytvorených prekážok na ceste), ale o nich teraz nechcem písať. V tejto práci som sa snažil zhrnúť svoje osobné spomienky a dosiahnuté vedecké výsledky, ale za podstatné považujem slová, ktoré som povedal pred rokom, pri prevzatí Zlatého diplomu UPJŠ Lekárskej fakulty, keď ma dekan požiadal o úvodné slovo:

Vážený pán dekan, veľmi pekne ďakujem, že si ma požiadal o príhovor pri tejto slávnostnej príležitosti, ale mám taký dojem, že by to mal byť niekto iný, Niekto z nás, ktorý od skončenia Alma Mater pracuje (alebo dlhé roky pracoval) v bežnej lekárskej praxi, niekde v malom mestečku alebo na dedine. Lekárska fakulta je totiž významnou vedeckou a edukačnou inštitúciou, ale jej hlavným poslaním je výchova dobrých lekárov prvého kontaktu a špecialistov, ktorí liečia chorých ľudí podľa princípov Hippokratovej prísahy. Naše tituly pred a za menom, publikácie, učebnice a citácie sú pekné a dôležité, ale ešte nikoho nevyšľachili. Takže môj príhovor venujem práve kolegom, ktorí už 50 rokov vykonávajú každodennú medicínu za veľmi ťažkých podmienok.

Práve tieto myšlienky sú dôvodom, prečo tento významný deň nepovažujem za „záverečný“. Mám povinnosť odovzdať tú štafetu, ktorú som prevzal v mladom veku, ďalšej generácii svojich rodinných príslušníkov, študentov a mladých kolegov. Čo to konkrétne bude, je dnes

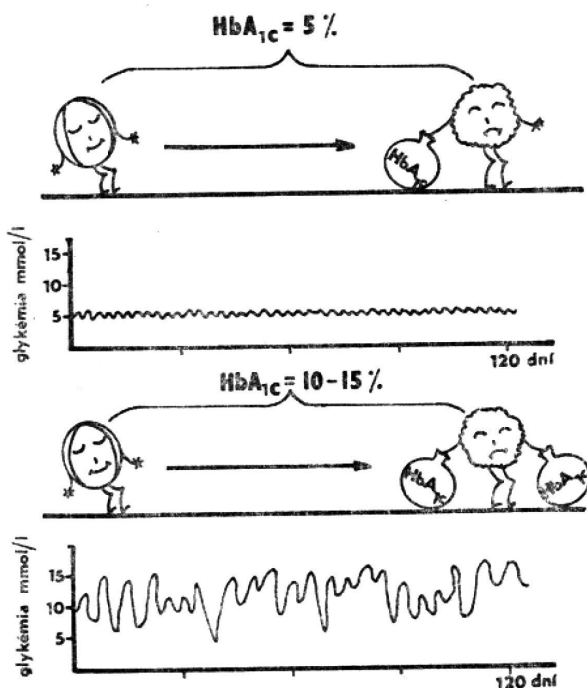
ešte tajomstvom, ale dozviete sa to na ďalších podujatiach Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, Slovenskej diabetologickej spoločnosti a našej fakulty.



Obr. 1

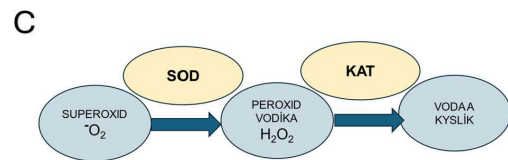
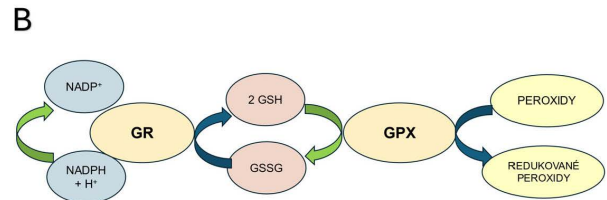
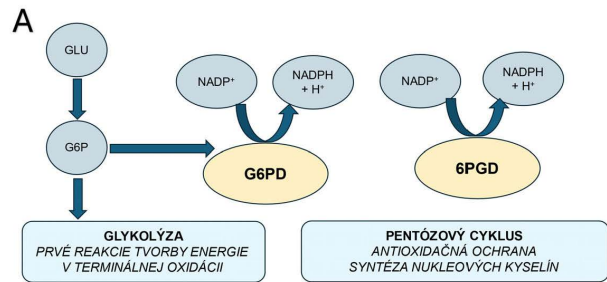
Meranie glykovaného hemoglobínu spektrofotometrickou metódou v 80-tych rokoch minulého storočia.

Pri kyslej hemolýze z ketoamínu v HbA_{1c} vzniká 5-hydroxymetylfurfural, ktorý je stanovovaný ako žltý produkt s kyselinou tiobarbitorovou. Kontrolu kvality meraní zabezpečila pani Pospíšilová (na obrázku) a pani Filipová.



Obr. 2

Princíp glykácie hemoglobínu (z monografie [16]).



Obr. 3

Pentózový cyklus a enzýmy antioxidačných systémov.

A

V pentózovom cykle vznikajú redukované koenzýmy NADPH, ktoré sú využité okrem iných reakcií v redukcii oxidovaného glutatiónu (GLU = glukóza, G6P = glukóza-6-fosfát. G6PD a 6PGD = enzýmy glukóza-6-fosfátdehydrogenéza a 6-fosfoglukonátdehydrogenéza.

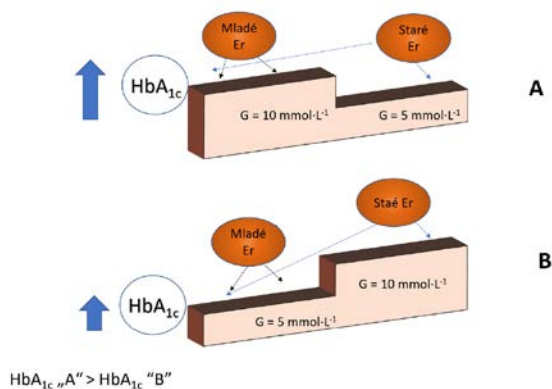
B

Vodíky v redukovanej forme koenzýmu NADPH sú využívané pri redukcii oxidovaného glutatiónu (GSSG) a redukovaný glutatión (GSH) na redukcii rôznych peroxidov. Enzýmy: GR = glutatiónreduktáza a GPX = glutatiónperoxidáza.

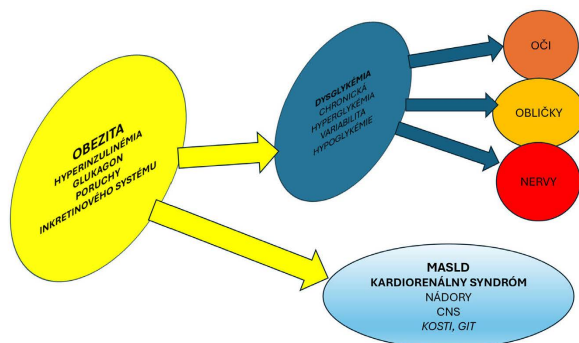
C

Superoxidový radikál je rozložený superoxididmutázou (SOD) a peroxid vodíka z tejto reakcie na vodu a kyslík katalázou (KAT).

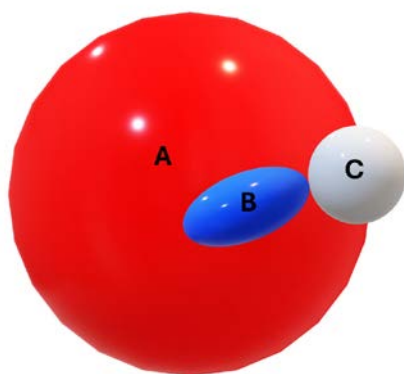
Merania (okrem katalázy) sme robili na automatických analyzátoroch Cobas Mira a Cobas Integra (Roche) súpravami Randox. Niektoré výsledky sú uvedené v [17-21]. Pracovali sme v laboratóriu Cumulus s.r.o. s RNDr. Annou Šipulovou-Chmelárovou.



Obr. 4
Hladina glykovaného hemoglobínu odráža nedávne hyperglykémie lepšie, ako dávne Vysvetlenie v [28]



Obr. 5
Integrovaný pohľad na rôzne dimenzie dysglykémie pri diabetes mellitus v patogenéze diabetom asociovaných komorbidít



Obr. 6
Zjednodušená štruktúra lipoproteínu(a)
A
LIPIDOVÁ ČASŤ LDL
TISÍCE MOLEKÚL CHOLESTEROLU, TRIACYLGLYCEROLOV A FOSFOLIPIDOV VO VNÚTRI
PRIEMER 22 – 26 nm
MALÉ DENZNÉ SÚ ATEROGENNE
B
APOPROTEIN B₁₀₀ JEDNA MOLEKULA NA KAŽDÚ ČASTICU LDL
MW 550 kDa
5 PODJEDNOTIEK, 11 DOMÉN
C
APOPROTEIN_(A)
NEFUNKČNÝ PLAZMINOGEN PŘIPOJENÝ NA APOPPROTEÍN B₁₀₀
RÔZNY POČET ZMENENÝCH „KRINGLE“ DOMÉN (10 – 50)
MW PODĽA POČTU KRINGLE A SACHARIDOVEJ ZLOŽKY (200 – 500 kDa)

LITERATÚRA

- Wyngarden JJ (Ed.) Cecil's textbook of medicine, 18th Ed, 1988, Saunders Philadelphia 2404s. ISBN 0-7216-1848-0
- Ráč O, Korecová M, Ništiar F. 60 years of diabetes mellitus in Kosice – the legacy of professor Rudolf Korec. 43rd Congress of the International Society for the History of Medicine Padua - Abano Terme, Italy, Sept. 12th-16th 2012, Abstracts 81.
- Ráč O. Egy kassai tanítvány az intézetről és a prófról. (Košický žiak o ústave a o profovi – životopis prof. Strauba) Magyar Tudomány 2014, 1, 13-15.
- Ráč O, Mydlík M, Derzsiová K, Mešťan P. Pór Ferenc professzor, a kassai belgyógyászati iskola alapítója, a kassai orvosok „Apuša” (Profesor František Pór, zakladateľ košickej internistickej školy, „Apuš” košických lekárov). Orvosi Hetilap 2019, 160, 73-77
- Ráč O, Biszku E., Straub FB. Study of the inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in hemolysate. 1974; 9th FEBS Meeting, Budapest, Abstract
- Ráč O, Biszku E, Straub FB. Heat inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in serial osmotic hemolysates. Acta Biochim Biophys Acad Sci Hung 1976; 11: 219
- Ráč O, Biszku E, Straub FB. Artifacts imitating aging of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human erythrocytes. European J. Biochem 1979; 96: 503-507
- Ráč O. A vörösvérsejt öregedése és a G6PD szerkezetváltozása közötti összefüggés vizsgálata. (Výskum súvislostí medzi starnutím červených krviniek a štruktúrnymi zmenami G6PD. Kandidátska dizertácia). MTA Enzimológiai Intézet. Budapest 1977, 93s
- Korec R. Patologická fyziológia. Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied Bratislava, 1964, 720s.
- Korec R. Experimental Diabetes Mellitus in the Rat. Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Bratislava 1967, 156s. Druhé doplnené vydanie Spontaneous Diabetes Mellitus in the Rat and Mouse. Edičné stredisko UPJŠ Košice 1991, 278s ISBN 80-7097-123-1
- Rahbar S. An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. Clin. Cim. Acta 1968; 22: 296-298
- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin. Science 1978; 200: 21-27
- Ráč O; Riemerová M. Absence of rapid glycosylation of rat haemoglobin. Diabetologia 1983; 24: 396-397
- Vícha, T; Ráč, O, Stanická, S. The practical value of measuring glycosylated haemoglobin in diabetic outpatient

- practice. 18th Annual Meeting, European Association for the Study of Diabetes, Budapest, Hungary, Abstract No. 337. Diabetologia 1982; 208-209
15. **Rácz O.** Glycation of proteins. Acta Fac. med. Univ. Brunensis 1985, 92, 21-27
 16. **Rácz O, Vícha T, Pačín J.** Glykohemoglobín, glykácia bielkovín a diabetes mellitus. Osveta Martin, 1989, 243s.
 17. **Rácz O, Ništier F, Šipulová A, Riemerová M.** Glutathione peroxidase in blood of diabetic and nondiabetic BB rats. Arch Gerontol Geriatr 1994; Suppl. 4: 207-216
 18. **Mydlík M, Derzsiová K, Šipulová A, Lovásová E, Rácz O, Petrovičová J.** A modified dialyzer with vitamin E and antioxidant defense parameters. Kidney International 2001; 59 Suppl. 78: s144-s147
 19. **Lukán N, Rácz O, Mocnejová I, Tkáč I.** Monitoring antioxidant enzymes in red cells during allergen immunotherapy. J Physiol Biochem 2008;64:143-148.
 20. **Morochovič R, Rácz O, Kítka B, Pingorová S, Cibura P, Tomková D, Lenártova R:** S100B protein in early management of patients after mild traumatic brain injury. Eur J Neurol 2009; 16:1112-1117
 21. **Frišman E, Rácz O, Chmelárová A** Red cell antioxidant enzymes and prognostic indexes in patients with burns. Burns 2013; 39: 458-464
 22. **Rácz O, Balla J, Kuzmová D, Lepejová K, Dombrovský P:** HbA1c – ak áno, tak ako? Labor aktuell 2008/2: 16-19
 23. **Rácz O, Kuzmová D, Dombrovský P:** HbA1c – otvorené otázky a pochybnosti. Labor aktuell 2008/3: 9-11
 24. **Rácz O, Kuzmová D, Lepejová K, Dombrovský P:** HbA1c – nekonečný príbeh? Prvá kapitola. Labor Aktuell, 2012/1: 27-32
 25. **Rácz O, Kuzmová D, Lepejová K, Dombrovský P.** HbA1c – nekonečný príbeh? Druhá kapitola. Labor Aktuell, 2012/2: 24-27
 26. **Rácz O:** A HbA1c régi és szép új világa (*Starý a pekný nový svet HbA1c*). Diabetologia Hungarica 2008; XVI: 239 -248. *Práca na základe pozvanej prednášky z príležitosti udelenia čestného členstva Maďarskej diabetologickej spoločnosti, Tihany, 2008*
 27. **Rácz O, Kuzmová D, Futáš E, Kollár J, Vícha T. Reiter, G.** Glykácia hemoglobínu pri dlhotrvajúcich hyperglykemických epizódach. Interpretácia výsledkov matematického modelovania. Časopis Lek Čes 1989; 128: 714-717
 28. **Rácz O, Barkai L, Eigner G, Kovács L, Bicsák M, Muriová K, Dombrovsky P.** A glikációs index lehetséges magyarazata a hemoglobin glikáció biokinetikus modellje alapján. (*Možné vysvetlenie glykačného indexu na základe biokinetického modelu glykácie hemoglobínu*) Orvosi Hetilap 2021, 162, 1652-1657
 29. **Rácz O, Tankó A.** Dr. Antal Genersich an outstanding physician and pathologist from the Zips region. 43rd Congress of the International Society for the History of Medicine, Padua – Abano Terme, Italy, Sept. 12th -16th 2012, Abstracts 95.
 30. **Mydlík M, Derzsiová K, Rácz O.** Professor František Pór, MD. – an outstanding internist from former Czechoslovakia 43rd Congress of the International Society for the History of Medicine, Padua, Abano Terme, Italy, Sept. 12th -16th 2012, Abstracts 52.
 31. **Rácz O, Šimko D, Babík J, Jiroušková M.** Stephan Simko, MD, PhD, the founder of acute and reconstructive burns surgery in Slovakia. 43rd Congress of the International Society for the History of Medicine, Padua – Abano Terme, Italy, Sept. 12th -16th 2012, Abstracts 70.
 32. **Rácz O, Schweitzer P, Mydlík M.** Wiliam Ganz, the inventor of the Swan-Ganz cardiac catheter was born in Kosice Ganz. 43rd Congress of the International Society for the History of Medicine, Padua – Abano Terme, Italy Sept. 12th -16th 2012, Abstracts 95.
 33. **Fövényi J, Rácz O, Veselá L.** Budapesttől Londonig: Kohner Éva Mária (1929 – 2021) (*Z Budapešti do Londýna: Eva Maria Kohner (1929-2021)*). Orvosi Hetilap 2022; 163: 1369-1372
 34. **Rácz O:** Čo dostala diabetológia z Iránu? Laboratórna diagnostika 2024; 29: 81-83
 35. **Rácz O V.** Samuel Rahbar and the serendipitous path from an unusual electrophoretic band to the gold standard of glycaemic compensation of diabetic patients. 49th Congress of the International Society for the History of Medicine. Salerno, Italy, 9-12.10.2024. Práca prijatá na kongres, pripravená in extenzo do tlače.
 36. **Rácz O, Lokšová-Ráčová K, Hubková B.** Košické balady – Oliver Rácz. Múzeum V. Löfflera Košice 2023: 40s. ISBN 978-80-88760-32-2
 37. **Rácz OV, Lovásová E, Nováková J, Philippiová A.** Integrácia markerov glykemickej kompenzácie vrátane variability glykémie u chorých s diabetes mellitus. Diabetes a obezita 2024; 47: 13-19
 38. **Rácz O.** Progress in markers of glycaemic compensation of diabetes mellitus from Joslin, through DCCT study and to continuous glucose measurement. 3rd EAPE Congress, 'The Capital of Knowledge', University of East London, 3-5 April 2024, Book of abstracts. (Full paper in press).
 39. **Kalanin P, Rácz O, Fedačko J, Lenártová R.** Lipoproteín(a) vo vzťahu k fibrilácii predsiení a priemeru ľavej predsieni u pacientov vo veku nad 65 rokov. Lek Obzor 2024; 73: 357-356

40. Rácz O, Fedačko J, Kalanin P, Lenártová R. Lipoprotein(a), atrial fibrillation and left atrial diameter in elderly – unexpected results and the possible way to get out of this quagmire. Arch Hungarian Medical Assoc America 2023; 31: 76-77. Abstracts 54th Annual Scientific Meeting of HMAA, Current Developments in Biomedical and Clinical Sciences. Sarasota FL, 22nd – 27th October 2023

41. Rácz O, Fedačko J, Sedláková E, Lenártová R, Kalanin P. Paving the way to general use and proper interpretation of lipoprotein(a) through understanding its genetic background and structural heterogeneity. Frontiers in Medicine 2024, odoslané do tlače.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 22–23

TRANSFORMÁCIA KLINICKÝCH LABORATÓRIÍ K DIGITALIZÁCII THE TRANSFORMATION OF CLINICAL LABORATORIES TOWARDS DIGITALIZATION

Snežana Jovičić

Department of Medical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

hionati@gmail.com

ABSTRACT

By their nature, clinical laboratories are places where a huge amount of data is collected. These data represent the treasure of healthcare organizations and with changing perception regarding their nature and utility, laboratories may evolve from simply manufacturing information to a decision engine that drives action across healthcare. To successfully adapt and take advantage of these new circumstances and respond to these new expectations, clinical laboratories need to develop in the direction of digital transformation. Digitalization or digital transformation of clinical laboratories represents a process that involves the use of digital technology to collect data, automate processes, establish trends, and mark better business decisions. The transformation of clinical laboratories towards digitalization requires processes that improve digital maturity. This implies establishing connectivity, end-to-end workflow, and advanced analytical technologies and techniques. The key role in this process belongs to digital technologies, that are moving the focus of laboratory personnel and scientists from routine to more complex and meaningful work. To achieve this goal, they need to be empowered in working with new instruments and software, but without losing the focus on quality. Reducing laboratory errors, eliminating unnecessary testing and challenges of global harmoni-

zation will become main activity of laboratory medicine professionals. Also, demand management and consultations regarding laboratory test results will become the basic components of clinical laboratory workload (Ceriotti 2019). The close collaboration with artificial intelligence experts is needed to develop algorithms using big data obtained through laboratory and other diagnostic processes, which may improve patient care. Strategies leading clinical laboratories through this transformation are not without challenges. They start from resistance of IVD industry and regulatory issues, continue through the lack of trust from patients and medical professionals, to the demand for the new business model that would support it, along with moral and legal uncertainties. These may be resolved with multidisciplinary collaboration, appropriate accreditation, regulatory control, commercialization, knowledge translation, and disruptive innovation (Church and Naugler, 2022). However, to be able to work in digital environment, medical professionals need knowledge about data management and structure and quality of digital data. These should be included in their education, both undergraduate and postgraduate. Also, the key strategy is establishing interoperability, i.e., communication between different information systems, devices, and applications. It requires accessibility to all relevant data, which, on the other hand makes them

more vulnerable to cybersecurity threats and privacy breaches. Therefore, standards are required that will enable clinicians, laboratories, hospitals, pharmacies, and patients to safely share relevant information (MedTech Europe and COCIR, 2021).

Key words: clinical laboratory; digitalization

REFERENCES

1. Ceriotti, F. (2019) 'Is there a classical role for the clinical laboratory in digital health?', in *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. Available at: <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0603>.
2. Church, D.L. and Naugler, C. (2022) 'Using a systematic approach to strategic innovation in laboratory medicine to bring about change', *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408363.2021.1997899>.
3. MedTech Europe and COCIR (2021) *Interoperability standards in digital health Interoperability Standards in Digital Health: A White Paper from the Medical Technology Industry*. Available at: <https://doi.org/10.1787/e3b23f8e-en>.



Laboratorňa Diagnostika, XXVIII, 2, 2023: 24–26

JAK INTERPRETOVAT VÝSLEDKY ANALÝZY KREVNÍCH LIPIDŮ A LIPOPROTEINŮ HOW TO INTERPRET THE RESULTS OF BLOOD LIPID AND LIPOPROTEIN ANALYSIS

Vladimír Soška

Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice U sv. Anny v Brně, Brno, ČR

vladimir.soska@fnusa.cz

SOUHRN

Vyšetření krevních lipidů a lipoproteinů je jedním ze základních laboratorních analýz, nutných především k posouzení rizika aterosklerotických kardiovaskulárních onemocnění (AS KVO), k diagnostice dyslipidemií, a k nastavení a kontrole terapie. Běžně je měřena koncentrace celkového cholesterolu (TC), triacylglycerolů (TG), LDL-cholesterolu (LDLC) a HDL-cholesterolu (HDL), individuálně bývá doplněno stanovení koncentrace apolipoproteinu B (APOB). Relativně novým rizikovým faktorem (RF) je lipoprotein(a) (LPA). Vždy musí být posouzen i vzhled séra/plasmy (chylozita). Interpretace výsledků má být komplexní v kontextu všech provedených analýz včetně velmi důležité informace o vzhledu séra/plasmy. Při interpretaci výsledků je třeba zohlednit fakt, že jednotlivé analyty nejsou v krvi přítomny samy o sobě, ale vždy jsou vázány v krevních lipoproteinech. Ty ale mají různý potenciál pro rozvoj AS KVO. Např. vysoká koncentrace TC nebo TG může i nemusí být RF pro AS KVO - záleží na tom, ve které frakci lipoproteinů jsou cholesterol a triglyceridy převážně nesené. RF pro AS KVO jsou pouze mírně až středně zvýšené TG, zatímco velmi vysoké TG nezvyšují riziko AS KVO, ale riziko akutní pankreatitidy. Zvýšená hladina TC by tak měla být interpretována vždy v kontextu vzhledu séra a hladiny TG. Základním parametrem pro posouzení rizika AS KVO a zahájení či moni-

torování terapie je LDLC. U jeho výsledku je třeba zohlednit skutečnost, že měření LDLC není standardizované: při tzv. „přímém měření“ se používají diagnostické soupravy různých výrobců s odlišnými postupy měření, stejně tak pro výpočet LDLC lze použít několik různých vzorců. V důsledku toho se mohou výsledky mezi laboratořemi významně lišit. Totéž se týká i HDLC. Při hodnocení změn v koncentraci LDLC u konkrétního pacienta má být proto měření prováděno vždy ve stejné laboratoři stejnou metodou. „Přímé měření“ i výpočet LDLC podle Friedewalda jsou nespolehlivé při zvýšených TG a také u velmi nízkých koncentrací LDLC, dosahované současnou, LDLC snižující, biologickou terapií. Původní výpočet vzorečkem podle Friedewalda by proto měl být nahrazen některým z novějších spolehlivějších a verifikovaných vzorců (citace 1, 2). Co se týče jiných vypočtených parametrů, laboratoř by měla vždy provádět výpočet non HDLC, který je nutný pro odhad rizika AS KVO dle tabulek SCORE2 (citace 3). APOB nebo non HDLC by měly být využívány místo LDLC u pacientů s diabetes mellitus, metabolickým syndromem, obezitou, renální insuficiencí, a s kombinovanou hyperlipoproteinémií. V těchto klinických situacích může LDLC podhodnocovat riziko AS KVO, protože nezohledňuje riziko dané zvýšenou koncentrací tzv. remnantních atherogenních lipoproteinů. Význam HDLC ustupuje do pozadí, není již považován za nezávislý RF AS KVO, jeho vy-

soké koncentrace nechrání před rozvojem AS KVO a jeho zvyšování farmaky nepřineslo žádný benefit (citace 3). Relativně novým RF je LPA. Ten je nyní považován za nezávislý RF pro AS KVO a pro aortální valvulární stenózu, není RF pro žilní trombózu (citace 4). Je geneticky determinovaný (jeho hladina se v průběhu života mění jen minimálně) a interpretován má být výhradně v kontextu ostatních RF AS KVO (včetně hypertenze, diabetu, kouření, ...). LPA je nesmírně variabilní z hlediska jeho složení i hmotnosti a jeho měření je proto daleko jakékoliv mezinárodní standardizaci. Výsledky jsou vydávány (v závislosti na použité diagnostické soupravě) buď v hmotnostních, nebo v molárních jednotkách. Vzájemný přepočet jednotek není možný, protože neznáme molekulární hmotnost částice Lp(a) u konkrétního pacienta. Základním předpokladem pro korektní interpretaci jeho výsledků je proto měření ve stále stejné laboratoři stejnou diagnostickou soupravou. Referenční meze (fyziologické hodnoty) krevních lipidů a lipoproteinů na nálezových listech by měly odrážet odborná doporučení, především respektovat velmi nízké cílové (optimální) hodnoty LDLC, i ApoB a non HDL-C (citace 4) pro vysoce rizikové pacienty. Klíčové je nastavení mezí pro LDLC v rozmezí cca 0,5 - 2,6 mmol/l, aby ani velmi nízké hodnoty pod 1,0 mmol/l, nutné pro navození regrese aterosklerózy a zlepšení prognózy vysoce rizikových pacientů, nebyly na nálezovém protokolu z laboratoře označeny jako „patologické“, resp. „mimo referenční meze“.

Klíčové slová: cholesterol; triglyceridy; apolipoprotein B; lipoprotein(a); HDL-cholesterol; LDL-cholesterol

ABSTRACT

Blood lipid and lipoprotein testing is one of the basic laboratory analyses required primarily to assess the risk of atherosclerotic cardiovascular disease (AS CVD), to diagnose dyslipidemia, and to set and control therapy. Total cholesterol (TC), triacylglycerols (TG), LDL-cholesterol (LDLC) and HDL-cholesterol (HDLC) concentrations are routinely measured, apolipoprotein B (APOB) concentration is usually added individually. A relatively new risk factor (RF) is Lipoprotein(a) (LPA). Serum/plasma appearance (chylosity) must always be assessed. Interpretation of the results should be complex in the context of all the analyses performed, including the very important information on serum/plasma appearance.

The interpretation of the results must take into account the fact, that the particular analytes are not present in the blood per se, but are always bound in the blood lipoproteins. However, these have different potentials for the development of AS KVO. For example, high TC or TG levels may or may not be RF for AS KVO - it depends on which lipoprotein fraction predominantly carries cholesterol and triglycerides. Only mildly to moderately elevated TGs are RF for AS KVO, whereas very high TGs do not increase the risk of AS KVO but the risk of acute pancreatitis. Thus, an elevated TC level should always be interpreted in the context of serum appearance and TG level. LDLC is a key parameter for assessing the risk of AS KVO and initiating or monitoring therapy. Its result should take into account the fact, that LDLC measurement is not standardised: different manufacturers' diagnostic kits with different measurement procedures are used in the „direct measurement“ and several different formulas can be used to calculate LDLC. As a consequence, results can vary significantly between laboratories. The same applies to HDLC. Therefore, when assessing changes in LDLC concentration in a particular patient, the measurement should always be performed in the same laboratory using the same method. Both the „direct measurement“ and the LDLC calculation are often unreliable at elevated TGs and at very low LDLC concentrations achieved by current LDLC-lowering biological therapy. The „classical“ Friedewald formula calculation should therefore be replaced by one of the new, more reliable and verified formulae (refs. 1, 2). From the calculated parameters, the laboratory should always automatically calculate the non HDLC, which is necessary to estimate the risk of AS KVO according to the SCORE2 tables (citation 3). APOB or non HDLC should be used instead of LDLC in patients with diabetes mellitus, metabolic syndrome, obesity, renal insufficiency, and combined hyperlipoproteinemia. In these clinical situations, LDLC may underestimate the risk of AS CVD, because it does not account for the risk conferred by elevated concentrations of remnant atherogenic lipoproteins. The importance of HDLC is declining, it is no longer considered an independent RF of AS KVO, its high concentrations do not protect against the development of AS KVO and its increase by pharmacotherapy has not provided any benefit (ref. 3). A relatively new RF is LPA. This is now considered an independent RF for AS KVO and for aortic valvular stenosis, but is not

an RF for venous thrombosis (ref. 4). It is genetically determined (its levels change only minimally over the life course) and should be interpreted solely in the context of the other RFs of AS KVO (including hypertension, diabetes, smoking, ...). LPA is extremely variable in terms of its composition and weight and its measurement is therefore far from any international standardisation. Results are reported (depending on the diagnostic kit used) in either mass or molar units. Reciprocal conversion of units is not possible because we do not know the molecular weight of the Lp(a) particle for a particular patient. Therefore, a basic condition for a correct interpretation of the results is the measurement in the same laboratory with the same diagnostic kit. The reference limits (physiological values) of blood lipids and lipoproteins on the laboratory report sheet should reflect expert recommendations, especially respecting the very low target (optimal) LDL-C values, as well as ApoB and non HDL-C (ref.

4) for high-risk patients. Setting LDL-C cutoffs between approximately 0.5 and 2.6 mmol/l is key, so that even very low values below 1.0 mmol/l, necessary to induce regression of atherosclerosis and improve prognosis in high-risk patients, are not listed as “pathological” or “out of reference” on the laboratory report of findings.

Key words: cholesterol; triglycerides; apolipoprotein B; lipoprotein(a); HDL-cholesterol; LDL-cholesterol

REFERENCES

1. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB et al. *JAMA* 2013;310:2061-2068
2. Sampson M et al. *JAMA Cardiol* 2020;5:540-548
3. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM et al. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227-3337
4. Kronenberg F, Mora S, Stroe ES et al. *Eur Heart J* 2022;43:3925-46



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 27–28

DYSLIPOPROTEINÉMIA A ATEROSKLERÓZA OD ZAČIATKU PO DIAGNOSTICKÉ NOVINKY

DYSLIPOPROTEINEMIA AND ATHEROSCLEROSIS - FROM THE BEGINING TO DIAGNOSTIC NOVELTIES

Jozef Turay

Oddelenie klinickej biochémie a hematológie, Poliklinika- LDCH, s.r.o., Detva

jturay@upcmail.sk

SÚHRN

Reálne klinické skúmanie rizikových faktorov aterosklerózy u ľudí sa začalo Framinghamskou štúdiou v roku 1949. V tejto štúdii bolo doteraz vyšetrených 15447 probandov, počas troch generácií. Milníkom vo výskume lipoproteínov a aterosklerózy bol rok 1995, zavedením programu NCEP (National Cholesterol Education Program USA). V roku 2019 bol predstavený program Naliehavá úloha pre menežovanie dyslipoproteinémií. Bol vytvorený systém SCORE (Systematic Coronary Risk Estimation) Európskou kardiologickou spoločnosťou (ECS) a Európskou spoločnosťou pre aterosklerózu (EAS) na základe stanovovania koncentrácie cholesterolu. V roku 2021 ECS zaviedla systém SCORE 2 a systém SCORE-OP (old people - starší ľudia), ktorá už nebola založená na stanovovaní cholesterolu, ale na stanovovaní non HDL cholesterolu. Počas posledných 10 rokov sa nahromadili sľubné doklady o ceramidoch a fosfolipidoch ako potenciálnych mediatoch aterosklerotických ochorení koronárnych arterií, alebo ako ich prognostických markerov. Na základe týchto poznatkov Zora Biosciences a Mayo Clinic vytvorili CERT 1 score (Cardiovascular Event Risk Test 1) založené na plazmatickej hladine špecifických ceramidov a CERT 2 score založené na plazmatickej hladine ceramidov a fosfolipidov. CERT1 a CERT 2 sú teraz uvádzané do klinickej praxe. Novým prognostickým pa-

rametrom sú LDL-Tg (LDL-triacylglyceroly). Zvýšené LDL-triacylglyceroly sú výrazne združené so zvýšeným rizikom kardiovaskulárnych ochorení (CAD – koronárnych ochorení, ischemickej mozgovej príhody, a PAD-ochorení periférnych arterií). Jednou z posledných novinek je, že hlavným rizikovým faktorom pre PAD nie je LDL-Ch, ale remnant-cholesterol. Dilema je pri používaní Friedewaldovej rovnice pre výpočet LDL-Ch, ktorá vykazuje horšie parametre než Martin-Hopkinsova rovnica, ktorá používa modifikovateľný faktor pre pomer Tg:VLDL-Ch, ktorý zabezpečuje presnejšiu klasifikáciu rizika rozvoja aterosklerózy a cieľových hodnôt liečby, než Fiedewaldova rovnica. Implementácia týchto poznatkov do klinickej praxe je jednoduchá a bez finančných nákladov. Extracelulárne vezikuly, ktoré sú uvoľňované z leukocytov, trombocytov a erytrocytov, sú novým rizikovým faktorom v rozvoji aterosklerózy tiež.

Kľúčové slová: ceramidy; fosfolipidy; nový systém SCORE; Martin-Hopkinsova rovnica

ABSTRACT

Real clinical investigation of atherosclerosis risk factors in humans begins with the Framingham study in 1949. A group of three generations of 15,447 participants participated in this study to this time. The NCEP (Na-

tional Cholesterol Education Program (USA)) introduced in 1995 represents a milestone in the research related to lipoproteins and atherosclerosis. In 2019, the program Urgent task for the management of dyslipoproteinemias was introduced. The SCORE (Systematic Coronary Risk Estimation) system was created by the European Society of Cardiology (ECS) and the European Atherosclerosis Society (EAS) based on cholesterol determination. In 2021, ECS introduced the SCORE 2 and SCORE-OP (OP standing for old people) systems relying on measurements of non HDL cholesterol rather than total cholesterol levels. A promising body of evidence involving ceramides and phospholipids as potential mediators of atherosclerotic coronary disease (CAD) or prognostic biomarkers has accumulated during the last ten years. Based on this knowledge, Zora Biosciences and Mayo Clinic developed the CETR 1 (Cardiovascular Event Risk Test 1) score based on specific ceramides plasma levels and CERT 2 based on plasma of specific ceramides and phospholipids levels. CERT1 a CERT 2 score are now being introduced into the clinical practice.

A new prognostic parameter is LDL-Tg (LDL triglycerides). Elevated LDL triglycerides levels are robustly associated with an increased risk of cardiovascular diseases (CAD, ischemic stroke and PAD - peripheral artery disease). One of the latest novelties is the finding that for PAD, it is the remnant cholesterol rather than LDL-Ch that is the main risk factor.

There is still the dilemma associated with the use of the Friedewald equation for the calculation of LDL-Ch levels as it shows worse parameters than the Martin-Hopkins equation relying on the modifiable factor for the Tg:VLDL-Ch ratio ensuring a more accurate classification of the risk of development of atherosclerosis and target treatment parameters compared with the Friedewald equation.

The implementation of these findings into clinical practice would be straightforward and virtually at no costs. Extracellular vesicles release by leukocytes, platelets and erythrocytes are new risk factors in atherogenesis, too.

Keywords: ceramides; phospholipids; new SCORE system; Martin-Hopkins equation



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 29–31

DIÉTNE STRATÉGIE PRI MANAŽMENTE DYSLIPOPROTEINÉMII A PRI PREVENCIÍ KARDIO-VASKULÁRNYCH CHORÔB DIETARY STRATEGIES IN THE MANAGEMENT OF DYSLIPIDEMIAS AND IN THE PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASES

Peter Minárik^{1,2,3}

¹Biomedicínske centrum SAV, Bratislava,

²Inštitút pre prevenciu a intervenciu, Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava,

³Onkologický ústav sv. Alžbety, II. Rádiologická klinika LFUK a OÚSA, Gastroenterologické oddelenie, Bratislava

peterminarik57@gmail.com

SÚHRN

Personalizované liečebno-preventívne intervencie na individuálnej aj populačnej úrovni patria medzi základné a významné opatrenia smerujúce k podpore normalizácie parametrov lipidového metabolizmu a k manažmentu dyslipidémii (DL). Metabolický syndróm (MetS) je súborom metabolických rizikových faktorov charakterizovaných viscerálnou obezitou, hypertenziou, hyperglykémiou (inzulínová rezistencia), dyslipidémiou (hypertriacylglycerolémia) a nízkou hladinou HDL cholesterolu. Úprava životného štýlu, najmä stravovacích návykov, je hlavnou terapeutickou stratégiou liečby a manažmentu DL a MetS. Špecifické úpravy stravy, medzi ktoré patrí najmä zlepšenie kvality potravín a zmena distribúcie jednotlivých makronutrientov, preukázali priaznivé účinky na jednotlivé parametre DL a MetS. Pri porovnaní viacerých nutrične reštrikčných diét s dietetickými stratégiami zameranými na komplexné zmeny v stravovacích vzorcoch, vedecké dôkazy podporujú viac zmeny celkových stravovacích režimov než zameranie sa na jednotlivé nutrienty. Zo všetkých diétnych stratégií zameraných na zlepšenie MetS sa najviac vedeckých prác venovalo používaniu stredomorskej diéty a diéty na zastavenie hypertenzie (Dietary Approaches to Stop Hypertension, DASH). Stále však platí, že zníženie energetického príjmu v strave spolu so zavedením, resp. zvýšením fyzickej ak-

tivity patria medzi najdôležitejšie opatrenia pri komplexnom manažmente MetS. Práca sumarizuje zásadné stravovacie a nutričné opatrenia pri manažmente DL, ktoré prinášajú oficiálne odporúčania Európskej kardiologickej spoločnosti a Európskej spoločnosti pre aterosklerózu (2019).

Kardio-vaskulárne choroby (KVCH), ktorých hlavnou súčasťou sú aterosklerotické KVCH (ASKVCH), sú v Európe každoročne príčinou viac než 4 miliónov úmrtí. Prevencia sa definuje ako koordinovaný súbor opatrení na úrovni jednotlivca i populácie a ich cieľom je v tomto prípade eliminovať alebo minimalizovať KVCH. Význam prevencie ASKVCH je nesporný a mal by sa poskytovať na individuálnej ako aj populačnej úrovni. Strava a výživa patria medzi dôležité rizikové faktory ischemickej choroby srdca. Medzi ďalšie rizikové faktory súvisiace s **výživou patrí obezita, vysoký krvný tlak, nekontrolovaný diabetes mellitus 2. typu a strava s vysokým obsahom nasýtených mastných kyselín (MK)**. Naopak strava s nízkym obsahom nasýtených MK, s vysokým obsahom vlákniny a rastlinných potravín a zníženým príjmom kuchynskej soli môže výrazne znížiť riziko vzniku kardio-vaskulárnych chorôb). Medzi stravovacie a nutričné opatrenia zamerané na zníženie rizika ASKVCH spadá veľa konkrétnych opatrení, medzi ktoré patrí napríklad vylúčenie alebo obmedzenie vypráňaných pokrmov, obmedzená konzumácia spracovaných

a najmä ultraspracovaných potravín, obmedzená konzumácia rafinovaných obilnín a ich náhrada celozrnnými obilnými výrobkami, obmedzená konzumácia červeného mäsa a ich náhrada chudým hydinovým mäsom a rybami, vylúčenie údenín z červeného mäsa, ako aj viacero **ďalších opatrení**. Práca sumarizuje zásadné stravovacie a nutričné opatrenia pri prevencii KVCH, ktoré prinášajú oficiálne odporúčania Európskej kardiologickej spoločnosti o prevencii KVCH (2021).

Implementácia programov, stratégií a intervencie v záujme zvyšovania potravinovej a nutričnej gramotnosti populácie patrí medzi najdôležitejšie opatrenia zamerané na zlepšenie stravovania v záujme prevencie a komplexnej liečby MetS a ASKVCH. V snahe o takúto implementáciu je dôležité nielen zvyšovať stravovacie znalosti ľudí, ale pozitívne meniť aj ich stravovacie postoje a stravovacie správanie.

Kľúčové slová: metabolický syndróm; stravovacie vzorce; stredomorská diéta; DASH diéta; kardio-vasculárne choroby; mastné kyseliny; vláknina; implementácia

ABSTRACT

Personalized treatment and preventive interventions at the individual and population levels are among the basic and important measures aimed at supporting the normalization of lipid metabolism parameters and the management of dyslipidemias (DL). The metabolic syndrome (MetS) is a set of metabolic risk factors characterized by visceral obesity, hypertension, hyperglycaemia (insulin resistance), dyslipidaemia (hypertriglycerolaemia), and low HDL cholesterol. Modification of lifestyle, especially dietary habits, is the main therapeutic strategy for the treatment and management of DL and MetS. Specific dietary modifications, which mainly include improving the quality of food and changing the distribution of individual macronutrients, have shown beneficial effects on individual parameters of DL and MetS. When comparing multiple nutrient-restrictive diets with dietary strategies aimed at comprehensive changes in dietary patterns, scientific evidence supports more changes in overall dietary patterns than focusing on individual nutrients. Of all the dietary strategies aimed at improving MetS, the use of the Mediterranean diet and the Diet to Stop Hypertension (DASH) have received the most sci-

entific work. However, it is still true that the reduction of energy intake in the diet together with the introduction or increasing physical activity are still among the most important measures in the comprehensive management of MetS. The lecture summarizes essential dietary and nutritional measures in the management of DL, which are provided by the official recommendations of the European Society of Cardiology and the European Society for Atherosclerosis (2019).

Cardiovascular diseases (CVD), the main part of which are atherosclerotic CVD (ASCVD), are the cause of more than 4 million deaths in Europe every year. Prevention is defined as a coordinated set of measures at the individual and population levels, and their goal in this case is to eliminate or minimize CVD. The importance of ASCVD prevention is indisputable and should be provided at the individual as well as the population levels. Diet and nutrition are important risk factors for ischemic heart disease. Other nutrition-related risk factors include obesity, high blood pressure, uncontrolled type 2 diabetes mellitus, and a diet high in saturated fatty acids (SFA). On the contrary, a diet with a low content of saturated micronutrients, with a high content of fibre and plant foods and a reduced intake of table salt can significantly reduce the risk of developing cardiovascular diseases (CVD). Dietary and nutritional measures aimed at reducing the risk of ASCVD include many specific measures, which include, for example, the exclusion or limitation of fried foods, limited consumption of processed and especially ultra-processed foods, limited consumption of refined cereals and their replacement with whole grain cereal products, limited consumption of red meat and their replacement with lean poultry meat and fish, exclusion of red meat sausages, as well as several other measures. The lecture summarizes essential dietary and nutritional measures for the prevention of CVD, which are provided by the official recommendations of the European Society of Cardiology on the prevention of CVD (2021).

The implementation of programs, strategies and interventions in order to increase the food and nutrition literacy of the population is one of the most important measures aimed at improving diet in order to prevent and comprehensively treat MetS and ASKVCH. In the pursuit of such an implementation, it is important not only to increase people's dietary knowledge, but also to positively change their dietary attitudes and dietary behaviour.

Key words: metabolic syndrome; dietary patterns; Mediterranean diet; DASH diet; cardiovascular diseases; fatty acids; fibre; implementation

REFERENCES

- 1. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. In European Heart Journal (2020) 41, 111–188. doi:10.1093/eurheartj/ehz455**
- 2. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. In European Heart Journal (2021) 42, 3227–3337. doi:10.1093/eurheartj/ehab484**



Laboratorňa Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 32–33

FAMILIÁRNÍ HYPERCHOLESTEROLÉMIE - FENOTYP VERSUS GENOTYP FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA - PHENOTYPE VERSUS GENOTYPE

Janka Franeková^{1,3}, Tomáš Freiberger^{2,4}, Antonín Jabor^{1,3}

¹ Institut klinické a experimentální medicíny, Pracoviště laboratorních metod, Praha

² Centrum kardiiovaskulární a transplantační chirurgie, Genetická laboratoř, Brno

³ 3. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

⁴ Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

jafa@ikem.cz

SOUHRN

Familiární hypercholesterolémie (FH) je nejčastější autosomálně dominantní onemocnění. Prevalence heterozygotní formy onemocnění v běžné populaci je 1:313, u pacientů s ICHS je 10krát vyšší, 20krát vyšší u osob s předčasnou ICHS a 23krát vyšší u osob s těžkou hypercholesterolémií (Behesti a kol., 2020).

Genetickým podkladem FH je monogenní mutace v genu pro LDL receptor na chromozomu 19p13 (80-90%), mutace v genu pro apolipoprotein B (ApoB) na chromozomu 2p24-23 (5-10%), nebo mutace genu pro PCSK9 na chromozomu 1p32 (≤ 5%).

Fenotypicky se FH projevuje zvýšenou koncentrací LDL cholesterolu u dospělé populace obvykle s hodnotami nad 6,5 mmol.L⁻¹, u dětí obvykle nad 4,1 mmol.L⁻¹. V rodinách se vyskytuje předčasná ICHS ve věku 50-60 let.

Metodika: Porovnání kazuistik jedinců s familiární hypercholesterolémií s obdobným genotypem a rozdílnou fenotypickou a klinickou manifestací.

Cíle: Upozornit na vhodnost screeningu familiární hypercholesterolémie a projekt MedPed (Projekt MedPed, nd).

Výsledky: Prezentováno formou kazuistik.

Závěr: V rodinách se stejným genotypem se klinická a fenotypová manifestace FH může lišit. Je vhodné v rámci mezinárodního projektu **MedPed** (Make early diagnosis

to Prevent early deaths in Medical Pedigrees) vyšetřit rizikové jedince a cílenou terapií snížit počet předčasných úmrtí u osob s geneticky determinovanými, avšak léčitelnými poruchami metabolismu lipidů.

Klíčová slova: familiární hypercholesterolémie; genotyp; klinická manifestace

ABSTRACT

Familial hypercholesterolemia (FH) is the most common autosomal dominant disease. The prevalence of the heterozygous form of the disease in the general population is 1:313, it is 10 times higher in patients with CHD, 20 times higher in people with early CHD and 23 times higher in people with severe hypercholesterolemia (Behesti et al., 2020).

The genetic basis of FH is a monogenic mutation in the gene for the LDL receptor on chromosome 19p13 (80-90%), a mutation in the gene for apolipoprotein B (ApoB) on chromosome 2p24-23 (5-10%), or a mutation in the gene for PCSK9 on chromosome 1p32 (≤ 5%). Phenotypically, FH is manifested by an increased concentration of LDL cholesterol in the adult population, usually with values above 6.5 mmol.L⁻¹, in children usually above 4.1 mmol.L⁻¹. Premature CHD occurs in families at the age of 50-60 years.

Comparison of case reports of individuals with familial hypercholesterolemia with similar genotype and different phenotypic and clinical manifestation.

Objectives: Draw attention to the suitability of screening for familial hypercholesterolemia and the MedPed project (Projekt MedPed, nd).

Results: Case reports presentation.

Conclusion: In families with the same genotype, the clinical and phenotypic manifestation of FH may differ, it is appropriate to examine at-risk individuals through the international project MedPed (Make early diagnosis to Prevent early deaths in Medical Pedigrees) and reduce the number of premature deaths in people with genetically determined, but treatable disorders of lipid metabolism.

Key words: familial hypercholesterolemia; genotype; clinical manifestation

REFERENCES

1. **Beheshti, S.O. et al. (2020)** 'Worldwide prevalence of familial hypercholesterolemia: Meta-analyses of 11 million subjects', *Atherosclerosis* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.10.075>.
2. **Projekt MedPed : Česká Společnost Pro Aterosklerózu (no date)**. Available at: <https://athero.cz/projekt-medped/> (Accessed: 7 August 2024).



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 34–36

PEDIATRICKÉ LABORATÓRIUM: ŠPECIÁLNE POTREBY PRE ŠPECIÁLNYCH PACIENTOV

THE PEDIATRIC LABORATORY: SPECIAL NEEDS FOR SPECIAL PATIENTS

Alena Vasilenková, Lenka Poláková, Katarína Schenková, Claudia Šebová

Pracovisko klinickej biochémie, Oddelenie laboratórnej medicíny, Národný ústav detských chorôb, Bratislava

alena.vasilenkova@nudch.eu

SÚHRN

Laboratórna medicína, poskytujúca vyšetrenia v pediatrickom zariadení, sa vyznačuje mnohými typickými znakmi podľa špeciálnych potrieb chorých novorodencov a detí, ktoré sa metabolicky aj biochemicky líšia od dospelých. Tieto rozdiely súvisia s vývojom, rastom a ochoreniami. Významne ovplyvňujú mnohé aspekty laboratórnej medicíny od základných prevádzkových problémov až po výber vyšetrení a prístrojovej techniky. Niektoré špecifické znaky pediatrického laboratória je možné stručne charakterizovať:

Najväčším problémom v pediatrii sú malé objemy vzorky, ktoré obmedzujú každý krok laboratórneho procesu od spracovania veľmi malých objemov až po interpretáciu výsledkov. Objem krvi, ktorý možno bezpečne odobrať každý deň, vychádza z celkového objemu krvi v tele. Aktuálne usmernenia odporúčajú max. 3% celkového objemu krvi v tele za deň deťom mladším ako 2 mesiace a nie viac ako 10% objemu krvi u zdravých detí starších ako 2 mesiace. Odbery krvi na laboratórne vyšetrenia u kriticky chorých detí na JIS za deň sú však často oveľa vyššie. V pediatrickej praxi sa hľadajú riešenia, ako znížiť objem odobratej krvi na laboratórne vyšetrenia, hlavne u kriticky chorých detí a novorodencov, ktorí majú navyše fyziologicky vyšší hematokrit, čo v praxi znamená odber väčšieho objemu krvi na požadovaný objem séra. Riešením sú vyšetrenia

z plnej krvi, ktoré sú v špeciálnych prípadoch preferované na laboratórne testovanie: využívajú malé objemy krvi, nevyžadujú žiadne spracovanie a nemajú požiadavky na mŕtvy objem. Pediatrické laboratória potrebujú špeciálnu logistiku týkajúcu sa distribúcie vzoriek a príjmu biologického materiálu. Malé objemy krvi sú náchylné na rýchle znehodnotenie, najmä hemolýzou a odparovaním. Odber krvi a príjem vzoriek prebieha celý deň. Venepunkcia a odbery kapilárnej krvi u malých detí sú oveľa zložitejšie, pokiaľ ide o fyziológiu a psychológiu pacienta. Potrebná je úzka spolupráca laboratória s klinickým personálom, aby sa predišlo preanalytickým chybám, ktoré následne môžu viesť k opakovaným odberom krvi. Vzorky novorodencov a dojčiat je možné odberať do mikrotainerov. Použitie týchto miniatúrnych skúmaviek predstavuje niekoľko prekážok v laboratórnom pracovnom procese. Nemožno ich označiť štandardným štítkom s barkódom, je potrebné prepipetovanie do malých vzorkových nádobiek, manuálne zadať analýzu, čo môže spôsobiť chybu a predĺžiť čas analýzy. Viac manuálnych krokov vyžaduje väčšie požiadavky na personál. Pediatrické laboratórium poskytuje špeciálne spektrum vyšetrení s inými analytickými nastaveniami, rozdielnym meracím rozsahom, presnosťou a s elimináciou často prítomných pediatrických interferencií (bilirubínu, lipidov a hemoglobínu). Problémom v pediatrii sú nízke hladiny fyziologických intervalov

ťažko detegovateľné bežnými analytickými postupmi. Využívaním pediatrických aplikácií a nelineárnych viacbodových kalibrácií sa znižuje detekčný limit analytu až do hraníc fyziológie pediatrického pacienta. Otázka výberu biochemického analyzátoru je v pediatrickom laboratóriu kľúčová.

Musí spĺňať viaceré kritériá:

- Poskytovať spektrum vyšetrení so zameraním na pediatrické choroby
- Eliminovať vplyv častých interferencií pri analýzach
- Musí vyhovovať vysokej urgentnosti vyšetrení (60 – 70% vyšetrení je v statimovom režime) bez zdĺhavých údržbových akcií s minimálnymi mŕtvymi a pipetovacími objemami

Veľkým problémom je interpretácia laboratórných výsledkov u detí. Stanovenie pediatrických referenčných intervalov je náročná úloha z dôvodu problematickeho naboru subjektov, odberov primeraného objemu krvi a inherentným fyziologickým zmenám mnohých biomarkerov s vekom. V pediatrickom laboratóriu sa používajú výlučne referenčné intervaly z literárnych zdrojov, ktoré treba v laboratóriu verifikovať na podmienky konkrétnych metód a analyzátorov. V súčasnosti žiaľ existujú kritické medzery v presných a aktuálnych pediatrických referenčných intervaloch vykonaných u novorodencov, detí a dospelých. Sú často zastaralé, neodrážajú aktuálne používané analyzátory a analytické metódy, realizujú sa na rôznej populácii. Pre vekovú kategóriu novorodencov často úplne absentujú. Napriek tomu viaceré medzinárodné štúdie zlepšili interpretáciu výsledkov pediatrických testov a súlad s požiadavkami medzinárodnej akreditácie.

Kľúčové slová: pediatrické laboratórium; objem krvi; interferencie

ABSTRACT

Laboratory medicine, providing examinations in a pediatric facility, is characterized by many typical features according to the special needs of sick newborns and children, who differ metabolically and biochemically from adults. These differences are related to development, growth, and diseases. They significantly influence many aspects of laboratory medicine, from basic operational issues to test selection and instrument techniques.

Some specific features of a pediatric laboratory can be briefly characterized as follows: The biggest problem in

pediatrics is small sample volumes limiting every step of the laboratory process, from handling very small volumes to result interpretation. The volume of blood that can be safely drawn each day is based on the total blood volume in the body. Current guidelines recommend a maximum of 3% of the total blood volume in the body per day for children under 2 months old and no more than 10% of the blood volume for healthy children over 2 months old. However, blood samples for laboratory tests on critically ill children in the ICU per day often reach greater volumes. In pediatric practice, solutions are being sought to reduce the volume of blood drawn for laboratory tests, especially in critically ill children and newborns, who in addition have a physiologically higher hematocrit, requiring a larger blood sample for the desired serum volume. Full blood examinations, which utilize small blood volumes, require no processing, and have no requirements for dead space, are preferred in special cases for laboratory testing.

Pediatric laboratories require special logistics for sample distribution and biological material reception. Small blood volumes are prone to rapid degradation, especially by hemolysis and evaporation. Blood sampling and sample reception occur throughout the day. Venipuncture and capillary blood sampling in small children are much more complicated due to patient physiology and psychology. Close collaboration between the laboratory and clinical staff is necessary to prevent preanalytical errors that could lead to repeated blood draws. Samples from newborns and infants can be collected in microtainers. The usage of these miniature tubes presents several obstacles in the laboratory workflow. They cannot be labeled with a standard barcode; instead, they need to be pipetted into small sample vials, manually entered for analysis, which can cause errors and lengthen the analysis time. More manual steps require higher personnel demands.

A pediatric laboratory provides a special spectrum of tests with different analytical settings, measurement ranges, precision, and the elimination of common pediatric interferences (bilirubin, lipids, and hemoglobin). Another problem in pediatrics are low physiological interval levels, which are difficult to detect with normal analytical procedures. Utilizing pediatric applications and non-linear multipoint calibrations reduces the analyte detection limit to the boundaries of pediatric patient physiology. The choice of a biochemical analyzer is crucial in a pediatric laboratory.

It must meet several criteria, such as:

- Providing a range of tests focusing on pediatric diseases
- Eliminating the influence of common interferences in analyses
- Meeting high testing urgency requirements (60-70% of tests are in a statim mode) without prolonged maintenance actions and with minimal dead and pipetting volumes.

Interpreting laboratory results in children is a significant challenge. Establishing pediatric reference intervals is demanding due to difficulties in subject recruitment, appropriate blood sampling, and intrinsic physiological changes in many biomarkers with age. Pediatric laboratories exclusively use reference intervals from literary

sources that need to be verified in the laboratory under specific method and analyzer conditions. Unfortunately, there are critical gaps in precise and current pediatric reference intervals performed in newborns, children, and adolescents. They are often outdated, do not reflect current analyzers and methods, and are conducted on various populations. Reference intervals for the newborn age group are often completely missing. Nevertheless, several international studies have improved the interpretation of pediatric test results and compliance with international accreditation requirements.

Key words: pediatric laboratory; blood volume; interferences



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 37–38

BIOCHEMICKÁ GENETIKA V CENTRE DEDIČNÝCH METABOLICKÝCH PORÚCH NÁRODNÉHO ÚSTAVU DETSKÝCH CHORÔB BIOCHEMICAL GENETIC TESTING IN THE CENTRE OF INHERITED METABOLIC DISEASES OF NATIONAL INSTITUTE OF CHILDREN'S DISEASES

Claudia Šebová¹, Anna Šalingová¹, Mária Ostrožlíková¹, Simona Tárnoková¹, Matúš Prídavok¹,
Katarína Lászlová¹, Danka Maceková¹, Katarína Schenková¹, Filip Mičev¹, Lucia Slabá¹, Darina
Schich Behúlová¹, Anna Hlavatá²

¹Centrum dedičných metabolických porúch, Oddelenie laboratórnej medicíny, NÚDCH, Bratislava

²Centrum dedičných metabolických porúch, Detská klinika LF UK a NÚDCH, Bratislava

claudia.sebova@nudch.eu

SÚHRN

Dedičné metabolické poruchy (DMP) predstavujú rôznorodú skupinu ochorení, ktorých spoločným rysom je prítomnosť biochemických alebo enzýmových abnormalít identifikovateľných len špeciálnym vyšetrením. Prístrojová, personálna a finančná náročnosť týchto vyšetrení viedla k potrebe koncentrácie diagnostiky a následného monitorovania pacientov s DMP do špecializovaných diagnostických centier.

Prezentujeme metódy a výsledky diagnostickej činnosti Centra dedičných metabolických porúch Národného ústavu detských chorôb (CDMP NÚDCH), najväčšieho pracoviska biochemickej genetiky na Slovensku. Plní funkciu celoslovenského centra s neustálym prísunom vzoriek detských a v indikovaných prípadoch aj dospelých pacientov zo všetkých regiónov SR. Vykonáva selektívny skríning DMP u suspektných pacientov, celoživotné monitorovanie liečby pacientov s dokázanými DMP, ako aj následné vyšetrenia pacientov so suspektnou DMP po pozitívnej identifikácii rozšíreným novorodeneckým skríningom v Skríningovom centre novorodencov v Banskej Bystrici (s výnimkou fenylketonúrie). V súčasnosti je na pracovisku dostupných 101 DMP parametrov, ročne vyšetříme v priemere 3500 pacientov, u ktorých sa vykoná približne 28 tisíc špeciálnych analýz a profilových vyšetrení. V spektre doteraz zachytených DMP dominujú poruchy oxidácie mastných kyselín, nasledujú aminoacidopatie,

mitochondriové poruchy, lyzozómové ochorenia, organické acidúrie a iné DMP. Centrum pracuje v režime nepretržitej dostupnosti diagnostiky DMP, pre pacientov s akútnymi a život ohrozujúcimi ochoreniami sú vybrané analýzy a urgentné závery zabezpečené 24 hodín denne systémom „on call“. V roku 2017 sa CDMP NÚDCH zaradilo do zoznamu pracovísk pre zriedkavé choroby v SR ako expertízne pracovisko so zameraním na DMP a od roku 2022 je plným členom Európskej referenčnej siete MetabERN.

Biochemická genetika je významným nástrojom pre včasnú diagnostiku pacientov s približne 1400 doposiaľ známymi DMP a vyžaduje si adekvátnu prístrojovú techniku a kvalifikovaný personál. Základom efektivity diagnostického procesu je kvalita diagnostických úvah v prvej línii záchytu a úzka spolupráca ošetrujúcich klinických lekárov a špecializovaného laboratória. Zvýšenie povedomia laickej i odbornej verejnosti o týchto ochoreniach môže významne prispieť k včasnému určeniu diagnózy, a tak výrazne ovplyvniť kvalitu života pacientov a ich rodín.

Kľúčové slová: dedičné metabolické poruchy; biochemická genetika; selektívny skríning

Viaceri autori tejto publikácie sú členmi Európskej referenčnej siete pre zriedkavé dedičné metabolické poruchy (MetabERN).

ABSTRACT

Inherited Metabolic Disorders (IMD) represent a diverse group of diseases characterized by the presence of biochemical or enzymatic abnormalities detectable only through specialized examination. The instrumental, personnel, and financial complexity of these examinations necessitate the concentration of diagnostics and subsequent monitoring of IMD patients in specialized diagnostic centers.

We present the methods and results of the diagnostic activities of the Center of Inborn Metabolic Diseases of the National Institute of Children's Diseases, the largest biochemical genetics facility in Slovakia. It serves as a nationwide center, receiving a continuous supply of samples from pediatric and, in indicated cases, adult patients from all regions of Slovakia.

The center provides selective IMD screening in suspected patients, lifelong monitoring of patients with confirmed IMD, as well as follow-up testing of patients with suspected IMD after positive identification by Expanded Newborn Screening at the Newborn Screening Center in Banská Bystrica (excluding phenylketonuria). Currently, 101 IMD parameters are available at the center, with an average of 3,500 patients investigated annually, in whom around 28,000 special analyses and profile examinations are performed. Among the IMDs detected so far, fatty acid oxidation disorders predominate, followed by aminoacidopathies, mitochondrial disorders, lysosomal storage diseases, organic acidurias, and other IMDs. The center

operates in a mode of continuous availability for IMD diagnostics with selected analyses and urgent conclusions for patients with acute and life-threatening conditions provided 24 hours a day through an on-call system. In 2017, the Center of Inborn Metabolic Diseases of the National Institute of Children's Diseases was included in the list of rare disease centers in Slovakia as an expert facility specializing in IMD, and since 2022, it has been a full member of the European Reference Network MetabERN.

Biochemical genetics is an important tool for the early diagnosis of patients with approximately 1400 known IMDs and requires adequate equipment and qualified staff.

The basis of an effective diagnostic process is the quality of diagnostic considerations in clinical selection and close cooperation between attending physicians and the specialized laboratory. Raising awareness among both the general public and professionals about these diseases can significantly contribute to the timely determination of diagnoses, thereby greatly improving the quality of life for patients and their families.

Keywords: inherited metabolic diseases; biochemical genetics; selective screening

Several authors of this publication are members of the European Reference Network for Rare Hereditary Metabolic Disorders (MetabERN).



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 39–40

TANDEMOVÁ HMOTNOSTNÁ SPEKTROMETRIA A PROBLEMATIKA DEDIČNÝCH METABOLICKÝCH PORÚCH

TANDEM MASS SPECTROMETRY AND INHERITED METABOLIC DISORDERS

Matúš Prídavok¹, Katarína Lászlóvá¹, Danka Maceková¹, Anna Šalingová¹, Simona Tárnová¹,
Anna Hlavatá², Jana Šaligová³, Claudia Šebová¹

¹ Oddelenie laboratórnej medicíny, Centrum dedičných metabolických porúch, Národný ústav detských chorôb, Bratislava

² Detská klinika, Centrum dedičných metabolických porúch, Národný ústav detských chorôb, Bratislava

³ Metabolická ambulancia, Detská fakultná nemocnica, Košice

matus.pridavok@nudch.eu

SÚHRN

Technológia kvapalinovej chromatografie v spojení s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS) sa od 90. rokov 20. storočia začala využívať v oblasti kvantitatívnej bioanalýzy vďaka svojej prirodzenej špecificite, senzitivite a rýchlosti. V súčasnosti je preferovaným nástrojom na kvantifikáciu malých molekúl liečiv, metabolitov a iných xenobiotických biomolekúl v biologických matriciach, ako sú plazma, krv, sérum, moč a tkanivá. LC-MS/MS našla uplatnenie okrem iného aj v oblasti dedičných metabolických porúch (DMP), ktoré predstavujú rozsiahly, rôznorodý a heterogénny súbor zriedkavých genetických ochorení, pričom v súčasnosti je uznaných viac ako 1450 porúch.

V Národnom ústave detských chorôb (NÚDCH) v Bratislave bola LC-MS/MS zavedená do praxe v roku 2019 a využíva sa na analýzu profilu acylkarnitínov v suchej kvapke krvi, voľného karnitínu v sére a moči, profilu purínov a pyrimidínov v moči, guanidínoacetátu a kreatínu v moči.

V roku 2023 viac ako polovicu z celkového počtu vyšetrení tvoril voľný karnitín v sére (54 %), nasledovalo stanovenie guanidínoacetátu a kreatínu v moči (22 %) a 20 % vyšetrení bolo zameraných na profil acylkarnitínov v suchej kvapke krvi. Zvyšné 4 % predstavovalo meranie purínov a pyrimidínov a voľného karnitínu v moči. V priemere sa každý rok analyzuje okolo 1000 vzoriek séra na stanovenie

koncentrácie voľného karnitínu, 400 suchých kvapiek krvi na profil acylkarnitínov a 400 vzoriek moču na určenie exkrécie guanidínoacetátu a kreatínu. Predmetnými vyšetreniami sa do roku 2023 v NÚDCH identifikovalo 208 patologických nálezov, ktoré poukazovali na konkrétnu DMP. Najčastejšími zriedkavými ochoreniami boli deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselín so stredne dlhým reťazcom (MCADD), deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselín s krátkym reťazcom (SCADD) a deficit 3-metylkrotonyl-CoA karboxylázy (3MCCD).

Vzhľadom na široké možnosti LC-MS/MS je možné v budúcnosti predpokladať zavedenie ďalších vyšetrení. Veľkou výhodou tejto technológie sú nízke nároky na objem biologického materiálu, spotrebu chemikálií a nekomplikovaná príprava vzorky pred meraním. Technológia LC-MS/MS je ideálnou voľbou pre rýchlu a presnú diagnostiku v klinickom laboratóriu.

Kľúčové slová: tandemová hmotnostná spektrometria; dedičné metabolické poruchy; profil acylkarnitínov; voľný karnitín; puríny a pyrimidíny; guanidínoacetát; kreatín

Viacerí autori tejto publikácie sú členmi Európskej referenčnej siete pre zriedkavé dedičné metabolické poruchy (MetabERN).

ABSTRACT

Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has been used in quantitative bioanalysis since the 1990s due to its specificity, sensitivity and speed. It is now the preferred tool for the quantification of small molecules of drugs, metabolites and other xenobiotic biomolecules in biological matrices such as plasma, blood, serum, urine and tissues. Among others, LC-MS/MS has found application in the field of inherited metabolic disorders (IMD), which represent a large, diverse and heterogeneous set of rare genetic diseases, with more than 1450 disorders currently recognized.

LC-MS/MS was introduced into practice at the National Institute of Children's Diseases in Bratislava in 2019 and is used to analyse the acylcarnitine profile in dry blood spot, serum and urinary free carnitine, purines and pyrimidines profile in urine, guanidinoacetate and creatine in urine.

In 2023, serum free carnitine accounted for more than half of the total tests performed (54%), followed by guanidinoacetate and urinary creatine determination (22%), and 20 % of the tests focused on the acylcarnitine profile in the dry blood spot. The remaining 4% were measurements of urinary purines and pyrimidines and urinary free carnitine. On average, about 1000 serum samples

are analysed each year for free carnitine levels, 400 dry blood spots for acylcarnitine profile and 400 urine samples for guanidinoacetate and creatine excretion. By 2023, the above mentioned laboratory tests had identified 208 pathological findings that were indicative of a specific IMD. The most common rare diseases were medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD), short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (SCADD) and 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency (3MCCD).

Given the broad capabilities of LC-MS/MS, the introduction of additional investigations can be envisaged in the future. The major advantages of this technology are the low requirements for biological material volume, chemical consumption and the uncomplicated sample preparation before measurement. LC-MS/MS technology is the ideal choice for fast and accurate diagnostics in the clinical laboratory.

Keywords: tandem mass spectrometry; inherited metabolic disorders; acylcarnitine profile; free carnitine; purines and pyrimidines; guanidinoacetate; creatine

Several authors of this publication are members of the European Reference Network for Rare Hereditary Metabolic Disorders (MetabERN).



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 41–43

PRÍNOS MALDI-TOF/MS ANALÝZ V DIAGNOSTIKE DEDIČNÝCH METABOLICKÝCH PORÚCH - PROJEKT GLYCORARE

THE CONTRIBUTION OF MALDI-TOF/ MS ANALYZES IN THE DIAGNOSIS OF INHERITED METABOLIC DISORDERS - THE GLYCORARE PROJECT

Anna Šalingová¹, Zuzana Pakanová³, Marek Nemčovič³, Claudia Šebová¹, Katarína Schenková¹, Anna Hlavatá², Katarína Juríčková², Katarína Brennerová², Mária Matulová³, Iveta Uhliariková³, Filip Pančík³, Rebeka Kodríková³, Maroš Krchňák³, Peter Baráth³

¹Centrum dedičných metabolických porúch, Oddelenie laboratórnej medicíny NÚDCH, Bratislava

²Centrum dedičných metabolických porúch, Detská klinika LF UK a NÚDCH, Bratislava

³Centrum glykomiky, Chemický ústav SAV, Bratislava

anna.salingova@nudch.eu

SÚHRN

Metóda hmotnostnej spektrometrie s laserovou desorpciou/ionizáciou za prítomnosti matrice v spojení s detektorom času letu (MALDI-TOF/MS) je rýchla, neinvazívna a vysoko citlivá metóda, ktorá nachádza čoraz širšie uplatnenie v diagnostike rôznych dedičných metabolických ochorení včítane porúch metabolizmu glykokonjugátov. Glykokonjugáty sú komplexné biomolekuly vznikajúce glykozyláciou, teda väzbou glykánu na molekulu bielkoviny alebo lipidu. Poruchy metabolizmu glykokonjugátov sú rýchlo expandujúcou skupinou zriedkavých ochorení, ktorá zahŕňa poruchy ich syntézy a úpravy (kongenitálne poruchy glykozylácie; CDG) a poruchy ich degradácie (niektoré lyzozómové ochorenia; LSD). Diagnostika týchto ochorení vzhľadom na širokú heterogenitu klinických príznakov a multisystémové postihnutie je často náročná.

Vzorky pacientov s podozrením na poruchy metabolizmu glykokonjugátov sa analyzovali tradičnými skrínin-govými metódami: vysokoúčinnou tenkovrstvovou chromatografiou (HPTLC) a metódou izoelektrickej fokusácie transferínu (IEF). Identifikované pozitívne a hraničné nálezy v patientských profiloch boli následne podrobené analýze na MALDI-TOF/MS, HPLC MS/MS (vysokoúčinná kvapalinová chromatografia s tandemovou hmotnostnou spektrometriou) a ¹H-NMR spektroskopiou (protónová nukleárna magnetická rezonančná spektroskopia).

Štrukturálna analýza glykokonjugátov je dôležitou súčasťou diagnostiky, keďže tradičný skrínin-g nedokáže objasniť presnú molekulovú podstatu patologického nálezu sérového N- a O-glykoprotílu a voľných oligosacharidov v moči (FOS). Ďalšou úlohou bolo vyvinúť metódu pre monitorovanie koncentrácie špecifických biomarkerov u pacientov s Pompeho chorobou (GSD II) a α -manozidózou s cieľom posúdiť efektivitu nastavenej liečby. Osobitnou výzvou bola identifikácia potenciálne možných biomarkerov pri vytypovaných metabolických poruchách (SLC35A2-CDG - porucha galaktózového transportéra a MPS III - mukopolysacharidóza III. typu), ktoré by viedli k efektívnejšiemu záchytu týchto ochorení.

V práci sumarizujeme výsledky spolupráce medzi CDMP NÚDCH a ChÚ SAV v rámci projektu GlycoRare v období 2019-2022. Na základe pozitívneho selektívneho skrínin-gu bolo zachytených a charakterizovaných celkovo 23 nových prípadov CDG a LSD s popísanými patogénnymi, ale aj novými, doteraz neznámymi mutáciami. U pacientov s Pompeho chorobou (16) a α -manozidózou (4) bola v pravidelných intervaloch monitorovaná účinnosť enzýmovej terapie kvantitatívnym stanovením zmien v hladinách špecifických biomarkerov na báze ¹H-NMR spektroskopie a HPLC MS/MS. U konkrétnych metabolických ochorení (SLC35A2-CDG a MPS IIIA) boli identifikované nové diagnostické biomarkery, resp. ich panely.

Realizovaná štúdia predstavuje veľký prínos v diagnostike zriedkavých metabolických porúch spojených so syntézou a katabolizmom glykokonjugátov. Ich včasná diagnostika je kľúčová pre liečbu a často rozhoduje o miere poškodenia pacienta. Metóda hmotnostnej spektrometrie pre svoju vysokú analytickú špecifickosť a citlivosť predstavuje alternatívu k bežne rutinne používaným skriningovým metódam a aj vďaka svojej nižšej finančnej a časovej náročnosti by mala predchádzať molekulárno-genetickým analýzám (NGS). Úzka spolupráca medzi vedeckými inštitúciami a diagnostickými centrami sa stáva kľúčovou v objasňovaní molekulárnej podstaty týchto ochorení.

Kľúčové slová: CDG; LSD; FOS; MALDI-TOF/ MS; ¹H-NMR spektroskopia

Podakovanie: Táto práca bola podporovaná Ministerstvom zdravotníctva Slovenskej republiky v rámci projektu s registračným číslom 2019/7-CHÚSAV-4, projektami APVV-20-0243, APVV-18-0336 a VEGA 2/0060/21. Niekoľkí autori tejto publikácie sú členmi Európskej referenčnej siete pre zriedkavé dedičné metabolické poruchy (MetaBERN) –ID projektu 739543.

ABSTRACT

The method of mass spectrometry with laser desorption/ionization in the presence of a matrix in connection with a time-of-flight detector (MALDI-TOF/MS) is a fast, non-invasive and highly sensitive method that is increasingly used in the diagnosis of various hereditary metabolic diseases, including glycoconjugate metabolism disorders. Glycoconjugates are complex biomolecules formed by glycosylation, i.e. binding of a glycan to a protein or lipid molecule. Disorders of glycoconjugate metabolism are a rapidly expanding group of rare diseases that include disorders of their synthesis and modification (congenital glycosylation disorders; CDG) and disorders their degradation (some lysosomal diseases; LSD). The diagnosis of these diseases is often difficult due to the wide heterogeneity of clinical symptoms and multi-system involvement.

Samples from patients with suspected disorders of glycoconjugate metabolism were analyzed by traditional screening methods: high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) and transferrin isoelectric focusing (IEF). Identified positive and borderline findings in patient

profiles were subsequently subjected to MALDI-TOF/MS, HPLC MS/MS (high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry) and ¹H-NMR spectroscopy (proton nuclear magnetic resonance spectroscopy) analysis.

Structural analysis of glycoconjugates is an important part of diagnostics, as traditional screening cannot clarify the exact molecular nature of the pathological finding of serum N- and O-glycoprofile and free oligosaccharides in urine (FOS). Another task was to develop a method for monitoring the concentration of specific biomarkers in patients with Pompe disease (GSD II) and α -mannosidosis in order to assess the effectiveness of the set treatment.

A particular challenge was the identification of potentially possible biomarkers for the identified metabolic disorders (SLC35A2-CDG - galactose transporter disorder and MPS III - mucopolysaccharidosis type III), which would lead to more effective detection of these diseases.

In the work, we summarize the results of the cooperation between CDMP NÚDCH and ChÚ SAV within the GlycoRare project in the period 2019-2022. On the basis of positive selective screening, a total of 23 new cases of CDG and LSD with described pathogenic but also new, up to now unknown mutations were identified and characterized. In patients with α -mannosidosis (4) and Pompe disease (16), the effectiveness of enzyme therapy was monitored at regular intervals by quantitative determination of changes in the levels of specific biomarkers based on ¹H-NMR spectroscopy and HPLC MS/MS. For specific metabolic diseases (SLC35A2-CDG and MPS IIIA) new diagnostic biomarkers or their panels were identified.

The conducted study represents a great contribution in the diagnosis of rare metabolic disorders associated with the synthesis and catabolism of glycoconjugates. Their early diagnosis is crucial for treatment and often determines the degree of damage to the patient. The mass spectrometry method, due to its high analytical specificity and sensitivity, represents an alternative to commonly used screening methods, and due to its lower financial and time-consuming nature, it should precede molecular-genetic analyzes (NGS). Close cooperation between scientific institutions and diagnostic centers is becoming crucial in elucidating the molecular nature of these diseases.

Key words: CDG; LSD; FOS; MALDI-TOF/MS; ¹H-NMR spektroskopia

Acknowledgment: This work was supported by the Ministry of Health of the Slovak Republic within the project with registration number 2019/7-CHÚSAV-4, projects APVV-20-0243, APVV-18-0336 and VEGA 2/0060/21. Several authors of this publication are members of the European Reference Network for Rare Inherited Metabolic Disorders (MetabERN) - Project ID 739543.

REFERENCES

1. **Krchňák, et al. (2023)** "The Application of HPLC-FLD and NMR in the Monitoring of Therapy Efficacy in Alpha-Mannosidosis", *Front Biosci (Landmark Ed)*, 28(2), p.39. doi: 10.31083/j.fbl2802039.
2. **Pakanová, et al. (2019)** "Case study: monitoring of Glc4 tetrasaccharide in the urine of Pompe patients, use of MALDI-TOF MS, and ¹H NMR", *Chemical Papers*, 73, pp. 701–711. doi:[10.1590/2326-4594-jiems-2022-0009](https://doi.org/10.1590/2326-4594-jiems-2022-0009).
3. **Ziburová, et al. (2021)** "A novel homozygous mutation in the human ALG12 gene results in an aberrant profile of oligomannose N-glycans in patient's serum", *American Journal of Medical Genetics Part A*, 185A, pp. 3494–3501. doi: 10.1002/ajmg.a.62474.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 44–45

MULTIMARKEROVÁ STRATEGIE PŘI DIAGNOSTICE ZÁNĚTLIVÝCH A SEPTICKÝCH STAVŮ SE ZAMĚŘENÍM NA INTERLEUKIN-6 A MULTIMARKER STRATEGY IN THE DIAGNOSIS OF SEPSIS AND INFLAMMATION, FOCUSING ON INTERLEUKIN-6

Pavel Malina^{1, 2}

¹ Oddělení klinické biochemie, Nemocnice Písek, a. s., Písek, ČR

² Interní oddělení Nemocnice Písek, a. s., Písek, ČR

malina@nemopisek.cz

SOUHRN

Rozlišení přítomnosti infekčního zánětu, sepse a její nejzávažnější formy septického šoku je každodenní klinickou otázkou v praxi lékaře. Kromě anamnézy, subjektivních potíží fyziologických ukazatelů (tlak, pulz, saturace krve kyslíkem) jsou významnými pomocníky v rozlišení těchto stavů tzv. „markery zánětu“ či lépe markery reakce akutní fáze. Přednáška se zabývá nejběžněji dostupnými ukazateli, a to C-reaktivním proteinem (CRP), prokalcitoninem (PCT) a interleukinem-6 (IL-6).

Prezentované poznatky vycházejí z publikovaných dat, metaanalýz a vlastní klinické zkušenosti lékaře pracujícího na interním oddělení, urgentním příjmu a v laboratoři klinické biochemie. Praktické využití markerů a jejich kombinace je demonstrováno na kazuistikách z reálné praxe.

Cílem sdělením je prezentovat srovnání výhod a limitací nejčastěji užívaných markerů zánětu – CRP, PCT a IL-6.

Nejčastěji používaným markerem k rozlišení přítomnosti zánětu je CRP, jehož limitací je však opožděný vzestup (24-36 hod po začátku akutního zánětu) a stejně tak opožděný pokles (24-48 hodin po reálném klinickém zlepšení). Vzestup prokalcitoninu předchází CRP o 18-24 hod a stejně tak pokles je časnější o 1-2 dny. Prokalcitonin dokáže navíc odlišit přítomnost systémového zánětu (sepse) a septického šoku ve vazbě na míru elevace. Interleukin-6 má nejčasnější dynamiku, ale limituje jej krát-

ký poločas, tj. Rychlý návrat k jen mírně zvýšeným hodnotám. Kombinace uvedených markerů jsou výhodné při neznámém trvání potíží, k odlišení závažných stavů a sledování dynamiky zánětu.

Znalost podrobné patofyziologie, dynamiky, limitací a výhod uvedených markerů je zásadní pro jejich optimální klinické využití. Často si lze vystačit s pouhým CRP, při vážnějších stavech však mají opodstatněné výhody jak prokalcitonin (odlišení závažnosti stavu, sledování dynamiky), tak interleukin-6 (nejčasnější nástup, diagnostika novorozenecké sepse).

Klíčové slová: zánět; seps; C-reaktivní protein; prokalcitonin; interleukin-6

ABSTRACT

Distinguishing the presence of infectious inflammation, sepsis, and its most severe form, septic shock, is a daily clinical question in medical practice. In addition to patient history, subjective symptoms, and physiological indicators (blood pressure, pulse, oxygen saturation), so-called “inflammatory markers” or more precisely, acute phase response markers, are significant aids in differentiating these conditions. The lecture deals with the most commonly available indicators, namely C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), and interleukin-6 (IL-6).

The presented findings are based on published data, meta-analyses, and the personal clinical experience of a doctor working in internal medicine, emergency reception, and clinical biochemistry laboratory. Practical use of these markers and their combinations is demonstrated through case studies from real practice.

The aim of the presentation is to compare the advantages and limitations of the most frequently used inflammatory markers – CRP, PCT, and IL-6.

The most commonly used marker to distinguish the presence of inflammation is CRP. Its limitation, however, is a delayed rise (24-36 hours after the onset of acute inflammation) and similarly a delayed decline (24-48 hours after actual clinical improvement). The rise of procalcitonin precedes CRP by 18-24 hours, and similarly, its decline is earlier by 1-2 days. Additionally, procalcitonin can distinguish the presence of systemic inflammation (sep-

sis) and septic shock based on the degree of elevation. Interleukin-6 has the earliest dynamics but is limited by its short half-life, i.e., a rapid return to only slightly elevated values. Combinations of these markers are advantageous when the duration of symptoms is unknown, for distinguishing severe conditions, and for monitoring inflammation dynamics.

Knowledge of the detailed pathophysiology, dynamics, limitations, and advantages of these markers is essential for their optimal clinical use. Often, CRP alone is sufficient, but in more severe conditions, procalcitonin (for distinguishing severity and monitoring dynamics) and interleukin-6 (for the earliest onset, neonatal sepsis diagnosis) have justified advantages.

Key words: inflammation; sepsis; C-reactive protein; procalcitonin; interleukin-6



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 46–48

DYNAMIKA HODNÔT PCT PRI SEPTICKÝCH A ZÁPALOVÝCH STAVOCH DYNAMICS OF PCT VALUES IN SEPTIC AND INFLAMMATORY CONDITIONS

Jozef Firment

I. klinika anestéziológie a intenzívnej medicíny, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice

jozef.firment@upjs.sk

SÚHRN

Viacere biomarkery ako napr. C-reaktívny proteín (CRP), prokalcitonín (PCT), leukocyty a iné, môžu slúžiť ako indikátory zápalu, resp. sepsy. V klinickej praxi, najmä u pacientov v pooperačných a poúrazových stavoch, sa často dostávame do situácie, kedy je potrebné diferencovať neinfekčné príčiny systémovej zápalovej odpovede (SIRS) a príčiny infekčné (sepsa). U pooperačných pacientov môžu súčasne existovať infekčné aj neinfekčné príčiny imunitnej odpovede. V úlohe zápalových biomarkerov máme pomerne významnú pomoc pri identifikácii prítomnosti sepsy či jej intenzity, čo je často súčasťou rozhodovania o nasadzovaní či zmenách stratégie antibiotickej liečby, prípadne možnosti vysadzovania antibiotík a prekladania pacientov do následnej starostlivosti.

Prohormón kalcitonínu je tvorený najmä v C bunkách štítnej žľazy. Tvorba je však aj v iných tkanivách. Pri zápale sa neštiepi na kalcitonín. Hyperkalcémia nemá vplyv na hladiny PCT. Najsilnejším stimulátorom tvorby PCT a jeho uvoľňovania do obehu je baktériový endotoxín. Úloha pri zápale je nejasná. Pri zápale má aj analgetické účinky.

Normálne hladiny sú pod $0,05 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Lokalizované zápalové PCT veľmi nezvyšujú. Stúpa pri systémovej zápalovej reakcii. Koreluje so závažnosťou stavu. Rýchlejšie stúpa ako CRP. Rýchlosť poklesu závisí od závažnosti stavu. Vzostup je po 2-3 hodinách, zhruba 3 hodiny skôr ako CRP. Maximum

dosahuje medzi 8-24 hodinami. Plazmatický polčas je 22-26 hodín. Pokles PCT počas 24 hodín je paralelný s poklesom skóre sepsy (SOFA) a teda zlepšením stavu, čo má prognostický význam. Hladina PCT sa v praxi viaže na podávanie, no najmä na ukončovanie podávania ATB (pri poklese cca o 80%). Toto rozhodovanie sa však opiera o veľmi dôležitý klinický stav pacienta a rozhodnutie lekára, čo je zdôrazňované aj v medzinárodných odporúčaniach pre diagnostiku a liečbu sepsy.

PCT pomáha rozlišovať baktériovú, vírusovú a mykotickú etiológiu. Pri cirhóze aj pri zníženej proteosyntéze nie je ovplyvnená tvorba PCT. Pri autoimunitných zápaloch a pri neopláziách sa obyčajne nezvyšuje PCT. Pri ťažkom renálnom poškodení môže byť hladina PCT falošne zvýšená. Podobne pri karcinóme štítnej žľazy, karcinóme pľúc, pri popáleniach, pri syndróme dychovej tiesne dospelých (ARDS), u novorodencov a po podaní antitumocytárneho globulínu pri transplantácii kostnej drene. PCT nie je výrazne ovplyvňovaný podaním imunopresív tak, ako je to pri významnom znížení CRP pri liečbe imunopresívami, napr. u pacientov po transplantácii pečene.

PCT oproti CRP má vyššiu senzitivitu aj špecifitu pri rozlíšení baktériového od nebaktériového zápalu. Najlepším a najcitlivejším markerom je PCT v porovnaní s CRP, krvným laktátom a SOFA skóre. PCT predikuje 28-dňovú mortalitu pri SIRS. Krvný laktát nerozlišuje SIRS

a sepsu, predpovedá však 28-dňovú mortalitu pri SIRS. Pre odlíšenie SIRS od sepsy sa najviac osvedčil PCT. Ako najcitlivejší marker pre akýkoľvek zápal (infekčný, neinfekčný, systémový alebo lokálny) sa osvedčil CRP.

PCT je dobrý marker na včasné zistenie zápalu. U pooperačných pacientov však môže byť ovplyvnený imunosupresiou, rozsahom a typom operačných zákrokov, základným ochorením a komorbiditami. Preto PCT v prvých dňoch operácie môže slúžiť ako ukazovateľ na začatie včasnej antibiotickej liečby u vysokorizikových pacientov. Biomarkery ako CRP a PCT môžu slúžiť nielen ako podklad na diagnostiku infekcie, ale aj ako prediktor bezpečného prepustenia pacientov z intenzívnej liečby. Zmeny v ich hladinách počas prvých pooperačných dní pomáhajú identifikovať potenciálne prípady sepsy aj jej závažnosť.

Mnohé dôkazy klinického výskumu a každodennej klinickej praxe potvrdzujú, že aj pomer neutrofilov k lymfocytom (NLR, Záhorcov index) je tiež veľmi citlivým markerom zápalu a úrovne stresu. NLR má hlboký biologický zmysel spájajúci funkciu troch suprasystémov: imunitného, endokrinného a autonómneho nervového systému.

Kľúčové slová: sepsa; systémový zápal; prokalcitonín

ABSTRACT

Several biomarkers such as C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), leukocytes and others can serve as indicators of inflammation, respectively sepsis. In clinical practice, especially in patients in postoperative and post-traumatic conditions, we often find ourselves in a situation where it is necessary to differentiate between non-infectious causes of systemic inflammatory response (SIRS) and infectious causes (sepsis). In postoperative patients, both infectious and non-infectious causes of the immune response may coexist. In the role of inflammatory biomarkers, we have relatively significant help in identifying the presence of sepsis or its intensity, which is often part of the decision-making about the use or changes in the strategy of antibiotic treatment, or the possibility of stopping antibiotics and transferring patients to follow-up care.

Calcitonin prohormone is formed mainly in the C cells of the thyroid gland. However, the formation is also in other tissues. It is not split into calcitonin during inflammation. Hypercalcemia does not affect PCT levels. The strongest stimulator of PCT formation and its release into

the circulation is bacterial endotoxin. The role in inflammation is unclear. It also has analgesic effects in case of inflammation.

Normal levels are below $0.05 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Localized inflammation does not increase PCT much. Increases in systemic inflammation. It correlates with the severity of the condition. It rises faster than CRP. The rate of decline depends on the severity of the condition. The rise is after 2-3 hours, roughly 3 hours earlier than CRP. It reaches its maximum between 8-24 hours. Plasma half-life is 22-26 hours. A decrease in PCT during 24 hours is parallel to a decrease in the sepsis score (SOFA) and thus an improvement in the condition, which has prognostic significance. In practice, the PCT level is linked to the administration, but especially to the termination of ATB administration (with a decrease of approx. 80%). However, this decision is based on the very important clinical condition of the patient and the doctor's decision, which is also emphasized in the international recommendations for the diagnosis and treatment of sepsis.

PCT helps distinguish between bacterial, viral and fungal etiology. PCT formation is not affected in both cirrhosis and reduced proteosynthesis. PCT is usually not increased in autoimmune inflammations and neoplasias. In severe renal impairment, the PCT level may be falsely elevated. Similarly, in thyroid cancer, lung cancer, in burns, in adult respiratory distress syndrome (ARDS), in newborns and after administration of antithymocyte globulin in bone marrow transplantation. PCT is not significantly affected by the administration of immunosuppressants, as is the case with a significant decrease in CRP with immunosuppressant treatment, e.g. in patients after liver transplantation.

Compared to CRP, PCT has a higher sensitivity and specificity for distinguishing bacterial from non-bacterial inflammation. The best and most sensitive marker is PCT compared to CRP, blood lactate and SOFA score. PCT predicts 28-day mortality in SIRS. Blood lactate does not distinguish between SIRS and sepsis, but predicts 28-day mortality in SIRS. PCT has been most effective in differentiating SIRS from sepsis. CRP has proven to be the most sensitive marker for any inflammation (infectious, non-infectious, systemic or local).

PCT is a good marker for early detection of inflammation. In postoperative patients, however, it can be influenced by immunosuppression, the extent and type of

surgical procedures, the underlying disease and comorbidities. Therefore, PCT in the first days of surgery can serve as an indicator for the initiation of early antibiotic treatment in high-risk patients. Biomarkers such as CRP and PCT can serve not only as a basis for the diagnosis of infection, but also as a predictor of the safe discharge of patients from intensive care. Changes in their levels during the first postoperative days help to identify potential cases of sepsis and its severity.

Many evidences from clinical research and daily clinical practice confirm that the ratio of neutrophils to lymphocytes (NLR, Zahorec index) is also a very sensitive marker of inflammation and stress level. NLR has a deep biological meaning connecting the function of three suprasystems: immune, endocrine and autonomic nervous system.

Key words: sepsis; systemic inflammation; procalcitonin

REFERENCES

1. **Evans L, Rhodes A, Alhazzani W et al. (2021)** Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 47, 1181–1247. <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06506-y>
2. **Firment J, Hulin I. (2024)** Zahorec index or Neutrophil-to-lymphocyte ratio, valid biomarker of inflammation and immune response to infection, cancer and surgery. *Bratisl Med J* 125 (2), 75–83.
3. **Hassan J, Khan S, Zahra R, et al. (2022)** Role of Procalcitonin and C-reactive Protein as Predictors of Sepsis and in Managing Sepsis in Postoperative Patients: A Systematic Review. *Cureus*. 14(11): e31067. DOI 10.7759/cureus.31067



Laboratorna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 49–50

MARKERY ZÁNĚTU – NEDÍLNÁ SOUČÁST ANTIMIKROBIÁLNÍHO STEWARDSHIPU MARKERS OF INFLAMMATION – AN ESSENTIAL PART OF ANTIMICROBIAL STEWARDSHIP

Helena Lahoda Brodská

Klinická biochemie ÚLBDL, 1. LF UK a VFN, Praha

Helena.LahodaBrodsk@vfn.cz

SOUHRN

Laboratorní diagnostika významně přispívá k co nejdříve cílené antibiotické léčbě. Markery zánětu obecně by měly jasně identifikovat zánět, odlišit infekční a neinfekční etiologii, popisovat závažnost stavu a mít schopnost vést antibiotickou terapii. Zásadní je možnost stanovení v režimu 24/7, tedy STATIM, a snadná interpretace. V běžné klinické praxi indikujeme kombinaci zánětlivých markerů, nejčastěji C-reaktivní protein (CRP), počet leukocytů, diferenciální rozpočet, ICIS a při podezření na sepsi procalcitonin (PCT), eventuálně presepsin (PRE), interleukin 6 (IL-6) a další. Pro přehlednost uvádíme v prezentaci soubor běžně indikovaných markerů zánětu a jejich patofyziologické konsekvence. Bohužel žádný z uvedených markerů není „troponinového typu“, tedy s téměř absolutní specifitou pro infekci, proto je pro správnou interpretaci nutné použít nejen kombinaci těchto parametrů, ale i výsledky jiných, např. zobrazovacích metod a vše je nutné posuzovat v klinickém kontextu. Stále hledáme parametr, který by nám pomohl s větší jistotou odlišit infekční etiologii od neinfekční zánětlivé reakce a kolonizaci od infekce. Při interpretaci se snažíme získat nové pohledy na „staré“ markery na základě nejnovějších poznatků.

V závěru obou prezentací budou prezentovány 2 kazuistiky s praktickým využitím biomarkerů v rámci ATM.

Klíčová slova: antimikrobiální stewardship; procalcitonin; ICIS; seps

ABSTRACT

Laboratory diagnostics significantly contribute to the earliest possible targeted antibiotic treatment. Markers of inflammation in general should clearly identify inflammation, differentiate between infectious and non-infectious etiology, describe the severity of the condition, and have the ability to guide antibiotic therapy. The possibility of determination in 24/7 mode, i.e. STATIM, and easy interpretation is essential. In normal clinical practice, we indicate a combination of inflammation markers, most often C-reactive protein (CRP), leukocyte count, differential budget, ICIS and, if sepsis is suspected, procalcitonin (PCT), possibly presepsin (PRE), interleukin 6 (IL-6) and more. For clarity, we present a set of commonly indicated markers of inflammation and their pathophysiological consequences in the presentation. Unfortunately, none of the mentioned markers is of the “troponin type”, i.e. with almost absolute specificity for infection, so for a correct interpretation it is necessary to use not only a combination of these parameters, but also the results of other ones, e.g. imaging methods, and everything must be assessed in a clinical context. We are still searching for a parameter that would help us distinguish infectious

etiology from non-infectious inflammatory response and colonization from infection with greater certainty. When interpreting, we try to get new perspectives on “old” markers based on recent findings.

At the end of both presentations, 2 case studies with the practical use of biomarkers in ATM stewardship will be presented.

Key words: antimicrobial stewardship; procalcitonin; ICIS; sepsis



Laboratorňa Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 51–52

ANTIMIKROBIÁLNÍ STEWARDSHIP V KLINICKE PRAXI ANTIMICROBIAL STEWARDSHIP IN CLINICAL PRACTICE

Václava Adámková

Klinická mikrobiologie a ATB centrum 1. LF Uk a VFN, Praha

vaclava.adamkova@vfn.cz

SOUHRN

Včasné nasazení antibiotik k léčbě infekcí snižuje nemocnost a zachraňuje životy. Přibližně 80 % všech antibiotik předepsaných v primární péči je však buď zbytečných nebo neoptimálních. Stejně jako všechny léky mají antibiotika závažné nežádoucí účinky, které se vyskytují zhruba u 20 % hospitalizovaných pacientů, kteří je dostávají. Zneužívání antibiotik také přispělo k rezistenci vůči antibiotikům, což je vážná hrozba pro veřejné zdraví.

Optimalizace používání antibiotik je zásadní pro účinnou léčbu infekcí, ochranu pacientů před poškozením způsobeným zbytečným užíváním antibiotik a pro boj proti antibiotické rezistenci. Antimikrobiální rezistence se vyskytuje přirozeně, ale byla urychlena lidskými faktory, včetně špatné kontroly infekcí, globálního cestování a nesprávného užívání léků. Antimikrobiální stewardship je ucelený soubor akcí, které podporují používání antimikrobiálních látek způsoby, které zajišťují udržitelný přístup k účinné léčbě pro všechny, kdo je potřebují. Historicky se „antimikrobiální stewardship“ většinou používal v úzkém kontextu programů v rámci jednotlivých nemocnic. S narůstající vzdáleností mezi subjektem a předepisujícím nebo uživatelem antimikrobiální látky mají tyto akce tendenci stát se podpůrnější nebo strukturnější povahy, schopné, jak umožnit odpovědné užívání antimikrobiálních látek, tak v různé míře omezit nevhodné nebo zby-

tečné použití. Antimikrobiální stewardship je ústředním bodem úsilí o zajištění přístupu k účinným antimikrobiálním látkám pro všechny, kteří je dnes i zítra potřebují. Bude demonstrována role nových a starých biomarkerů v AMS, role kumulativních antibiogramů jako základního prvku AMS a laboratorního výstražného systému jako kritického nástroje AMS v klinické praxi.

Klíčová slova: antimikrobiální stewardship, rezistence, biomarkery

ABSTRACT

Prompt initiation of antibiotics to treat infections reduces morbidity and saves lives. However, about 80% of all antibiotics prescribed in primary care are either unnecessary or suboptimal. Like all medications, antibiotics have serious adverse effects, which occur in roughly 20% of hospitalized patients who receive them. The misuse of antibiotics has also contributed to antibiotic resistance, a serious threat to public Health.

Optimizing the use of antibiotics is critical to effectively treat infections, protect patients from harm caused by unnecessary antibiotic use, and combat antibiotic resistance. Antimicrobial resistance occurs naturally but has been accelerated by human factors, including poor infection control, global travel, and misuse of medicines.

Antimicrobial stewardship is a coherent set of actions which promote using antimicrobials in ways that ensure sustainable access to effective therapy for all who need them. Historically, 'antimicrobial stewardship' was mostly used in the narrow context of programmes within individual hospitals. As the distance between an actor and the prescriber or user of an antimicrobial grows, the actions tend to become more supportive or structural in nature, capable of both enabling responsible antimicrobial use and restricting inappropriate or unnecessary use to varying degrees.

Antimicrobial stewardship is central to efforts to ensure access to effective antimicrobials for all who need them, today and tomorrow.

The role of new and old biomarkers in AMS, the role of cumulative antibiograms as a core element of AMS and laboratory alert system as a critical tool of AMS in clinical practice will be demonstrated.

Key words: antimicrobial stewardship, resistance, biomarkers



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 53–54

COVID-19, LONG COVID A AUTOIMUNITA COVID-19, LONG COVID AND AUTOIMMUNITY

Ľubomíra Romanová

Klinika anestéziológie a intenzívnej medicíny, Fakultná nemocnica J.A.Reimana, Prešov

romanova@fnspresov.sk

SÚHRN

Long COVID syndróm zahŕňa syndrómy a chronické následky po COVID-19 po 5. týždni od akútneho ochorenia, ktoré nie sú vysvetlené iným ochorením. (WHO definícia).

Long COVID je pravdepodobne spôsobený dlhodobým poškodením tkaniva vírusom a pokračujúcim zápalom. Patofyziológia long COVID sa opiera o vírusovú perzistenciu v tkanivách, imunitnú dysreguláciu. Jeden z najdôležitejších patomechanizmov je autoimunita. Pri jej rozvoji sa uplatňujú: 1. MCAS - *Idiopathic Mast Cell Activation Syndrome*. Syndróm aktivácie žírnych buniek a ich degranulácie je potenciálne život ohrozujúca hyperzápalová komplikácia, ktorá sa vyskytuje 2-6 týždňov po primárnej infekcii SARS-CoV-2. 2. *Hyperferitin syndróm* je syndróm aktivácie makrofágov a neutrofilov. Zvýšené hladiny feritínu u pacientov s COVID-19 sú zohľadňované ako zápalový ale aj prognostický marker. Hladiny feritínu u tých, ktorí neprežili ochorenie, boli oveľa vyššie ako u tých, ktorí prežili. 3. *Vrodená imunita a adaptívna imunita*. 4. *Cytokínová búrka* je imunitná reakcia, pri ktorej organizmus uvoľňuje do krvi príliš veľa a príliš rýchlo cytokíny. Cytokínová búrka vedie k multiorgánovému postihnutiu. Poškodenie orgánov je spôsobené nekontrolovanou imunitnou odpoveďou s nadmernou produkciou cytokínov a aktiváciou imunitných buniek vedúcej aj k produkcii autoprotilátok.

5. *Molekulárne mimikry* je najdôležitejší mechanizmus autoimunity. Molekulárne mimikry na základe podobnosti antigénov medzi cudzími (vírusovými) a vlastnými peptidmi podporuje aktiváciu autoreaktívnych T alebo B buniek. Lymfocyty hostiteľa sa viažu na konkrétne miesto antigénov - epitop. Výsledkom je produkcia protilátok proti tkanivu hostiteľa. Kumulatívne dôkazy naznačujú, že SARS-CoV-2 môže vyvolať hyperstimuláciu imunitného systému, čo vedie k syntéze autoprotilátok a autoimunity. Hlavnými prejavmi sú vaskulitída, reumatoidná artritída, systémová skleróza, Crohnova choroba a sarkoidóza, imunitná trombocytopenická purpura.

Kľúčové slová: COVID-19; long COVID; autoimunita; molekulárne mimikry

ABSTRACT

Long COVID syndrome includes syndromes and chronic sequelae after COVID-19 after 5 weeks from the acute illness that are not explained by another illness. (WHO definition).

Long COVID is likely caused by long-term tissue damage from the virus and ongoing inflammation. Pathophysiology of long COVID is based on viral persistence in tissues, immune dysregulation. One of the most important pathomechanism is autoimmunity. In its development,

the following apply: 1. MCAS - Idiopathic Mast Cell Activation Syndrome. Mast cell activation and degranulation syndrome is a potentially life-threatening hyperinflammatory complication that occurs 2-6 weeks after primary infection with SARS-CoV-2. 2. Hyperferritin syndrome is a syndrome of activation of macrophages and neutrophils. Elevated ferritin levels in patients with COVID-19 are taken into account as an inflammatory but also a prognostic marker. Ferritin levels in non-survivors were much higher than in survivors. 3. Innate immunity and adaptive immunity. 4. Cytokine storm is an immune reaction in which the body releases too many cytokines into the blood too quickly. Cytokine storm leads to multiorgan involvement. Organ damage is caused by an uncontrolled immune response with excessive production of cytokines and activation of immune cells leading to the production of autoantibodies. 5. Molecular mimicry is the most important mechanism of autoimmunity. Molecular mimicry based on antigenic similarity between foreign (viral) and self peptides promotes the activation of autoreactive T or B

cells. The host's lymphocytes bind to a specific site of antigens - an epitope. This results in the production of antibodies against the host's tissue. Cumulative evidence suggests that SARS-CoV-2 can induce hyperstimulation of the immune system, leading to autoantibody synthesis and autoimmunity. The main manifestations are vasculitis, rheumatoid arthritis, systemic sclerosis, Crohn's disease and sarcoidosis, immune thrombocytopenic purpura.

Key words: COVID-19; long COVID; autoimmunity; molecular mimicry

REFERENCES

1. **Davis HE, McCorkell L, Vogel JM, Topol EJ. (2021)** Long COVID: major findings, mechanism and recommendations. *Nat Rev Microbiol.* 2023 Mar;21(3):133-146.
2. **Shoenfeld Y, Dotan A.** Autoimmunity, COVID-19, Post-COVID19 syndrome and COVID-19 vaccination ; Elsevier, *1st Edition, Volume 1 - December 3, 2023* ; ISBN 978-0-443-18566-3



Laboratorňa Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 55–56

BECKMAN COULTER – STRATEGIE, CÍLE, LIDÉ BECKMAN COULTER – STRATEGY, TARGETS, PEOPLE

Lukáš Palivec

Beckman Coulter Česká Republika, Praha

lpalivec@beckman.com

SOUHRN

Jaké jsou aktuální trendy klinické diagnostiky? Jaké nároky na technologii a služby mají zdravotnická zařízení, laboratoře? Jak, jakožto představitel předního výrobce a dodavatele IVD technologie, si správně stanovit cíle? Jak správně sestavit vítězný tým?

Autor v roce 2002 dokončil Vysokou školu chemicko-technologickou obor Analytické chemie, na kterou navázal postgraduálním studiem v oboru speciálních spektroskopických metod dokončeným v roce 2005. Ihned po ukončení studia nastoupil do společnosti Immunotech, která je součástí koncernu firmy Beckman Coulter, na pozici validačního inženýra výrobní divize manuálních diagnostických souprav (ELISA, RIA), ze které se po ročním působení přesunul do obchodní divize na pozici produktového specialisty v oblasti biochemických analyzátorů. Po pětiletém působení na této pozici přijal výzvu rozvíjející se společnosti DiaSorin, kde pracoval na pozici obchodního a marketingového manažera. V roce 2016 se vrací zpět do společnosti Beckman Coulter, aby pomohl založit nové oddělení zaměřené na automatizaci klinických laboratoří s oblastí působení ve střední a východní Evropě. Od roku 2024 zastává pozici Commercial Country Leader v ČR a SR.

Společnost Beckman Coulter patří mezi světové lídry v oblasti IVD. Nabízí inovativní řešení v podobě produktů a služeb v oborech klinické biochemie, imunochemie,

imunologie, hematologie, močové analýzy, informační technologie a laboratorní automatizace. Firma disponuje výrobními závody v USA, Německu, Irsku a Japonsku a po celém světě zaměstnává více než 10 000 lidí. Sídlem společnosti je Brea, Kalifornie, USA. Na Slovensku má vlastní zastoupení v Bratislavě s lokální servisní a obchodní podporou. Úzce spolupracuje s entitou v České republice.

Klíčové slová: Beckman Coulter; IVD; klinické laboratoře; automatizace

ABSTRACT

What are the current trends in clinical diagnostics? What technology and service requirements do medical facilities and laboratories have? How, as a representative of a leading manufacturer and supplier of IVD technology, do you set your goals correctly? How to correctly assemble a winning team?

In 2002, the author graduated from the University of Chemistry and Technology, majoring in Analytical Chemistry, which he followed up with postgraduate studies in the field of special spectroscopic methods completed in 2005. Immediately after completing his studies, he joined the company Immunotech, which is part of the Beckman Coulter concern, as a validation engineer production division of manual diagnostic kits (ELISA, RIA), from which

he moved to the sales division after one year of work as a product specialist in the field of biochemical analyzers. After five years in this position, he accepted the challenge of the developing company DiaSorin, where he worked as a sales and marketing manager. In 2016, he returned to Beckman Coulter to help establish a new department focused on clinical laboratory automation with operations in Central and Eastern Europe. From 2024, he holds the position of Commercial Country Leader in the Czech Republic and Slovakia.

Beckman Coulter is one of the world leaders in IVD. It offers innovative solutions in the form of products and

services in the fields of clinical biochemistry, immunochemistry, immunology, hematology, urinalysis, information technology and laboratory automation. The company has production facilities in the USA, Germany, Ireland and Japan and employs more than 10,000 people worldwide. The company is headquartered in Brea, California, USA. In Slovakia, it has its own representative office in Bratislava with local service and sales support. It works closely with an entity in the Czech Republic.

Key words: Beckman Coulter; IVD; clinical laboratories; automation



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 57–57

INOVÁCIE BECKMAN COULTER BECKMAN COULTER INNOVATIONS

Jozefína Bernátová

Beckman Coulter Slovenská Republika, Bratislava

jbernatova@beckman.com

SÚHRN

Laboratórna diagnostika hrá kľúčovú úlohu v modernom zdravotníctve, pretože predstavuje rýchlu a presnú diagnostiku zdravotného stavu pacienta, čo je nevyhnutné pre efektívnu liečbu. Beckman Coulter sa zameriava na neustále zlepšovanie všetkých aspektov diagnostického procesu, od vývoja nových technológií až po implementáciu efektívnych automatizovaných pracovných postupov, ktoré umožňujú laboratóriám kvalitne spracovať aj veľké množstvá vzoriek. Poskytuje laboratóriám inteligentné a rýchle diagnostické riešenia, ktoré posúvajú hranice od toho, čo je teraz, k tomu, čo bude v budúcnosti. Ďalší rozvoj v oblasti umelej inteligencie (AI) a strojového učenia môže ešte viac zlepšiť diagnostické procesy, ktoré sú nevyhnutné, pretože otázky súvisiace so stanovením diagnózy pacienta potrebujú rýchle a správne odpovede.

Kľúčové slová: Beckman Coulter; laboratórna diagnostika; inovácie; kvalita

ABSTRACT

Laboratory diagnostics play a crucial role in modern healthcare, as provide a rapid and accurate diagnosis of a patient's health status, which is essential for effective treatment. Beckman Coulter focuses on continuously improving all aspects of the diagnostic process, from developing new technologies to implementing efficient automated workflows that enable laboratories to process large volumes of samples with high quality. They provide laboratories with intelligent and fast diagnostic solutions that push the boundaries from what is now to what will be in the future. Further advancements in artificial intelligence (AI) and machine learning can further enhance diagnostic processes, which are essential because questions related to patient diagnosis require quick and accurate answers.

Key words: Beckman Coulter; laboratory diagnostics; innovation; quality



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 58–59

NAŠE CESTA K DXI 9000 V RUTINNÍM PROVOZU ANEB CO NÁM DXI 9000 DALO A VZALO OUR WAY TO DXI 9000 IN ROUTINE OPERATION OR WHAT DXI 9000 GAVE AND TOOK AWAY FROM US

Alena Tichá¹, Tereza Tietze², Eva Drncová³

¹Fakultní nemocnice Hradec Králové, ÚKBD

²Beckman Coulter ČR

³Nemocnice Na Homolce, OKBHI

alena.ticha@fnhk.cz

SOUHRN

Firma Beckman Coulter uvedla v roce 2023 na trh nový imunochemický analyzátor DxI9000. Analyzátor nabízí několik unikátních technických řešení. Jde zejména o absenci denní údržby (ZeroDaily Maintenance), systém kamer monitorujících každý krok analýzy (Precision Vision) a nový typ substrátu LumiPhos PRO.

METODA

Chemiluminiscence na paramagnetických částicích na analyzátorech DxI9000 a DxI800.

CÍL

Provést verifikaci testů na stanovení Tg, Vitaminu B12, folátu, hCGβ (Total-beta), AFP a nekonjugovaného estriolu i v rámci prenatálního screeningu. Porovnat výsledky pacientů s analyzátořem DxI800 firmy Beckman Coulter. Rovněž bylo cílem porovnat NT-proBNP s analyzátořmi Roche (absenci denní údržby, vlastnosti nového „rychlého“ substrátu) a připravit uvedené metody na převod do rutinního laboratorního provozu.

VÝSLEDKY

Všechny testy vyhovují specifikacím výrobce a požadavkům laboratoře.

ZÁVĚR

Analyzátor DxI9000 byl v květnu 2024 převeden do rutinního provozu, kde nahradil DxI800.

Klíčová slova: Beckman Coulter; DxI9000; Precision Vision; ZeroDaily Maintenance

ABSTRACT

Beckman Coulter launched a new DxI9000 immunochemistry analyzer in 2023. The analyzer offers several unique technical solutions. This is mainly about the absence of daily maintenance (ZeroDaily Maintenance), a system of cameras monitoring every step of the analysis (Precision Vision) and a new type of LumiPhos PRO substrate.

METHOD

Chemiluminescence on paramagnetic particles on DxI9000 and DxI800 analyzers.

AIM

To verify tests for determination of Tg, Vitamin B12, folate, hCGβ (Total-beta), AFP and unconjugated estriol such as part of prenatal screening. Compare patient results with the Beckman Coulter DxI800 analyzer. The aim was also to Compare NT-proBNP with Roche analysers

(absence of daily maintenance, properties of the new “fast” substrate) and to prepare the mentioned methods for transfer to routine laboratory operation.

RESULTS

All tests meet the manufacturer’s specifications and laboratory requirements.

CONCLUSION

The DxI9000 analyzer was brought into routine operation in May 2024, replacing the DxI800.

Key words: Beckman Coulter; DxI9000; Precision Vision; ZeroDaily Maintenance



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 60–61

PROBLEMATIKA NUTRIČNEJ TERAPIE U VYBRANÝCH DIAGNÓZ PROBLEMS OF NUTRITIONAL THERAPY IN SELECTED DIAGNOSES

Katarína Babinská

Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Fyziologický ústav

katarina.babinska@fmed.uniba.sk

SÚHRN

Chronické choroby ako obezita, diabetes mellitus, či ochorenia kardiovaskulárneho systému patria i naďalej medzi poruchy zdravia s vysokou prevalenciou.

Významnou súčasťou manažmentu uvedených ochorení sú nutričné terapie a intervencie.

Problematikou výživy pacientov s obezitou, diabetes mellitus a kardiovaskulárnymi chorobami sa zaoberá veľký počet výskumných štúdií, vďaka čomu možno súčasne nutričné odporúčania označiť ako evidence-based, t.j. založené na vedeckých poznatkoch. Zatiaľ čo v minulosti sa nutričné terapie sústredili na izolované živiny (napr. tuky pri kardiovaskulárnych chorobách, jednoduché cukry pri diabetes mellitus), súčasné odporúčania kladú dôraz na výživu ako celok a zdôrazňujú stravu zloženú z nutrične hodnotných potravín. Výskumy preukazujú efektívnosť stravy bohatej na rastlinné zložky založenej na vysokom zastúpení ovocia, zeleniny, celozrnných obilnín, strukovín, rastlinných olejov, orechov a semien, rýb a plodov mora, konzumáciou primeraného množstva mliečnych výrobkov, vajec a bieleho mäsa. Odporúča sa obmedzovať najmä spracované mäsové výrobky, potraviny s pridaným cukrom a soľou, sladené nápoje a ďalšie vysokospracované potraviny s nízkou výživovou hodnotou. V rámci nutričných terapií chronických chorôb sa ako príklad dobrej praxe uvádza stredomorská strava alebo flexitariánska výživa.

Pre dosiahnutie lepšej spolupráce s pacientom a akceptácie nutričného plánu je vhodný personalizovaný prístup vychádzajúci zo zdravotného stavu a nutričných preferencií pacienta, ale i ďalších faktorov ako finančné možnosti alebo sociálne faktory. Odborníci a odborníčky ako lekári, dietológovia, či nutriční terapeuti sú prostredníkmi medzi pacientom a aktuálnymi vedeckými poznatkami a z nich vychádzajúcimi odporúčaniami. Veda o výžive neustále napreduje, preto štúdiám a oboznamovaniu sa s novými poznatkami patria medzi dôležité úlohy a výzvy pre odborníkov a odborníčky. Poznanie nových vedeckých faktov má i ďalší nezanedbateľný aspekt. Súčasnosť charakterizuje široký prístup k informáciám, pričom práve výživa je oblasťou, kde sa často stretávame s dezinformáciami, ktoré môžu byť prekážkou pri akceptácii nutričnej intervencie zo strany pacienta. Komplexnou otázkou je motivácia a podpora pacienta pri zmene stravovacích návykov, kde sa popri osobných konzultáciách otvárajú i možnosti využitia elektronických komunikačných prostriedkov.

Nutričné terapie predstavujú neoddeliteľnú súčasť manažmentu chronických chorôb. Súčasné odporúčania vychádzajúce z bohatých vedeckých poznatkov zdôrazňujú, aby sa výživa pacienta riešila komplexne, nielen so zameraním na izolované živiny, pričom sa odporúča energeticky primeraná strava, ktorej základom je bohaté zastúpenie rastlinných zložiek. Problémom pri nutričných

intervenciách môže byť nedostatočná informovanosť, dezinformácie, nízka motivácia pacienta.

Kľúčové slová: chronické neinfekčné choroby; nutričné intervencie; strava s vysokou nutričnou hodnotou

ABSTRACT

Chronic diseases such as obesity, diabetes mellitus, or diseases of the cardiovascular system still remain among health disorders with a high prevalence rates.

Nutritional therapies and interventions are an important part of the management of these diseases.

A large number of research studies has been focused on nutrition in patients with obesity, diabetes mellitus and cardiovascular diseases. Based on this the body of scientific evidence, current nutritional recommendations can be characterized as evidence-based. While in the past nutritional therapies focused on isolated nutrients (e.g., fats in cardiovascular diseases, simple sugars in diabetes mellitus), current recommendations look at nutrition comprehensively as a sum of all foods consumed, and they emphasize a diet based on foods with high nutritional value. Research shows the effectiveness of a diet rich in plant components, based on a high consumption of fruits, vegetables, whole grains, legumes, vegetable oils, nuts and seeds, as well as fish and seafood, and by consuming moderate amounts of dairy products, eggs and white meat. It is recommended to avoid processed meat products, foods with added sugar and salt, sweetened drinks and other highly processed foods with low nutritional value. In the context of nutritional therapies for chronic diseases, the Mediterranean diet or flexitarian nutrition

are recommended as an example of good practice. In order to achieve better cooperation with the patient and acceptance of the nutritional plan, a personalized approach based on the health status and nutritional preferences of the patient, as well as other factors such as financial or social factors, is recommended. Health professionals such as medical doctors, dieticians, or nutritional therapists are mediators between the patient and current scientific evidence and the recommendations based on it. The science of nutrition is constantly progressing, therefore studying and good orientation in the recent knowledge represent important tasks and challenges for experts. Knowing new scientific facts also has another important aspect. The current time is characterised by a wide access to information. Nutrition is an area where we often encounter misinformation that can be an obstacle to the patient's acceptance of nutritional intervention. A complex issue is the motivation and support of the patient in changing dietary habits. In addition to personal consultations, the possibilities of using electronic communication media also open up.

Nutritional therapies are an integral part of chronic disease management. Current recommendations based on rich scientific evidence emphasize that the patient's nutrition should be addressed comprehensively, not only with a focus on isolated nutrients. An energy-adequate diet rich in plant components is recommended. Lack of information, misinformation, low motivation of the patient can be a challenge in providing nutritional interventions.

Key words: chronic non-communicable diseases; nutritional interventions; diet with high nutritional value



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 62–63

POHĽAD SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI PRE PARENTERÁLNU A ENTERÁLNU VÝŽIVU NA PRAX NUTRIČNEJ TERAPIE THE VIEW OF THE SLOVAK SOCIETY FOR PARENTERAL AND ENTERAL NUTRITION ON THE PRACTICE OF NUTRITIONAL THERAPY

Krivuš Juraj

I. Interná klinika UNM a JLF UK

jurajkrivus@gmail.com

SÚHRN

Slovenská spoločnosť parenterálnej a enterálnej výživy (SSPEV) sa zaoberá problematikou klinickej výživy a porúch metabolizmu. Spája zdravotníckych pracovníkov rôznych špecializácií, lekárov, farmaceutov, zdravotné sestry a ostatných pracovníkov v zdravotníctve a v príbuzných odboroch. Hlavným cieľom odbornej spoločnosti je zvyšovanie povedomia o možnostiach nutričnej starostlivosti a nutričnej terapie a tým zlepšenie kvality života pacientov. SSPEV je registrovaná v Slovenskej lekárskej spoločnosti. Nutričná liečba má zásadný význam pre schopnosť nášho organizmu všeobecne vzdorovať chorobám, odolávať infekciám a vysporiadať sa s úrazmi a operáciami.

Cieľom nutričnej liečby je udržať alebo zlepšiť stav pacienta, chrániť telesné tkanivá aj funkčné zásoby plazmatických bielkovín a zabrániť deficitu makro a mikronutrientov. Nutričná terapia sa môže podávať buď perorálne (nutričné doplnky), alebo pomocou chemicky definovanej výživy „per os“ sipping, alebo do výživovej sondy (enterálna výživa). Ak nie je možné na tento účel využiť tráviaci trakt, podávame výživu vnútrožilovo (parenterálna výživa).

Projekt GROW 3, ktorého cieľom bolo zistiť prevalenciu malnutricie (podvýživy) v slovenských nemocniciach, realizovaný na vzorke 752 pacientov v nemocniciach Po-

prad, Nitra, Banská Štiavnica, Kramáre - Bratislava, Martin, Milosrdní Bratia - Bratislava a nemocnica Rimavská Sobota v priebehu rokov 2019-2023 (vzhľadom ku Covid) spoločnosťou SSPEV a Asociáciou výrobcov klinickej výživy, poukázal na závažný deficit nutričnej starostlivosti o našich pacientov. Až 64,1 % pacientov hospitalizovaných v nemocniciach vykazoval riziko podvýživy až podvýživu. Najviac pacientov s podvýživou alebo rizikom podvýživy bolo na onkologických oddeleniach, geriatrických, nasledovali chirurgické oddelenia a kliniky, interné a neurológia.

Nutričná terapia v kontexte starostlivosti o pacienta má byť vykonávaná pracovníkom spôsobilým na výkon zdravotníckeho povolania podľa zákon č. 578/2004 Z. z. o poskytovateľoch zdravotnej starostlivosti, zdravotníckych pracovníkoch, stavovských organizáciách v zdravotníctve a o zmene a doplnení niektorých zákonov nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností. Kvalifikačnou podmienkou je vysokoškolské vzdelanie prvého stupňa v bakalárskom študijnom programe v študijnom odbore fyziologická a klinická výživa, alebo úplné stredné odborné vzdelanie v študijnom odbore asistent výživy. Legislatíva neumožňuje (nie sú udelené

licencie) samostatný ambulantný výkon povolania nutričný terapeut. V súčasnosti pracuje na Slovensku cca 200 nutričných terapeutov, bohužiaľ práve pre vyššie uvedené sú „zavretí“ v nemocničných kuchyniach a nie pri lôžku pacienta kde by sa mal nutričný terapeut aktívne zapájať do nutričnej terapie pacienta v spolupráci s lekárom. Ich miesto v „teréne“ zaberajú „nutriční špecialisti“ z okruhu fitness trénerov a absolventi Poľnohospodárskej univerzity v Nitre odbor výživa ľudí.

Chýbanie nutričných teamov v nemocniciach definovaných Vestníkom MZSR z roku 2009 a snaha o šetrenie finančných zdrojov manažmentom nemocníc, chýbanie výkonov a DRG kódov v súvislosti s nutričnou terapiou sú ďalšie faktory vedúce k zlyhaniu nutričnej terapie v praxi, výsledkom čoho je 64,1 % pacientov v riziku podvýživy alebo podvyživených.

Kľúčové slová : podvýživa; terapeut; zlyhanie

ABSTRACT

The Slovak Society of Parenteral and Enteral Nutrition (SSPEV) deals with the issue of clinical nutrition and metabolic disorders. It brings together health workers of various specialties, doctors, pharmacists, nurses and other workers in health care and related fields. The main goal of the professional society is to raise awareness of the possibilities of nutritional care and nutritional therapy and thereby improve the quality of life of patients. SSPEV is registered in the Slovak Medical Association. Nutritional treatment is of fundamental importance for our organism's ability to resist diseases in general, to resist infections and to deal with injuries and operations.

The goal of nutritional treatment is to maintain or improve the patient's condition, protect body tissues and functional reserves of plasma proteins, and prevent macro and micronutrient deficits. Nutritional therapy can be given either orally (nutritional supplements), or by means of chemically defined nutrition "per os" sipping, or into a feeding tube (enteral nutrition). If it is not possible to use the digestive tract for this purpose, we administer nutrition intravenously (parenteral nutrition).

The GROW 3 project, the aim of which was to determine the prevalence of malnutrition in Slovak hospitals, was carried out on a sample of 752 patients in the hos-

pitals of Poprad, Nitra, Banská Štiavnica, Kramáre - Bratislava, Martin, Milosrdní Bratia - Bratislava and Rimavská Sobota hospital during the years 2019-2023 (due to to Covid) by SSPEV and the Association of Clinical Nutrition Manufacturers pointed out a serious deficit in nutritional care for our patients. Up to 64.1% of patients hospitalized in hospitals showed a risk of malnutrition to malnutrition. Most patients with malnutrition or at risk of malnutrition were in oncology and geriatric wards, followed by surgical wards and clinics, internal medicine and neurology.

Nutrition therapy in the context of patient care must be performed by a worker qualified to perform a health profession according to Act No. 578/2004 on health care providers, health workers, professional organizations in the health sector and on amendments and additions to certain laws Government Regulation of the Slovak Republic no. 296/2010 on the professional qualification for the performance of the health profession, the method of further education of health workers, the system of specialized departments and the system of certified work activities. or complete secondary vocational education in the field of study nutrition assistant.

Legislation does not allow (no licenses are granted) independent ambulatory exercise of the nutritional therapist profession. Currently, there are approximately 200 nutritional therapists working in Slovakia, unfortunately for the above mentioned, they are "confined" in hospital kitchens and not at the patient's bedside, where the nutritional therapist should be actively involved in the nutritional therapy of the patient in cooperation with the doctor. Their place in the "field" is occupied by "nutrition specialists" from the circle of fitness trainers and graduates of the University of Agriculture in Nitra, department of human nutrition.

The lack of nutritional teams in hospitals as defined by the 2009 Journal of the MZSR and the effort to save financial resources by hospital management, the lack of procedures and DRG codes in connection with nutritional therapy are other factors leading to the failure of nutritional therapy in practice, as a result of which 64.1% of patients are at risk malnourished or malnourished.

Key words: undernutrition; therapist; failure



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 64–66

NUTRIČNÁ TERAPIA V PRAXI A JEJ PROBLÉMY NUTRITIONAL THERAPY IN PRACTICE AND IT'S PROBLEMS

Klaudia Šugrová¹, Jana Berecová Titková², Laura Bereczová³

¹FMC dialyzačné služby s.r.o, Nitra,

²Advokátska kancelária, Nitra,

³Stredná zdravotnícka škola, Nitra

klaudia.sugrova@gmail.com

SÚHRN

Nutricia ako významný determinant zdravia v kontexte životosprávy od narodenia počnúc celým životom ovplyvňuje vznik mnohých ochorení i celoživotných civilizačných chorôb, pričom celkový nutričný stav zohráva dôležitú úlohu vo všetkých fázach ochorenia a nutričná terapia výrazne ovplyvňuje súhrnný priebeh liečby aj kvalitu života pacientov.

V minulosti bola liečebná výživa v SR pre všetky vekové skupiny celoplošne realizovaná multiprofesionálnym tímom kvalifikovaných zdravotníkov s odbornou praxou, pozostávajúcím z lekárov dietológov a diétnych sestier so špecializáciou z liečebnej výživy, ktorá zastávala neodmysliteľné miesto v oblasti diabetológie, gastroenterológie, internej medicíny, obezitológie, nefrológie, onkológie, chirurgie, imunológie, pediatrie, geriatrickej, gynekológie a ďalších medicínskych odborov, avšak v rámci šetriacich opatrení zdravotnej politiky zostali diétny sestry v zdravotníckych zariadeniach nadbytočné, boli vyčiarknuté z katalógu pracovných činností a pacienti sa následne k odbornej kvalifikovanej pomoci nemali možnosť dostať. Napriek nepopierateľným benefitom nutričnej terapie z pohľadu fyziologickej, liečebnej a klinickej výživy, naša zdravotná politika profesiu nutričných terapeutov ani lekárov dietológov už druhé desaťročie neakceptuje. Dlhodobo absentuje koncepcia nutričnej starostlivosti,

kde chýba zadefinovanie hodnotenia výkonov nutričných terapeutov v katalógu výkonov a ich uznanie zdravotnými poisťovňami, dodnes nemáme stanovené štandardy nutričnej terapie ani systémovo ukotvené podmienky na existenciu profesie kvalifikovaných nutričných terapeutov, ktorí by mali pevne ukotvené miesto v liečebnom procese pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti.

Cieľom práce je upriamiť pozornosť na závažnú problematiku zdravotnou politikou dlhodobo podceňovanú. Nutričná terapia ako samostatný zdravotný odbor, ktorý sa zaoberá fyziologickou výživou všetkých vekových skupín obyvateľstva, liečebnou a klinickou výživou pacientov pri malnutriícii, metabolických poruchách, autoimunitných ochoreniach, ochoreniach tráviacich, vylučovacích a endokrinných orgánov a iných ochoreniach, ktoré súvisia s výživou, tvorí neoddeliteľnú, nenahraditeľnú súčasť liečebného procesu pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti v mnohých oblastiach medicíny na lôžkových oddeleniach, klinikách, v ambulantnej sfére, v zariadeniach sociálnej starostlivosti, v centrách sociálnych služieb pre seniorov a krehké komunity, domovoch dôchodcov, detských domovoch, v kúpeľnej starostlivosti aj v školských zariadeniach.

Nerovnováhou medzi prísunom nutričných látok a požiadavkami organizmu, pri multimorbidite, taktiež pri všetkých metabolických poruchách, kedy je narušené spracovanie

a využitie nutrientov, vzniká malnutrícia. Dlhodobým deficitom nutrientov vzniká chronická malnutrícia, ktorá sa prejavuje únavou, vyčerpaním, znížením celkovej telesnej hmotnosti, rapidným úbytkom svalovej hmoty, poklesom fyzickej kondície, zníženou obranyschopnosťou organizmu, metabolickou dekompenzáciou, často oslabenými kognitívnymi funkciami, limitáciou sebaobslužných činností, zlým hojením rán, hypotermiou, vznikom dekubitov, zvýšenou mortalitou a niekoľkonásobne zvýšenými ekonomickými nákladmi na liečbu. Skrytá forma malnutrície je u nás veľmi častá. Profesionálnym dobrovoľníctvom suplujeme systémové nedostatky. Ako odborná pomoc pri komplexnom riešení malnutrície vzniklo občianske združenie KlauDIA. Nezastupiteľné miesto v prevencii a v odhaľovaní rizikových faktorov prináleží tímovej práci ošetrojúceho personálu, kde nutričný terapeut - kvalifikovaný špecialista v dietológii zabezpečuje nutričnú terapiu podľa ordinácie ošetrojúceho lekára. Práve tu zohráva kľúčovú rolu cieleňá personalizovaná nutričná edukácia, skrining nutričného rizika, bilancia nameraných dát pri intenzívnom monitoringu pomocou senzorových technológií, kedy včasnou intervenciou dokážeme eliminovať negatívne dopady, zlepšiť liečebné výsledky, spomaliť progresiu chronických preventabilných chorôb a výrazne zvýšiť kvalitu života pacientov aj profesionálnu úroveň poskytovaná zdravotnej starostlivosti.

Kľúčové slová: nutričná terapia; liečebný proces; nutričný terapeut; malnutrícia; zdravotná starostlivosť

ABSTRACT

Nutrition, as a significant determinant of health in the context of lifestyle from birth throughout one's entire life, influences the development of many diseases and lifelong civilization-related illnesses. The overall nutritional status plays an important role in all stages of disease, and nutritional therapy significantly impacts the overall course of treatment and the quality of life of patients.

In the past, nutritional therapy in Slovakia was implemented by a multidisciplinary team of qualified healthcare professionals, consisting of diet doctors and dietitians specialized in nutritional therapy. These specialists played an essential role in various medical fields such as diabetology, gastroenterology, internal medicine, obesity treatment, nephrology, oncology, surgery, immunology,

pediatrics, geriatrics, gynecology, and other medical disciplines.

However, due to cost-saving measures in healthcare policy, dietitians became redundant and were removed from the catalog of job activities. As a result, patients no longer had access to qualified professional help. Despite the undeniable benefits of nutritional therapy from a physiological, therapeutic, and clinical nutrition perspective, our healthcare policy has not recognized the profession of nutrition therapists or diet doctors for the past two decades.

There has long been a lack of a concept for nutritional care that would define the performance of nutrition therapists in the catalog of procedures and ensure their recognition by health insurance companies. To this day, we do not have established standards for nutritional therapy nor systemically anchored conditions for the existence of the profession of qualified nutrition therapists, who should have a firmly established place in the treatment process within healthcare provision.

The goal of this work is to highlight the significant issue that has been long undervalued by health policy: nutritional therapy. As an independent medical specialty, nutritional therapy addresses the physiological nutrition of all age groups, as well as therapeutic and clinical nutrition for patients with malnutrition, metabolic disorders, autoimmune diseases, gastrointestinal, excretory, and endocrine disorders, and other nutrition-related conditions. Nutritional therapy is an integral and irreplaceable part of the treatment process across various medical fields, including hospital wards, clinics, outpatient care, social care facilities, nursing homes, children's homes, spa care, and educational institutions.

An imbalance between nutrient intake and the body's requirements, especially in cases of multimorbidity and various metabolic disorders where the processing and utilization of nutrients are impaired, leads to malnutrition. Long-term nutrient deficiencies result in chronic malnutrition, which manifests as fatigue, exhaustion, reduction in overall body weight, rapid loss of muscle mass, decline in physical condition, decreased immunity, metabolic decompensation, often weakened cognitive functions, limitations in self-care activities, poor wound healing, hypothermia, the development of pressure ulcers, increased mortality, and significantly higher economic costs for treatment. Hidden malnutrition is very common in our

region. To address these systemic deficiencies through professional volunteerism, the civic association KlauDIA was established to provide expert assistance in the comprehensive management of malnutrition. An indispensable role in the prevention and identification of risk factors belongs to the teamwork of the attending healthcare personnel, where the nutrition therapist – a qualified specialist in dietetics – ensures nutritional therapy according to the attending physician’s orders. Here, targeted personalized nutritional education, nutritional risk screening, and

data balance through intensive monitoring with sensor technologies, along with timely interventions, play a key role in eliminating negative impacts, improving treatment outcomes, slowing the progression of chronic preventable diseases, and significantly enhancing the quality of life for patients as well as the professional level of healthcare provision.

Key words: nutritional therapy; treatment process; nutritional therapist; malnutrition; health care



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 67–67

AKTUÁLNY LEGISLATÍVNY RÁMEC OBLASTI DIAGNOSTICKÝCH ZDRAVOTNÍCKYCH POMÔCOK *IN VITRO* CURRENT LEGISLATIVE FRAMEWORK IN THE FIELD OF DIAGNOSTIC MEDICAL DEVICES *IN VITRO*

Ivan Bernát

Sekcia zdravotníckych pomôcok, ŠÚKL, Bratislava

ivan.bernat@sukl.sk

SÚHRN

Prezentácia sa zaoberá aktuálnym regulačným rámcom v oblasti diagnostických zdravotníckych pomôcok *in vitro* na základe európskej a slovenskej legislatívy, ako aj príslušných odporúčaní koordinačnej skupiny venujúcej sa zdravotníckym pomôckam – MDCG.

Informuje o povinnostiach dôležitých pre jednotlivé hospodárske subjekty (výrobca, splnomocnený zástupca, dovozca, distribútor), ktoré sú dôležité vzhľadom na bezpečnosť a dostupnosť diagnostických zdravotníckych pomôcok *in vitro* uvedených na trh EÚ.

Kľúčové slová: regulačný rámec; diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*, IVDR

ABSTRACT

The presentation deals with the current regulatory framework in the field of *in vitro* diagnostic medical devices based on European and Slovak legislation, as well as relevant recommendations of the coordination group dedicated to medical devices - MDCG.

It informs about the obligations important for individual economic entities (manufacturer, authorized representative, importer, distributor) which are important regarding the safety and availability of *in vitro* diagnostic medical devices placed on the EU market.

Key words: regulatory framework; *in vitro* diagnostic medical device, IVDR



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 68–68

KAPILÁRNA ELEKTROFORÉZA: NÁJDE SI MIESTO NA SLOVENSKU? CAPILLARY ELECTROPHORESIS: WILL IT FIND A PLACE IN SLOVAKIA?

Jozef Ševcech
SEBIA Slovakia s.r.o

jsevcech@sebia.com

SÚHRN

Kapilárna elektroforéza je separačná technológia založená na delení zlúčenín na základe ich rozdielnej pohyblivosti v elektrickom poli. Od jej vzniku podstúpila mnoho vylepšení a v komerčnej sfére a klinických laboratóriách je neustále využívaná viac a viac. Vďaka za to nielen automatizácii, ale aj narastajúcej kvalite výsledkov, či množstvu analyzovaných parametrov ako sú sérové proteíny, vrátane typizácie monoklonálnych proteínov, Hb elektroforézy, HbA1c, CDT.

Prístroje SEBIA na kapilárnu elektroforézu boli vyvinuté tak, aby poskytovali úplnú automatizáciu s rýchlou separáciou proteínov pri vysokom rozlíšení. Sebia CAPILLARYS je v súčasnosti celosvetovo najpoužívanejším systémom kapilárnej elektroforézy v klinických laboratóriách na celom svete s viac ako 8000 umiestneniami.

Kľúčové slová: kapilárna elektroforéza; SEBIA; glykovaný hemoglobín

ABSTRACT

Capillary electrophoresis is a separation technology based on the separation of compounds depending on their different mobility in an electric field. Since its development, it has undergone many improvements and is constantly being used more and more in the commercial sphere and clinical laboratories. This is due to automation but also to the increasing quality of results as well as to the number of analyzed parameters such as serum proteins, including typing of monoclonal proteins, Hb electrophoresis, HbA1c, CDT.

SEBIA capillary electrophoresis instruments have been developed to provide full automation with rapid protein separation at high resolution. Sebia CAPILLARYS is currently the most widely used capillary electrophoresis system in clinical laboratories worldwide with more than 8000 locations.

Key words: capillary electrophoresis; SEBIA; HbA1c



Laboratorňa Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 69–69

NAPLNILA LABORATORNÍ AUTOMATIZACE OČEKÁVÁNÍ A CÍLE? HAS THE AUTOMATION OF LABORATORIES MET EXPECTATIONS AND OBJECTIVES?

Petr Suchan

Beckman Coulter Česká Republika, Praha

psuchan@beckman.com

SOUHRN

Během posledních let se automatizace stala nedílnou součástí moderních provozů klinických laboratoří. Nová technologie DxA5000 představuje nástroj k automatizaci nejen velkých provozů, tak jako tomu bylo v minulosti, ale i těch středně velkých a menších. Za uplynulých pět let se rodina DxA5000 neustále rozrůstala, a tak dnes pomáhá řešit současné provozní výzvy již v celé řadě laboratoří v Česku a na Slovensku. Zde je na místě si položit hned několik otázek. Opravdu automatizace v těchto laboratořích naplnila očekávání a cíle? Jak si tyto provozы stojí z pohledu doby vydání výsledků anebo produktivity? Jsou pacientské výsledky vydávány včas, i během provozních špiček? Opravdu automatizace přináší standardizaci do laboratoře? A jaké příležitosti přinese automatizace v budoucnu? Sdělení „Naplnila laboratorní automatizace očekávání a cíle?“ má za cíl hledat odpovědi právě na tyto otázky.

Klíčové slová: Beckman Coulter; automatizácia; DxA5000; laboratorňa prevádzka

ABSTRACT

In recent years, automation has become an integral part of modern clinical laboratory operations. The new DxA5000 technology is a tool to automate not only large operations, as in the past, but also medium-sized and smaller ones. Over the past five years, the DxA5000 family has grown steadily, and today it is already helping to solve current operational challenges in a wide range of laboratories in the Czech Republic and Slovakia. Here are a few questions to ask. Has the automation in these labs really met expectations and goals? How do these operations stand in terms of time to results or productivity? Are patient results released on time, even during peak periods? Is automation really bringing standardization to the lab? And what opportunities will automation bring in the future? The presentation “Has the Automation of Laboratories Met Expectations and Objectives?” aims to seek answers to these questions.

Key words: Beckman Coulter; automation; DxA5000; laboratory operation



Laboratorňa Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 70–71

MŮŽE NÁM DIETA UBLÍŽIT? CAN DIET HARM US?

Jaroslav Racek

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

racek@fnplzen.cz

SOUHRN

Neustále slyšíme o různých dietách – zčásti ničím nepodložených, jindy podložených, ale při nevhodné aplikaci nebezpečných. Dále je k dispozici řada doplňků stravy a přípravků, jejichž neuvážené nebo někdy i náhodné podávání může rovněž organismus poškodit.

METODA

Popis případů – kazuistiky.

CÍLE

Na základě rozboru kazuistik ukázat takové případy, kdy doplňky stravy nebo nevhodná dieta vedly k závažnému poškození organismu.

VÝSLEDKY

Ve sdělení jsou uvedeny čtyři kazuistiky. Prvá ukazuje případ tříletého chlapce s těžkou sideropenickou anémií (hemoglobin $58,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, MCV $49,1 \text{ fl}$, S-Fe $< 2,0 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, saturace transferinu $< 1,9 \%$). Na základě laboratorních vyšetření, která vyloučila ztráty krve i poruchu absorpce železa v trávicím traktu, byla matka donucena přiznat striktní veganskou stravu, kterou u dítěte dlouhodobě uplatňovala. Druhý případ popisuje rozvoj závažné methemoglobinémie ($> 30 \%$) u 2,5-letého chlapce po pokrmu z dýně zakoupené na farmářských trzích; příčinou byl vysoký obsah dusičnanů,

kteří se do dýně dostaly nejspíše při hnojení. Třetí kazuistika popisuje 21-letého muže, opakovaně hospitalizovaného pro slabost, nevolnost, dyspepsii a zvracení. Nález extrémní kalcémie ($3,80 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) i koncentrace 25(OH)vitaminu D3 ($1583 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) vedly k diagnóze intoxikace vitaminem D. Pacient přiznal opakovanou i.m. aplikaci veterinárního preparátu s obsahem anabolik (nandrolon) a vitaminu D3: v rozmezí tří měsíců si aplikoval 14 miliónů IU vitaminu D3. Přes podávání kalcitoninu, bisfosfonátů a hyperhydratační léčbu s diuretiky přetrvávala zvýšená kalcémie tři týdny a hladina 25(OH)vitaminu D byla po dvou měsících ještě $680 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Poslední část sdělení popisuje dvě pacientky s nadměrným příivodem zinku; u první v doplňku stravy, u druhé se zinek uvolňoval z pasty pro přilepení zubní protézy. U obou se nadměrný příivod zinku projevil těžkou hypokupremií ($< 7,9 \text{ resp. } < 3,9 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), normocytární anémií (hemoglobin $60 \text{ resp. } 45 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), leukopenií (leukocyty $2,1\cdot 10^9\cdot\text{L}^{-1} \text{ resp. } 2,7\cdot 10^9\cdot\text{L}^{-1}$) a neurologickými příznaky. Je diskutován mechanismus vzniku těchto příznaků – kompetice vstřebávání iontů Zn^{2+} a Cu^{2+} a následný nedostatek mědi, která je potřebná pro diferenciaci hematopoetických kmenových buněk a pro syntézu a stabilizaci myelinu.

ZÁVĚR

Různé diety či doplňky stravy, i užívané v dobrém úmyslu, mohou za určitých okolností vést k přebytku něk-

terého nutrientu či naopak k nedostatku jiného. Laik, který nezná metabolické souvislosti, se tak může místo benefitu setkat s nečekanými potížemi a dokonce se závažnou poruchou zdraví. Reklamy a informace na internetu by měly být přijímány kriticky; konzultace s odborníkem nikdy nemůže uškodit.

Klíčová slova: sideropenická anémie; methemoglobinémie; vitamin D; suplementace zinkem; doplňky stravy

ABSTRACT

We constantly hear about various diets – some unsubstantiated, others substantiated, but dangerous if applied inappropriately. There are also a number of food supplements and preparations available, the careless or sometimes accidental administration of which can also damage the organism.

METHODS

Description of cases – case studies.

AIMS

Based on the analysis of case reports, to show cases where dietary supplements or an inappropriate diet led to serious damage to the organism.

RESULTS

Four case studies are presented in the communication. The first shows the case of a three-year-old boy with severe sideropenic anemia (hemoglobin $58.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, MCV 49.1 fl , S-Fe $< 2.0 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, transferrin saturation $< 1.9 \%$). On the basis of laboratory examinations, which ruled out blood losses and a disorder of iron absorption in the digestive tract, the mother was forced to admit to a strict vegan diet, which she had been feeding the child for a long time. The second case describes the development of severe methemoglobinemia ($> 30 \%$) in a 2.5-year-old boy after eating food from pumpkin purchased at farmers' markets; the cause was the high content of nitrates, which most likely got into the pumpkin during fertilization. The third case report describes a 21-year-old man, repeatedly hospitalized for weakness, nausea, dyspepsia and vomiting. The finding of extreme calcemia ($3.80 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) and the concentration of 25(OH)vitamin D3 ($1583 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) led to the diagnosis of vitamin D intoxication. The patient admitted repeated i.m. application of a veterinary prepa-

ration containing anabolic (nandrolone) and vitamin D3: within three months he applied 14 million IU of vitamin D3. Despite the administration of calcitonin, bisphosphonates and hyperhydration treatment with diuretics, elevated calcium persisted for three weeks, and the 25(OH) vitamin D level was still $680 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ after two months. The last part of the communication describes two patients with excessive intake of zinc; in the former in a dietary supplement, in the latter the zinc was released from the denture adhesive paste. In both, excessive zinc intake was manifested by severe hypocupremia (< 7.9 or $< 3.9 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), normocytic anemia (hemoglobin 60 or $45 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), leukopenia (leukocytes $2.1\cdot 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ or $2.7\cdot 10^9\cdot\text{L}^{-1}$) and neurological symptoms. The mechanism of the emergence of these symptoms is discussed – the competition of the absorption of Zn^{2+} and Cu^{2+} ions and the subsequent lack of copper, which is needed for the differentiation of hematopoietic stem cells and for the synthesis and stabilization of myelin.

CONCLUSION

Different diets or dietary supplements, even if used with good intentions, can under certain circumstances lead to an excess of one nutrient or, conversely, to a deficiency of another. A layman who does not know the metabolic connections can thus encounter unexpected difficulties and even a serious health disorder instead of a benefit. Advertisements and information on the Internet should be evaluated critically; consultation with an expert can be recommended.

Key words: sideropenic anemia; methemoglobinemia; vitamin D; zinc supplementation; dietary supplements

REFERENCES

1. Pizingerová K, Fremuth J, Šašek L, et al. Akutní methemoglobinémie – závažná alimentární intoxikace zeleninou koupenou na trhu. *Pediatr praxi* 2011;12(4):267-269.
2. Bučková D, Tůmová J, Beňovská M, Vlašínová J. Intoxikace vitaminem D – kazuistika. *Klin Biochem Metab* 2013;21(3):133-134.
3. Wahab A, Mushtaq K, Borak SG, Bellam N. Zinc-induced copper deficiency, sideroblastic anemia, and neutropenia: a perplexing facet of zinc excess. *Clin Case Rep* 2020; 8:1666-1671.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 72–72

ÚSKALIA INTERPRETÁCIE VÝSLEDKOV ZÁPALOVÝCH PARAMETROV U PACIENTA S ADENOKARCINÓMOM PĽÚC THE DIFFICULTIES OF INTERPRETING THE RESULTS OF INFLAMMATORY PARAMETERS IN A PATIENT WITH LUNG ADENOCARCINOMA

Katarína Laurenčíková, Ľubica Krajnáková

Centrálny laboratórny komplex, Pracovisko klinickej biochémie, FNŠP FDR, Banská Bystrica

klaurencikova@nspbb.sk

SÚHRN

Predmetom prednášky autoriek je kazuistika 74 ročného pacienta s diagnózou adenokarcinómu pľúc vľavo, bez prítomnosti lymfadenopatie a vzdialených metastáz. Laboratórny nález vykazoval zvýšené zápalové parametre C-reaktívny proteín (CRP) a prokalcitonín (PCT), pacient bol bez klinických príznakov zápalového ochorenia. Mikrobiologický nález odhalil prítomnosť kmeňa *Staphylococcus aureus* – MRSA, následne bolo cielene nasadené antibiotikum ciprofloxacín. Po preliečení pokleslo CRP, zvýšené hladiny PCT pretrvávali s miernou eleváciou. Vzhľadom na plánovanú chemoterapiu ošetrojúci onkológ konzultoval príčinu zvýšenej hladiny PCT a možnosť podania onkologickej liečby. Autorky v práci rozoberajú možné príčiny elevácie stanovovaných zápalových parametrov, ktoré boli konzultované s onkológom.

Kľúčové slová: karcinóm pľúc; C-reaktívny proteín; prokalcitonín

ABSTRACT

The subject of the lecture is a case report of a 74-year-old patient diagnosed with lung adenocarcinoma located on the left side, with the absence of lymphadenopathy or distant metastases. The laboratory findings showed elevated inflammatory parameters of C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT), the patient was without clinical signs of inflammatory disease. The microbiological findings revealed the presence of *Staphylococcus aureus* – MRSA infection, therefore targeted antibiotic treatment was administered. After treatment, CRP decreased, however PCT levels showed persistent mild elevation. The attending oncologist consulted the significance of the elevated PCT levels in relation to planned oncological treatment. In the lecture, the authors discuss the possible causes of elevation of the established inflammatory parameters.

Key words: lung carcinoma; C-reactive protein; procalcitonin



SÚ DEDIČNÉ METABOLICKÉ PORUCHY LEN PROBLÉM PEDIATROV? ARE INHERITED METABOLIC DISORDERS JUST A PROBLEM FOR PEDIATRICIANS?

Katarína Schenková¹, Simona Tárnoková¹, Katarína Brennerová², Vladimír Bzdúch², Jana Šaligová³,
Anna Šaligová¹, Matúš Prídavok¹, Katarína Lászlová¹, Renáta Górová⁴, Jana Lisyová⁵, Róbert
Petrovič⁵, Claudia Šebová¹

¹Centrum dedičných metabolických porúch, Oddelenie laboratórnej medicíny NÚDCH, Bratislava

²Centrum dedičných metabolických porúch, Detská klinika LF UK a NÚDCH, Bratislava

³Metabolická ambulancia, Detská fakultná nemocnica, Košice

⁴Experimentálne laboratórium metabolomických analýz (ELMA), Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava

⁵Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

katarina.schenkova@nudch.eu

SÚHRN

Úvod: Dedičné metabolické poruchy (DMP) tvoria heterogénnu skupinu viac ako 1000 ochorení, ktorých podkladom je vo väčšine prípadov geneticky podmienená porucha syntézy určitej bielkoviny, najčastejšie enzýmu. Tieto ochorenia sú síce raritné, ale ich súhrnný výskyt je relatívne častý, odhaduje sa minimálne na 1:500. Veľmi široká je aj klinická variabilita ochorení od manifestácie už vo včasnom veku s veľmi závažnou symptomatológiou a prognózou až po oligosymptomatické formy s manifestáciou v neskoršom veku, prípadne až v dospelosti (late-onset formy). Viaceré dedičné metabolické poruchy sú v súčasnosti pomerne úspešne liečiteľné, preto stanovenie diagnózy môže byť zásadné z hľadiska prognózy pacienta. V kazuistikách prezentujeme, aké dôležité je v diferenciálno-diagnostickom postupe u pacienta zvažovať aj prípadnú DMP.

Kazuistika 1: V čase stanovenia diagnózy 37-ročná pacientka, od 14. roku života sledovaná neurológom pre pretrvávajúcu únavu, svalovú slabosť a zvýšenú aktivitu kreatínkinázy, liečená Prednisonom. Pre pretrvávajúce myalgie a svalovú slabosť bol vo veku 28 rokov do liečby pridaný Imuran s prechodným zlepšením klinického stavu, nasledovalo zvýraznenie svalových ťažkostí spolu s eleváciou kreatínkinázy a myoglobínu, do liečby boli pridané imunoglobulíny, avšak bez očakávaného efektu. Až

s odstupom niekoľkých rokov bol indikovaný selektívny skríning DMP, kde na základe vyšetrenia profilu acylkarnitínov v suchej kvapke krvi a profilu organických kyselín v moči bolo supponované ochorenie Mnohopočetný deficit acyl-CoA dehydrogenáz, následné molekulovo-genetické vyšetrenie potvrdilo mutáciu v géne *ETFDH*. Po nasadení špecifickej liečby (riboflavín, L-karnitín a nízkotuková diéta) sa klinický stav pacientky výrazne zlepšil.

Mnohopočetný deficit acyl-CoA dehydrogenáz (MADD, glutárová acidúria typ 2, OMIM# 231680) je klinicky a geneticky heterogénna autozómovo recesívne dedičná metabolická porucha s mutáciou v géne *ETFA*, *ETFB* alebo *ETFDH*, ktorá spôsobuje defekt prenosu elektrónov z flavoproteínových dehydrogenáz do respiračného reťazca mitochondrie. Ochorenie je klinicky variabilné, môže sa manifestovať ako ťažká neonatálna forma s/bez kongenitálnych anomálií a so závažnou prognózou alebo ako late-onset forma s miernejším priebehom, v ktorom dominuje svalová slabosť, myalgia a horšia tolerancia fyzickej námahy.

Kazuistika 2: 43-ročný pacient s anamnézou opakovaných atakov amnézie a dezorientácie bol hospitalizovaný na neurologickom oddelení pre dezorientáciu, bradypsichizmus, slabosť a nauzeu po zvýšenej fyzickej námahe, s postupnou progresiou poruchy vedomia, kľúčovou aktivitou a rozvojom edému mozgu s fatálnym priebehom.

V laboratórnem obraze dominovala extrémna hyperamoniemia. Dodatočne sme realizovali selektívny metabolický skrining s nálezom masívnej exkrécie kyseliny orotovej v moči a s výrazne zvýšenou koncentráciou alanínu a glutamínu v spektre AMK plazmy. Na základe tohto nálezu sa suponovala porucha v cykle močoviny s podozrením na deficit ornitíntranskarbamoylázy (deficit OTC), ktorá bola následne potvrdená molekulovo – genetickým vyšetrením s detekciou patogénneho variantu v géne OTC, ktorý je spájaný s late-onset formou ochorenia.

Deficit ornitíntranskarbamoylázy (OTCD) (OMIM# 311250) je najčastejšie sa vyskytujúca dedičná metabolická porucha cyklu močoviny s dedičnosťou viazanou na X chromozóm. U pacientov mužského pohlavia sa ochorenie typicky manifestuje už v novorodeneckom veku závažnou neurologickou symptomatológiou, ktorá bez adekvátneho terapeutického ovplyvnenia končí fatálne. Klinická manifestácia late-onset formy u mužov závisí od reziduálnej aktivity enzýmu. Ochorenie môže mať dlho asymptomatický priebeh s občasnými nešpecifickými gastrointestinálnymi, neurologickými a psychiatrickými príznakmi vyvolanými infekciou alebo záťažou spojenou s katabolizmom bielkovín, atak ale môže progredovať do hyperamonemickej krízy, ktorá bez adekvátnej terapie môže končiť fatálne.

Záver: DMP sa môžu manifestovať aj v dospelom veku a často sa na ne v diferenciálno – diagnostickom postupe nemyslí. Je potrebné ich zvažovať hlavne pri nešpecifických klinických príznakoch, ktoré často postihujú viaceré orgány a systémy, pri ochoreniach, ktoré neodpovedajú na štandardnú liečbu, prípadne ak je „bežné“ ochorenie niečím netypické. Správne stanovenie diagnózy a adekvátnej liečba v takýchto prípadoch výrazne zlepšuje pacientovu prognózu.

Kľúčové slová: late-onset forma DMP; mnohopočetný deficit acyl-CoA dehydrogenáz; deficit ornitíntranskarbamoylázy

Viacerí autori tejto publikácie sú členmi Európskej referenčnej siete pre zriedkavé dedičné metabolické poruchy (MetabERN).

ABSTRACT

Introduction: Inborn errors of metabolism (IEMs) is a heterogeneous group of more than 1000 diseases mostly caused by a genetically determined deficiency in the

synthesis of a specific protein, usually an enzyme. Although being quite rare, their combined incidence is relatively frequent, estimated at least at 1:500. Their clinical variability is very wide, ranging from manifestation at an early age with very serious symptomatology and prognosis to oligosymptomatic forms manifesting at a later age, possibly even in adulthood (late-onset forms). Several IEMs are currently quite successfully treatable, therefore establishing a diagnosis can be essential for the patient's prognosis. Using case studies, we aim to highlight the importance of considering possible IEM in the differential diagnosis of patients.

Case report 1: At the time of diagnosis, a 37-year-old female patient had been followed-up by a neurologist since the age of 14 for persistent fatigue, muscle weakness and increased creatine kinase activity, treated with Prednison. Due to ongoing myalgia and muscle weakness, Imuran was added to the treatment at the age of 28, leading to temporary improvement, after which exacerbation of muscle problems, along with elevated creatine kinase and myoglobin levels, led to the addition of immunoglobulins to the therapy, but without the expected effect. A selective IEMs screening was indicated a few years later, where the acylcarnitine profile in dried blood spot and the profile of organic acids in urine suggested the disease Multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency. Subsequent molecular genetic examination confirmed a mutation in the ETFDH gene. After starting specific treatment (riboflavin, L-carnitine and a low-fat diet), the patient's clinical condition significantly improved.

Multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD, glutaric aciduria type 2, OMIM# 231680) is a clinically and genetically heterogeneous autosomal recessive inherited metabolic disorder caused by a mutation in the ETFA, ETFB or ETFDH gene, which causes a defect in the electron transfer from flavoprotein dehydrogenases to the mitochondrial respiratory chain. The disease is clinically variable with manifestation ranging from severe neonatal form with/without congenital anomalies and poor prognosis to a late-onset form with a milder symptoms, predominantly muscle weakness, myalgia and poor physical exercise tolerance.

Case report 2: A 43-year-old patient with a history of repeated attacks of amnesia and disorientation was admitted to the neurological department for disorientation, bradypsychia, weakness and nausea after increased

physical activity, with gradual progression of impaired consciousness, convulsive activity and the development of brain edema with a fatal course. In the laboratory findings, extreme hyperammonemia dominated. Additionally, we carried out a selective metabolic screening with the finding of massive excretion of orotic acid in urine and with a significantly increased concentration of alanine and glutamine in the plasma amino acids. Based on this finding, a urea cycle disorder was suggested, most probably ornithine transcarbamoylase deficiency (OTC deficiency). It was subsequently confirmed by a molecular - genetic testing with the detection of a pathogenic variant in the OTC gene, which is associated with the late-onset form of the disease.

Ornithine transcarbamoylase (OTC) deficiency (OMIM# 311250) is the most common IMD of the urea cycle with X-linked inheritance. In male patients, the disease typically manifests in the newborn period with severe neurological symptoms, often fatal without adequate therapeutic intervention. The clinical manifestation of the late-onset form in men depends on the residual enzyme activity. The disease can have a long asymptomatic course with occasional non-specific gastrointestinal, neurological and psychiatric symptoms triggered by infection or condition associated with protein catabolism, but it can also

progress to a hyperammonemic crisis, potentially fatal without adequate therapy.

Conclusion: IEMs can manifest even in adulthood and are often not considered in the differential diagnosis. They should be considered especially in the case of non-specific clinical symptoms, which often affect multiple organs and systems, diseases that do not respond to standard treatment, or if a “common” disease has atypical progress. Correct diagnosis and adequate treatment significantly improve patient’s prognosis.

Key words: late-onset form of IEM; multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency; ornithine transcarbamoylase deficiency

REFERENCES

1. **Fernandes, J., Saudubray, J.-M., Van den Berghe, G., Walter, J.H. (2008)** Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch. 4. vydání. Praha: Nakladatelství TRITON, 607 s. ISBN 978-80-7387-096-6.

Several authors of this publication are members of the European Reference Network for Rare Hereditary Metabolic Disorders (MetabERN).



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 76–77

METFORMÍN: KEDY BY SME SA MALI OBÁVAŤ LAKTÁTOVEJ ACIDÓZY? METFORMIN: WHEN SHOULD WE FEAR LACTIC ACIDOSIS?

Anna Dobišová¹, Ivan Pecháň[†]

¹1. Klinika anestéziológie a intenzívnej medicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského a Univerzitná nemocnica Bratislava

[†]Oddelenie klinickej biochémie, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb a.s., Bratislava

anka.zabka@gmail.com

SÚHRN

Metabolická acidóza môže vyvstávať z množstva substancií prostredníctvom rôznych mechanizmov. Určenie, ktoré lieky alebo toxíny môžu byť zodpovedné za metabolickú acidózu u pacienta s náhodnou expozíciou, neznámym požitím alebo terapeutickým užívaním liekov, môže predstavovať skľučujúce diagnostické a terapeutické problémy. Ešte dôležitejšie je, že vitálne bunkové funkcie a metabolické procesy sa zhoršujú s prehĺbujúcou sa acidózou. Preto je prvoradé, aby lekár rozpoznal látky, ktoré môžu viesť k metabolickej acidóze a mohla byť nasadená včasná a vhodná liečba.

Metformín je biquanid, ktorý je bežne používaný ako liek 1.volby už 60 rokov pri diabetes mellitus 2. typu najmä u pacientov s nadváhou a tiež ako liečba polycystických ovárií.

U pacientov s diabetom 2.typu zabezpečuje pokles hladiny glykovaného hemoglobínu (HbA1c), znižuje riziko cievnej mozgovej príhody ako i smrti súvisiacej s diabetom a celkovú úmrtnosť. Navyše je cenovo dostupný, vo všeobecnosti nespôsobuje hypoglykémiu a vykazuje dobrú toleranciu u väčšiny pacientov. Hlavnou cestou eliminácie je renálna tubulárna sekrécia, odhadovaný priemerný renálny klírens je $507 \pm 129 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ u jedincov so zachovanou funkciou obličiek. Ako väčšina liekov, aj metformín má svoju temnú stránku: Potenciálne fatálna metabolická

acidóza so zvýšenou koncentráciou laktátu sa môže vyvinúť po akútnom predávkovaní (MILA – metformínom indukovaná laktátová acidóza) alebo pri terapeutickom použití (MALA – metformínom asociovaná laktátová acidóza). Väčšina prípadov laktátovej acidózy v súvislosti s terapeutickým použitím metformínu sa vyskytuje v prítomnosti závažného základného ochorenia, ako je zlyhanie obličiek, alebo iné závažné chronické ochorenie predisponujúce k hypoxemickému stavu. Odhadovaná incidencia MALA predstavuje cca 0,05 % pacientov za rok (1 – 15/100 000 pacientov za rok), avšak mortalita dosahuje až 50%.

Predpokladá sa, že metformín vyvoláva metabolickú acidózu so zvýšenou koncentráciou laktátu inhibíciou glukoneogenézy v pečeni a komplexu I elektrónového transportného reťazca. Súvislosť medzi ním a laktátovou acidózou je často nepoznaná. Väčšina správ o laktátovej acidóze u jedincov užívajúcich metformín naznačuje, že metformín nebol prvotnou príčinou laktátovej acidózy, ale skôr exacerbačným faktorom.

Metformínom-asociovanú laktátovú acidózu treba predvídať okamžite, akonáhle sa objaví triáda chronickej liečby metformínom, závažnej laktátovej acidózy a zhoršenie renálnych funkcií.

Pri podozrení na diagnózu je základným kameňom liečby dobrá podporná starostlivosť. Vyžaduje si promptnú podporu viacerých orgánových systémov – ventilácie,

adekvátnej tekutinovej resuscitácie a vazopresorickej terapie na obnovenie hemodynamickej stability, vrátane vysadenia metformínu, zväženia hydrogénuhličitanu sodného a včasného nasadenia predĺženej renálnej substitučnej terapie pri výraznej acidémii.

V našej prednáške odprezentujeme súbor pacientov prijatých a liečených na jednotke intenzívnej starostlivosti s diagnózou intoxikácie metformínom. Prediskutujeme úskalia klinickej i laboratórnej diagnostiky danej problematiky a spoločne sa pozrieme na jednotlivé terapeutické prístupy.

Kľúčové slová: metformín; MALA – metformínom asociovaná laktátová acidóza; diabetes mellitus; renálna substitučná terapia

ABSTRACT

Metabolic acidosis can be an important consequence of several toxins. Determining which drugs or toxins might be responsible for metabolic acidosis in a patient with an accidental exposure, unknown ingestion, or from therapeutic drug use can present daunting diagnostic and therapeutic challenges. More importantly, vital cellular functions and metabolic processes become impaired with increasing acidosis. Therefore, it is paramount that a clinicians recognize those substances potentially resulting in metabolic acidosis so that timely and appropriate therapy can be instituted.

Metformin is a biguanide that is commonly used as the first-line oral drug for 60 years to treat diabetes mellitus type 2, especially in overweight patients, and polycystic ovarian disease. In patients with type 2 diabetes, metformin therapy is associated with not only reduced glycated hemoglobin (HbA1c) values, but also with a reduced risk of stroke, diabetes-related death, and all-cause mortality. Moreover, the drug is inexpensive, generally does not cause hypoglycemia, and is well tolerated by most patients. Renal tubular secretion is the major mechanism responsible for removing metformin, the estimated mean renal clearance is $507 \pm 129 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ in subjects with preserved renal function. Like most drugs, however,

metformin has a dark side: A potentially fatal metabolic acidosis with an increased lactate concentration can develop after an acute overdose (MILA – metformin-induced lactic acidosis) or with therapeutic use (MALA – metformin associated lactic acidosis). Most cases of lactic acidosis related to therapeutic metformin use have occurred in the presence of a severe underlying disease state, such as renal failure, or other serious chronic disease predisposing to a hypoxemic condition. Although an estimated incidence of MALA is 0.05% (of 1-15 cases per 100 000 patient per years), mortality of cases is high, up to 50%.

Metformin is thought to induce metabolic acidosis with an increased lactate concentration by inhibiting gluconeogenesis in the liver and complex I of the electron transport chain. A link between metformin and lactic acidosis is often not recognized. Most reports of lactic acidosis in individuals taking metformin propose that metformin was not the initial cause of lactic acidosis, but rather an exacerbating factor.

Metformin-associated lactic acidosis should be anticipated immediately as soon as the triad of chronic metformin treatment, severe lactic acidosis, and deterioration of renal function occurs.

Once the diagnosis is suspected, good supportive care is the cornerstone of treatment. It requires prompt multiple organ systems support - ventilation, adequate fluid resuscitation and vasopressor therapy to restore hemodynamic stability, including cessation of metformin, consideration of sodium bicarbonate, and the early institution of prolonged renal replacement therapy in the setting of significant acidemia.

In our lecture, we will present a set of patients admitted and treated in the intensive care unit with a diagnosis of metformin intoxication. We will discuss the pitfalls of clinical and laboratory diagnostics of the issue and look together at individual therapeutic approaches.

Key words: metformin; MALA – metformin-associated lactic acidosis; diabetes mellitus; renal replacement therapy



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 78–79

NIE JE KORTIZOL AKO KORTIZOL THERE IS NO CORTISOL LIKE CORTISOL

Peter Sečník

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

peter.secnikjr@sklab.sk

SÚHRN

Stanovenie kortizolu v slinách je vyšetrením prvej línie pre diagnostiku Cushingovho syndrómu a v tejto indikácii sa vyznačuje najvyššou diagnostickou senzitivitou a špecifitou spomedzi všetkých dostupných laboratórnych vyšetrení (senzitivita 95%, špecifita 91%).

Z hľadiska praktickej realizácie sa jedná o jednoduchšiu alternatívu stanovenia kortizolu v zbieranom moči a dexametazónového supresného testu. Pre potvrdenie diagnózy je vzhľadom k biologickej variabilite kortizolu potrebné vyšetrenie opakovať minimálne 2-3x.

Vysoká výpovedná hodnota stanovenia kortizolu v slinách je zohľadnená v aktuálnych medzinárodných odporúčaníach ako aj v štandardných diagnostických postupoch Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky (Fleseriu a kol., 2021, Payer a kol., 2022). Odporúča sa stanovovať tzv. late-night salivary cortisol, ktorý je najcitlivejším markerom porušenia fyziologického cirkadiálneho rytmu kortizolu.

Vyšetrenie nie je vhodné u osôb s nepravidelným denným režimom (napr. nočné smeny – odporúča sa DEX test) a pre diagnostiku hypokortizolizmu a Addisonovej choroby (odporúča sa kombinácia kortizolu v sére/plazme a ACTH).

Súčasťou vyšetrenia je podľa aktuálnych odporúčaní aj stanovenie koncentrácie kortizónu a pomeru kortizol/kor-

tizón (Payer a kol., 2022). Dôvodom je riziko kontaminácie vzorky slín pri odbere, ktorá môže spôsobiť falošnú pozitívitu vyšetrenia. Na základe zvýšeného pomeru kortizol/kortizón je možné odlíšiť predanalytické vplyvy od endogénneho zvýšenia kortizolu pri Cushingovom syndróme.

Prezentovaná kazuistika poukazuje na dôležitosť kontroly kvality procesov predanalytickej fázy v dobe zvyšujúcej sa citlivosti analytických metodík.

Kľúčové slová: Cushingov syndróm; kortizol v slinách; kortizón v slinách

ABSTRACT

Salivary cortisol is the first-line test for the diagnosis of Cushing's syndrome, and in this clinical setting it has the highest diagnostic sensitivity and specificity among all available laboratory tests (SE 95%, SPE 91%).

For practical implementation, it is a simpler alternative to the cortisol measurement in 24h urine collection and the dexamethasone suppression test. In order to confirm the diagnosis, due to the biological variability of cortisol, it is necessary to repeat the examination at least 2-3 times.

The high informative value of cortisol measurement in saliva is taken into account in the current international recommendations as well as in the standard diagnostic procedures of the Ministry of Health of the Slovak re-

public (Fleseriu et al., 2021; Payer et al., 2022). So-called late-night salivary cortisol is the most sensitive marker of violation of the physiological circadian rhythm of cortisol.

The examination is not suitable for people with an irregular daily routine (e.g. night shifts - DEX test is recommended) and for the diagnosis of hypocortisolism and Addison's disease (a combination of serum/plasma cortisol and ACTH is recommended).

According to the current recommendations, part of the examination is also the measurement of the cortisone concentration and calculation of the cortisol/cortisone ratio (Payer et al., 2022). This is due to the risk of contamination of the saliva sample during collection, which can cause a false positive test. Based on an elevated cortisol/cortisone ratio, preanalytical errors can be distinguished from endogenous cortisol elevation in Cushing's syndrome.

The presented case study emphasizes the importance of monitoring the quality of pre-analytical phase in the era of increasing sensitivity of analytical methodologies.

Key words: Cushing's syndrome, salivary cortisol, salivary cortisone

REFERENCES

1. **Fleseriu, M. et al. (2021)** "Consensus on diagnosis and management of Cushing's disease: a guideline update", *Lancet Diabetes Endocrinol*, 9(12), pp. 847-875. doi: 10.1016/S2213-8587(21)00235-7.
2. **Payer, J. et al. (2022)** "Cushingova choroba a Cushingov syndróm. Štandardný diagnostický a terapeutický postup", *Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky*.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 80–81

ATYPICKÝ LIKVOROLOGICKÝ NÁLEZ U PACIENTKY S ASEPTICKOU MENINGITÍDOU PO LIEČBE NMDAR ENCEFALITÍDY ATYPICAL CSF FINDINGS IN A PATIENT WITH ASEPTIC MENINGITIS AFTER TREATMENT OF NMDAR ENCEPHALITIS

Daniel Čierny¹, Lenka Plicová¹, Stanislava Suroviaková², Peter Bánovčin², Dušan Dobrota¹

¹ Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

² Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

dusan.dobrota@uniba.sk

SÚHRN

Encefalitídy tvoria heterogénnu skupinu zápalových ochorení mozgu infekčnej alebo autoimunitnej etiológie. Encefalitída s protilátkami proti glutamátovému N-methyl-D-aspartátovému receptorom (NMDAR encefalitída) je ochorenie, ktoré postihuje prevažne mladé ženy a deti. Klinicky dochádza k rozvoju neurologickej symptomatiky s dominantne psychiatrickou manifestáciou prejavujúcou sa zmenami správania, anxiózne-depresívnou poruchou, psychózami a dyskinézami. U časti pacientov je opísaná asociácia s ovariálnym teratómom alebo preknanou herpetickou encefalitídou. Pri laboratórnom vyšetrení býva vo včasnej fáze ochorenia v likvore prítomná mierna mononukleárna pleocytóza, neskôr je detekovateľná intratekálna syntéza IgG. K potvrdeniu diagnózy sa okrem klinických kritérií uplatňuje dôkaz anti-NMDAR protilátok. Nález magnetickej rezonancie mozgu je vo väčšine prípadov v norme alebo vykazuje diskrétné zmeny. Pri včasnej intenzívnej imunoterapii je prognóza priaznivá, avšak pacienti sú zaťažení rizikom relapsu.

Vyšetrovali sme 14-ročnú pacientku hospitalizovanú v Univerzitnej nemocnici Martin pre rozvoj depresívnej epizódy, obsedantne-kompulzívnej poruchy a motoricko-vokálnych tikov. Na odporúčanie neurológa boli v rámci diferenciálnej diagnostiky doplnené laboratórne vyšetrenia

s nálezom pozitivity oligoklonálnych pásov v likvore (typ 2), pozitivity anti-NMDAR protilátok a magnetickej rezonancia mozgu s prítomnosťou signálnych zmien v oblasti hipokampu. Pacientke bola nasadená intravenózna kortikoterapia, ktorá musela byť pre závažné nežiadúce účinky prerušená. Na tretí deň po podaní druhej línie liečby intravenóznymi imunoglobulínmi (IVIg) došlo k rozvoju meningeálneho syndrómu s likvorovým nálezom zmiešanej pleocytózy s prevahou neutrofilných granulocytov, hyperproteinurachie, zvýšenej koncentrácie albumínu, imunoglobulínov a laktátu. Negatívne výsledky PCR a sérologických vyšetrení vylúčili infekčnú etiológiu. Po podaní ďalšej symptomatickej terapie a úpravy psychiatrickej medikácie došlo k postupnému zlepšeniu stavu pacientky, so záverečnou diagnózou IVIg indukovaná aseptická meningitída.

Kľúčové slová: NMDAR encefalitída; meningitída; IVIg; cerebrospinálny mok; oligoklonálne pásy

ABSTRACT

The encephalitides comprise a heterogeneous group of inflammatory brain diseases of infectious or autoimmune etiology. Encephalitis with anti-glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antibodies (NMDAR encephalitis) is a disease that predominantly affects young

women and children. Clinical presentation includes mainly neurological and psychiatric symptoms, as behavioural changes, anxious-depressive disorder, psychoses and dyskinesias. An association with ovarian teratoma or herpetic encephalitis has been described in some patients. Laboratory findings comprise mild mononuclear pleocytosis in the early phase of the disease, with later detectable intrathecal IgG synthesis. In addition to clinical criteria, detection of anti-NMDAR antibodies is used to confirm the diagnosis. Brain MRI findings are in most cases normal or show discrete changes. When intensive immunotherapy is given early, the prognosis is favourable, however, patients are burdened with the risk of relapse.

We examined a 14-year-old girl hospitalized at the University Hospital Martin for the development of a depressive episode, obsessive-compulsive disorder and motor-vocal tics. On the neurologist's recommendation, the differential diagnosis was complemented by laboratory testing with findings of oligoclonal band positivity in the

cerebrospinal fluid (type 2), anti-NMDAR antibodies, and brain MRI with the presence of signal changes in the hippocampal region. The patient was given intravenous corticotherapy, which had to be withdrawn due to severe side effects. On the third day after the administration of second-line intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy, meningeal syndrome developed. Cerebrospinal fluid examination showed mixed pleocytosis with a predominance of neutrophilic granulocytes, hyperproteinorhachia, and elevated albumin, immunoglobulins, and lactate concentrations. Negative results of PCR and serological examinations excluded an infectious etiology. After administration of further symptomatic therapy and adjustment of psychiatric medication, the patient's clinical status gradually improved, and final diagnosis was established as IVIg-induced aseptic meningitis.

Keywords: NMDAR encephalitis; meningitis; IVIg; cerebrospinal fluid; oligoclonal bands



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 82–84

ÚLOHA MOLEKULOVEJ PATOLÓGIE V PERSONALIZOVANEJ DIAGNOSTIKE ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV - JEJ MOŽNOSTI A LIMITY THE ROLE OF MOLECULAR PATHOLOGY IN THE PERSONALIZED DIAGNOSTICS OF ONCOLOGICAL PATIENTS - ITS AVAILABILITY AND LIMITS

Lukáš Plank^{1,2}

¹ Ústav patologickej anatómie JLF UK a UN v Martine

² Martinské bioptické centrum, s.r.o., Laboratórium Martin

lukas.plank@uniba.sk

SÚHRN

Patológia ako dôležitý diagnostický medicínsky odbor prešla v poslednom období zásadnou inováciou možností analýz vyšetovaných bioptických vzoriek v procese bioptickej diagnostiky. Cieľom prezentácie je sumarizovať pokroky modernej klinickej a molekulovej patológie v precíznej a personalizovanej diagnostike onkologických pacientov a v procese sledovania priebehu ich ochorenia, a to na príklade najčastejších malígnych nádorových ochorení.

Po implementácii makro- a mikroskopických metód histologického a histochemického vyšetrenia koncom minulého a začiatkom súčasného storočia sa metodológia modernej klinickej patológie rozšírila o implementáciu:

a) imunohistochemických metód s explozívnym nárastom identifikácie fenotypicky relevantných antigénov buniek nádoru, neskôr aj o

b) implementáciu cytogenetických a molekulovo-genetických a genotypických analýz najprv b.1. buniek a mikroprostredia nádoru, a to metódami in-situ hybridizácie, alebo izoláciami DNA aj RNA z tkaniva nádoru a ich následnými analýzami (PCR, RT-PCR, sekvenačné analýzy až po komplexné genomické profilovanie) a neskôr už aj b.2. z krvi pacienta (tzv. tekuté biopsie a analýzy voľnej cirkulujúcej DNA resp. RNA, nádorových buniek a pod.). V súčasnosti do patológie vstúpila digitalizácia s možnos-

ťou implementácie AI do rôznych analytických postupov s cieľom spresnenia, štandardizácie a urýchlenia diagnostických procesov.

Cieľom uvedeného bolo využiť celé metodologické inštrumentárium a sformulovať algoritmické procesy spresnenia diagnostiky a klasifikácie nádorov (ich typizácie, stupňa malignity a štádiovania), ako aj identifikácie klinicky a pre pacienta relevantných prognostických a najmä prediktívnych faktorov (biomarkerov) cielenej (biologickej) liečby a protinádorovej imunoterapie pre voľbu najvhodnejšej personalizovanej liečby na základe predikcie terapeutickej odpovede. Postupne sa ďalším cieľom stalo aj hodnotenie liečebnej odpovede a identifikácia potenciálneho zlyhania liečby, prípadne vzniku rezistencie na liečbu, či rekurencie alebo progresie ochorenia, a to aj s využitím analýz tekutej biopsie. Dosiachnutie uvedených cieľov si vyžaduje racionalizáciu manažmentu a procesov „work-flow“ a ich otvorenie procesom internej a externej kontroly kvality, rovnako ako dostatočné prístrojové, personálne a intelektuálne vybavenie.

Napriek všetkým zložitostiam vývoja nášho zdravotníctva sa aj v SR do značnej miery podarilo dosiahnuť mnohé z uvedených cieľov v prospech onkologických pacientov. Limitujúcimi faktormi ostávajú najmä biológii a klinike ochorenia neraz odporujúce administratívne byrokratické prekážky (limity počtu analýzy jednotlivých on-

kogénov jedného pacienta), ako aj obmedzené možnosti úhrady opísaných procesov z prostriedkov verejného zdravotného poistenia nielen na tzv. inovatívnu liečbu, ale aj na „inovatívnu diagnostiku“.

Diagnostika onkologických ochorení a sledovanie ich priebehu je multidisciplinárny proces vyžadujúci spoluprácu a on-line výmenu informácií medzi zainteresovanými pracovníkmi, dnes už aj na báze tzv. MTD (multidisciplinárnych onkologických panelov – z angl. multidisciplinary tumor board). V ňom patológia zohráva stále dôležitejšiu úlohu. Našou spoločnou snahou by vždy malo byť zlepšenie diagnostiky a liečiteľnosti nádorových ochorení, a tým aj kvality života a osudu onkologických pacientov.

Kľúčové slová: molekulová patológia; digitalizácia; prediktívne biomarkery; tekutá biopsia

Podakovanie: Ďakujem všetkým spolupracovníčkam a spolupracovníkom z oboch pracovísk za dlhoročnú perfektnú prácu a spoluprácu v uvedenej oblasti, rovnako aj z Biomedicínskeho centra JLF UK.

ABSTRACT

Pathology representing an important diagnostic medical discipline in health care system has witnessed a basic innovation of the analytical modalities of the examined biopsy specimens in the last decades . Based on selected examples of the most common malignant disorders in our population, this presentation has an ambition to summarize briefly the advances of the modern clinical and molecular pathology in the precise and personalized diagnostics of oncological patients as well as during the follow-up of the disease.

After implementation of more sophisticated macro-microscopical methods of histological and histochemical examinations in the end of the 20th and beginning 21st century the methodology of modern clinical pathology has been enriched by the implementation of a/ immunohistochemical methods associated with a dramatic increase of the identification of phenotypically relevant antigens of the tumor, later on also by/ implementation of cytogenetical and molecular-genetical analyses of b.1./ tumor and microenvironmental cells (genotype) using either the methods of in-situ hybridization or the DNA and RNA extraction from the tumor tissue followed by their genetical analyses (PCR, RT-PCR, sequential analyses

up to the comprehensive genomic profiling), later on also of b.2./ the patient's blood (so-called liquid biopsies, e.g. analyses of the cell-free circulating tumor DNA, RNA, circulating tumor cells, etc.). Recently the pathology has been influenced by digitalization bringing the advantages of the AI implementation into the various analytical processes allowing more precise, faster and standardized algorithmical approaches.

The aim of our work was and is to use the whole methodological instrumentarium to develop algorithms of all the diagnostic processes, to make the diagnostics and classification of tumors more precise (for their typing, grading and staging), as well as for to identify clinically and for the patient relevant predictive biomarkers of the targeted (biological) therapy and immunotherapy allowing the choice of the best-fit personalized therapy on the basis of the tumor response prediction. Recently we are witnessing increased importance of the therapy response evaluation and of potential therapeutical failure identification and/or resistance or disease recurrence and/or progression recognition by applying also the liquid biopsy specimen analyses. To reach all the goals requires an optimal management and rationalization of the work-flow processes being controlled by regular internal and external quality assurance mechanisms and supported by the sufficient personal, instrumental and intellectual background.

In spite of all the complications of the national health care system development appearing in the course of the last decades it seems to be possible to follow many but not all requirements of the modern oncological personalized therapy for the benefit of Slovak oncological patients. Some of important limiting factors are represented by administrative and beaurocratic obstacles (e.g. limits of the number of reimbursed driver gene molecular analyses during patient's life period, being in disagreement with the known disease's biology), as well as general limits of the reimbursement from the resources of the public health insurance system, that means limits for both - the innovative therapy and innovative diagnostics as well.

The diagnostics of oncological diseases and their follow up represents a multidisciplinary process based on a closed cooperation and on-line information exchange between the involved medical disciplines and subjects, recently run by so-called MTDs (multidisciplinary tumor boards). The modern pathology plays an essential role in

this system. We all strive for better and precise diagnostic and better curability of the oncological diseases to improve the quality of life of the patients..

Key words: molecular pathology; digitalization; predictive biomarkers; liquid biopsy

Acknowledgment: My thanks go to all my co-workers from both institutes for the long-year mutual and friendly cooperation and work on the field of oncological diagnostics, the same is true for my colleagues and co-workers from the Biomedical center of our faculty.



Laboratorňa Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 85–87

ZAPOJENÍ POCT SYSTÉMŮ DO DIAGNOSTICKÉHO PROCESU V NEMOCNICI INTEGRATION OF POCT SYSTEMS INTO THE HOSPITAL DIAGNOSTIC PROCESS

Drahomíra Springer¹, Veronika Kučerová²

¹Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. Lékařské fakulty
Univerzity Karlovy, Praha

²Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc

Drahomira.springer@vfn.cz

SOUHRN

Termín POCT definuje norma ISO 15189:2023 jako „laboratorní vyšetření provedené u pacienta nebo v jeho blízkosti“.

Výsledky POCT vyšetření slouží zejména pro monitoring aktuálního stavu pacienta a zisku rychlého výsledku v linii prvního kontaktu s pacientem. Nedoporučuje se výsledky používat pro stanovení diagnózy či jako důkaz pro náhlou změnu léčby s možností ohrožení života ve smyslu ohrožení vitálních funkcí.

Odborná společnost ČSKB schválila doporučení, které se zabývá nastavením systému ve zdravotnickém zařízení, správnou preanalytickou, analytickou, ale i postanalytickou fází při využití POCT technologií a metod, včetně požadavků pravidelné kontroly kvality, vedení příslušné dokumentace a také školením uživatelů.

Doporučení schválené ČSKB zohledňuje pouze profesionální POCT technologie a metodologie ve zdravotnických zařízeních, nezabývá se definováním podmínek pro využívání techniky užívané pacienty pro tzv. *self-monitoring*.

Řídící orgán zdravotnického zařízení je zodpovědný za zajištění zavedení vhodných procesů pro sledování přesnosti a kvality POCT prováděných v rámci organizace. To obnáší především vznik a činnost týmu pro POCT technologie v laboratořích, jeho členové se orientují v dané problematice a definují role a zodpovědnosti uživatelů POCT ve

struktuře zdravotnických zařízení. Jmenování kompetentní, dostatečně kvalifikované, osoby za vedoucího projektu POCT, popř. garanta POCT metody je odpovědností vedoucího laboratoře.

Proces volby způsobu použití POCT je závislý na rozsahu a náročnosti z hlediska medicínského, technického, ekonomického a organizačního.

Zdravotnická organizace by měla mít jasně definovaný jednotný postup pořízení a nákupu POCT diagnostiky vždy s přihlédnutím k názoru vedoucího projektu POCT, garanta POCT metody a vedoucího laboratoře s rutinní metodou v dané odbornosti.

Využití POCT diagnostiky a racionální potřeba se doporučuje výhradně pouze tehdy, pokud je jeho klinické použití důvodně opodstatněné a přinese významný benefit pro pacienty. V ostatních případech má vždy přednost vyšetřování v centrální laboratoři. V informačním systému, ať LIS nebo NIS je vždy nutné od sebe výsledky POCT metody a metody z laboratoře oddělit, jednoznačně pojmenovat a dokumentovat tak, aby bylo jasné patrné místo původu vyšetření.

Interní hodnocení kvality pro každý POCT systém musí být laboratoří vždy jasně definováno, kontrolováno a musí být zavedeny principy nápravných opatření (včetně poučení uživatele o záznamu měření do vyřešení příčiny v případě nevyhovujícího výsledku). Frekvence by měla

zohlednit specifické analytické požadavky a možná rizika vyšetřované metody v kontextu finančních a personálních nároků na provedení.

Při nastavení systému EHK se volí programy specifické pro POCT metody. Při samotném měření se užívá stejný postup jako pro měření vzorků pacientů - tj. měření provádí samotný uživatel z klinického pracoviště. Takto je ověřen nejen analytický stav metody, ale také postup práce uživatele. Minimální povinná účast je ve 2 cyklech EHK ročně a prokazuje se příslušnými osvědčeními o účasti. Pokud pro daný systém POCT není k dispozici nezávislý program EHK, je nutné zajistit srovnatelnost a návaznost výsledků metody s metodou v centrální laboratoři a tuto minimálně jednou ročně ověřovat. Pokud nelze zajistit ani návaznost výsledků, nelze daný systém doporučit pro používání.

Školení vedoucího projektu POCT metody provádí dodavatel přístroje, resp. diagnostik. Školení osob zodpovědných za přístroj na klinickém oddělení provádí vedoucí projektu POCT/metody v součinnosti s dodavatelem POCT přístroje, resp. diagnostik. Takto proškolená osoba může dále školit ostatní uživatele na klinickém pracovišti.

V případě výsledku, který neodpovídá klinickému stavu pacienta nebo jakékoliv pochybnosti o jeho správnosti, vždy je nutné provést confirmaci výsledku odběrem do centrální laboratoře.

Klíčové slova: POCT; strategie; laboratoř

ABSTRACT

The term POCT is defined by ISO 15189:2023 as “a laboratory examination performed on or near a patient”. The results of the POCT examination are mainly used for monitoring the patient’s current condition and obtaining a quick result in the line of first contact with the patient. It is not recommended to use the results for establishing a diagnosis or as evidence for a sudden change in treatment with the possibility of life-threatening in the sense of endangering vital functions. The expert society ČSKB approved the recommendation, which deals with setting up the system in a medical facility, the correct pre-analytical, analytical, and post-analytical phase when using POCT technologies and methods, including requirements for regular quality control, keeping relevant documentation and also user training.

The recommendation approved by the ČSKB takes into account only professional POCT technologies and meth-

odologies in healthcare facilities, it does not deal with defining the conditions for the use of technology used by patients for so-called self-monitoring. The governing body of the healthcare facility is responsible for ensuring that appropriate processes are in place to monitor the accuracy and quality of POCT performed within the organization. This primarily involves the creation and activity of a team for POCT technologies in laboratories, its members orientate themselves in the given issue and define the roles and responsibilities of POCT users in the structure of healthcare facilities. Appointing a competent, sufficiently qualified person as POCT project leader, or the guarantor of the POCT method is the responsibility of the head of the laboratory. The process of choosing the method of use of POCT is dependent on the scope and demands from the medical, technical, economic and organizational point of view.

The healthcare organization should have a clearly defined uniform procedure for the acquisition and purchase of POCT diagnostics, always taking into account the opinion of the POCT project manager, the guarantor of the POCT method and the head of the laboratory with a routine method in the given expertise. The use of POCT diagnostics and rational need is recommended only if its clinical use is reasonably justified and will bring significant benefit to patients. In other cases, the investigation in the central laboratory always takes precedence. In the information system, whether LIS or NIS, it is always necessary to separate the results of the POCT method and the method from the laboratory, clearly name them and document them so that the place of origin of the examination is clearly visible.

The internal quality assessment for each POCT system must always be clearly defined, controlled by the laboratory and the principles of corrective measures must be implemented (including instructing the user to prohibit the measurement until the cause is resolved in the event of an unsatisfactory result). The frequency should take into account the specific analytical requirements and possible risks of the method under investigation in the context of the financial and personnel requirements for implementation. When setting up the EHK system, programs specific to POCT methods are selected. During the measurement itself, the same procedure is used as for the measurement of patient samples - i.e. the measurement is performed by the user himself from the clinical workplace. In this way,

not only the analytical status of the method is verified, but also the user's work progress. The minimum mandatory participation is in 2 EQC cycles per year and is proven by the relevant certificates of participation. If an independent EQC program is not available for a given POCT system, it is necessary to ensure the comparability and consistency of the results of the method with the method in the central laboratory and verify this at least once a year. If the consistency of the results cannot be ensured, the given system cannot be recommended for use.

The training of the project manager of the POCT method is carried out by the supplier of the device, or diagnostician. The training of the persons responsible for the device in the clinical department is carried out by the POCT/methods project manager in cooperation with the

supplier of the POCT device, or diagnostician. A person trained in this way can further train other users at the clinical workplace. In the case of a result that does not correspond to the patient's clinical condition or any doubts about its correctness, it is always necessary to confirm the result by taking it to a central laboratory.

Key words: POCT; strategies; laboratory

REFERENCES

1. **ČSN EN ISO 15189:2023** ed.3 Zdravotnické laboratoře – Požadavky na kvalitu a kompetenci
2. **ISO/TS 22583:2019** Guidance for supervisors and operators of point-of-care testing (POCT) devices



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 88–89

23 ROKOV DECENTRALIZOVANEJ MEDICÍNY V NÁRODNOM ÚSTAVE DETSKÝCH CHORÔB 23 YEARS OF DECENTRALISED MEDICINE AT NATIONAL INSTITUTE OF CHILDREN'S DISEASES

Lenka Poláková, Alena Vasilenková, Claudia Šebová

Pracovisko klinickej biochémie, Oddelenie laboratórnej medicíny, Národný ústav detských chorôb, Bratislava

lenka.polakova@nudch.eu

SÚHRN

Pediatrické laboratórium sa zaoberá problémami, ktoré prinášajú špecifiká detského veku, akými sú najmä odlišné spektrum chorôb, imunologická nezrelosť predčasne narodených a novorodencov, metabolická nestabilita a vyššia akútnosť ochorení u detí ako u dospelých. Významným problémom je predanalytická fáza laboratórneho testovania. Odber vzoriek je problematický kvôli analytickým interferenciám, vyžadujú špeciálny tréning a laboratórne vyšetrenia majú často vyššiu frekvenciu. Pri opakovaných odberoch vzniká riziko iatrogénnej anemizácie, preto požiadavka na minimálny objem vzorky u pediatrických pacientov je kľúčová. Čoraz viac sa preferuje vyšetrenie parametrov v kapilárnej krvi. Pri transporte malých objemov vzoriek od detských pacientov do laboratória môže dôjsť k ich znehodnoteniu. U kriticky chorých pediatrických pacientov zohráva TAT (turnaround time) mimoriadne dôležitú úlohu, keďže deti nemôžu obvykle poskytnúť spoľahlivú anamnézu a fyzikálne nálezy nemusia odrážať akútnosť ochorenia. Mnoho problémov u pediatrických pacientov rieša POCT analýzy, ktoré významne redukovávajú TAT, zrýchľujú diagnostický proces a celkový manažment pediatrického pacienta v kritických situáciách.

Systém POCT analýz sa používa v NÚDCH (Národný ústav detských chorôb) od roku 2001, odvtedy sa neustále rozširuje

a zdokonaľuje. V súčasnosti garantujeme tri analyzátory krvných plynov, elektrolytov, Ca^{2+} , glukózy, laktátu, celkového bilirubínu a kreatinínu na oddeleniach s kriticky chorými pacientmi a na Oddelení urgentného príjmu, kde sú umiestnené aj tri analyzátory na stanovenie CRP z kapilárnej krvi. Na lôžkových oddeleniach a v ambulanciách je k dispozícii päťnásť glukomerov na kombinované stanovenie glukózy a ketolátok (β -hydroxybutyrátu) z kapilárnej krvi a dva glukomery na stanovenie glukózy. Ich nosným využitím sú diagnostické a liečebné algoritmy u pacientov s diabetickou ketoacidózou, ale aj pri hypoglykemických stavoch a metabolických dekompenzáciách rôznej etiológie. Hlavný dôraz sa kladie na kvalitu, ktorú zabezpečuje poverený laboratórny pracovník internou kontrolou kvality a účasťou v EHK minimálne dvakrát ročne.

POCT analýzy prinášajú viaceré známe úskalía (obmedzené spektrum vyšetrení, vykonávanie meraní nelaboratórnymi pracovníkmi, potenciálne vyššie náklady, potreba kontinuálnej supervízie centrálného laboratória). Pre úspešný priebeh analýzy je nevyhnutná úzka spolupráca medzi klinickými a laboratórnymi pracovníkmi. Napriek tomu POCT tvorí neoddeliteľnú súčasť laboratórnej diagnostiky a v podmienkach špecializovaného pediatrického pracoviska prevažujú benefity, ktoré vedú k lepšej starostlivosti o pacientov.

Kľúčové slová: POCT; pediatria; kapilárna krv

ABSTRACT

The pediatric laboratory deals with the problems posed by the specificities of childhood, such as the different spectrum of diseases, immunological immaturity of premature and newborn infants, metabolic instability, and higher acuteness of diseases in children than in adults. The pre-analytical phase of laboratory testing is an important issue. Sample collection is problematic because of analytical interferences, special training is required, and laboratory testing often has a higher frequency. There is a risk of iatrogenic anemia with repeated collections, so the requirement for a minimum sample volume in pediatric patients is crucial. Investigation of parameters in capillary blood is increasingly preferred. Transport of small sample volumes from pediatric patients to the laboratory may result in sample degradation. In critically ill pediatric patients, TAT (turn-around time) plays a particularly important role, as children cannot usually provide a reliable history and physical findings may not reflect the acuity of the disease. Many problems in pediatric patients are addressed by POCT analyses, which significantly reduce TAT, speed up the diagnostic process and overall management of the pediatric patient in critical situations.

The POCT analysis system has been in use at the National Institute of Children 's Diseases since 2001 and has been continuously expanded and improved since then.

Currently, we provide three analyzers for blood gases, electrolytes, Ca²⁺, glucose, lactate, total bilirubin, and creatinine in departments with critically ill patients and in the Emergency Department, where three analyzers for the determination of CRP from capillary blood are also located. Fifteen glucometers for the combined determination of glucose and ketone (β -hydroxybutyrate) from capillary blood and two glucometers for the determination of glucose are available in inpatient wards and outpatient clinics. Their primary use is diagnostic and therapeutic algorithms in patients with diabetic ketoacidosis, but also in hypoglycemic states and metabolic decompensations of various etiologies. The main emphasis is on quality, ensured by the designated laboratory staff through internal quality control and participation in the EQA at least twice a year.

POCT analyses bring several well-known challenges (limited range of tests, performance of measurements by non-laboratory staff, potentially higher costs, need for continuous supervision by a central laboratory). Close collaboration between clinical and laboratory staff is essential for successful analysis. Nevertheless, POCT is an integral part of laboratory diagnostics, and in the context of a specialized pediatric unit, the benefits, which lead to better patient care, prevail.

Key words: POCT; pediatrics; capillary blood



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 90–91

POC TESTY V NEMOCNIČNEJ PRAXI. PRAKTICKÉ SKÚSENOSTI POC TESTS IN THE HOSPITAL. PRACTICAL EXPERIENCE

Jana Strigáčová, Zuzana Gallová

Oddelenie klinickej biochémie, hematológie a mikrobiológie, Fakultná nemocnica Trenčín

jana.strigacova@fntn.sk

SÚHRN

POC vyšetrenia vykonávané mimo centrálného laboratória, priamo v mieste starostlivosti o pacienta, poskytujú viacero výhod. Výsledky sú k dispozícii podstatne rýchlejšie ako z centrálného laboratória, v dôsledku čoho môže nasledovať včasný lekársky zásah. Nemenej dôležitá je požiadavka na malé množstvo biologického materiálu na vyšetrenie, jednoduché uskutočnenie testu, jednoduchá obsluha a údržba prístrojov. Výsledky získané pri výstupe z POC analyzátora sú často ihneď k dispozícii v elektronickej dokumentácii pacienta.

V rámci zvyšovania kvality starostlivosti o pacienta vo FN Trenčín bol 6.7.2011 zahájený projekt zavádzania profesionálnych glukomerov. Od 6.7.2011 do 23.8.2011 prebiehala inštalácia 35 kusov glukomerov a intenzívne zaškoľovanie obsluhujúceho personálu na klinických oddeleniach a ambulanciách nemocnice. Na Oddelení klinickej biochémie a hematológie bol nainštalovaný server riadiaceho softvéru, ktorý dokumentuje a archivuje dáta všetkých používaných glukomerov a vytvára most medzi vzdialenými diagnostickými zariadeniami na mieste vyšetrenia a laboratórnym informačným systémom. Zároveň umožňuje koordinátorovi POCT sledovať a riadiť činnosť jednotlivých koncových zariadení a monitorovanie kontrolných meraní. S rozvojom jednotlivých oddelení, a tiež v dôsledku pandémie minulých rokov, sa počet

glukomerov postupne rozrástol do dnešného stavu 51 kusov.

Od zavedenia profesionálnych glukomerov narastal aj počet ostatných POCT analyzátorov vo FN Trenčín. Z dôvodu skrátenia TAT bol v roku 2013 na Anestéziologicko-resuscitačnom oddelení nainštalovaný analyzátor na analýzu krvných plynov, elektrolytov, laktátu a glukózy, a následne v roku 2016 analyzátor na kardiomarkery a zápalové parametre. Z dôvodu častého znehodnotenia kapilárnej vzorky krvi u neonatologických pacientov, bolo v roku 2013 zavedené POC meranie krvných plynov, elektrolytov, laktátu, glukózy a kapilárneho bilirubínu aj na Neonatologickom oddelení. Následne bolo v roku 2015 zavedené POC meranie CRP na detskej pohotovostnej ambulancii, a meranie ABR na pôrodnej sále. Potreba urgentného a častého merania krvných plynov počas pandémie v roku 2020 rozšírila náš počet ABR analyzátorov o ďalšie dva, na Infekčnom a Anestéziologicko-resuscitačnom oddelení.

POC vyšetrenia sú nesporným prínosom v laboratórnej medicíne. Vzhľadom na to, že ich vykonáva nelaboratórny personál, sú však aj veľkým zdrojom chýb. Na elimináciu týchto chýb bol laboratórnymi pracovníkmi FN Trenčín vypracovaný dokumentačný a organizačný systém, a v spolupráci s IT oddelením zavedený automatický prenos výsledkov do LIS a NIS. Poverený laboratórny pracovník vykonáva neustále zaškoľovanie obsluhujúceho

personálu, údržbu a kontrolu analyzátorov, kontrolu kvality, rieši prevádzkové problémy.

Výsledky získané POC vyšetreniami sú už bežnou súčasťou pri usmernení liečby a manažmente pacienta. Umožňujú tiež pacientovi poradenstvo a zabraňujú zbytočnej eskalácii liečby. POCT ponúka viacero výhod, ktoré sa však líšia v závislosti od prostredia, v ktorom sa vykonávajú. POCT má však aj určité nevýhody, ktoré možno pripísať predovšetkým premenlivo zaškolenému nelaboratórnemu personálu, kontrole nad preanalytickými, analytickými a postanalytickými premennými. Vzhľadom na rôznorodú škálu zdravotníckych pracovníkov a pracovných postupov je rozhodujúce adekvátne školenie, medziodborová komunikácia, efektívny prenos výsledkov. Vzájomnou spoluprácou môže zdravotnícky tím robiť správne rozhodnutia a poskytovať včasnú a cieleňú starostlivosť na základe výsledkov POCT.

Kľúčové slová: POCT; organizácia; výsledky; význam

ABSTRACT

POC examinations performed outside of a central laboratory, directly at the point of care of the patient, provide several advantages. The results are available much faster than from a central laboratory, as a result of which timely medical intervention can follow. No less important is the requirement for a small amount of biological material for the examination, simple execution of the test, simple operation and maintenance of the devices. Results obtained at the output of the POC analyzer are often immediately available in the electronic patient record.

As part of improving the quality of patient care at the Trenčín Hospital, a project to introduce professional glucometers was launched on July 6, 2011. From July 6, 2011 to August 23, 2011, the installation of 35 glucometers and intensive training of the operating personnel in the hospital's clinical departments and outpatient clinics took place. A management software server was installed at the Department of Clinical Biochemistry and Hematology, which documents and archives the data of all used glucometers and creates a bridge between remote diagnostic devices at the examination site and the laboratory information system. At the same time, it allows the POCT coordinator to monitor and manage the operation of individual end devices and the monitoring of control measurements. With the development of individual departments, and also as a result of the pandemic of the

past years, the number of glucometers gradually grew to the current state of 51 units.

Since the introduction of professional glucometers, the number of other POCT analyzers at FN Trenčín has also increased. In order to shorten the TAT, an analyzer for the analysis of blood gases, electrolytes, lactate and glucose was installed in the Anesthesiology and Resuscitation Department in 2013, and then in 2016 an analyzer for cardio-markers and inflammatory parameters. Due to the frequent deterioration of the capillary blood sample in neonatology patients, POC measurement of blood gases, electrolytes, lactate, glucose and capillary bilirubin was introduced in the Neonatology Department in 2013. Subsequently, in 2015, POC measurement of CRP was introduced at the children's emergency clinic, and ABR measurement at the delivery room. The need for urgent and frequent blood gas measurement during the pandemic in 2020 expanded our number of ABR analyzers by two more, in the Infectious and Anesthesiology-Resuscitation Departments.

POC examinations are an indisputable benefit in laboratory medicine. However, since they are performed by non-laboratory personnel, they are also a major source of error. In order to eliminate these errors, the laboratory staff of the Trenčín National Research Institute developed a documentation and organizational system, and in cooperation with the IT department, the automatic transfer of results to LIS and NIS was introduced. The authorized laboratory worker carries out continuous training of operating personnel, maintenance and inspection of analyzers, quality control, and solves operational problems.

The results obtained by POC examinations are already a common part of guiding the treatment and management of the patient. They also enable patient counseling and prevent unnecessary escalation of treatment. POCT offers several advantages, but these vary depending on the setting in which they are performed. However, POCT also has certain disadvantages, which can be attributed primarily to variably trained non-laboratory personnel, control over preanalytical, analytical, and postanalytical variables. Given the diverse range of healthcare workers and work procedures, adequate training, interprofessional communication, and effective transfer of results are crucial. By working together, the health care team can make the right decisions and provide timely and targeted care based on POCT results.

Key words: POCT; organization; the results; meaning



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 92–96

DOMÁCE SPOTREBITEĽSKÉ TESTY DIRECT-TO-CONSUMER TESTING

Ján Balla

Slovenská spoločnosť klinickej biochémie, Národný reprezentant

jan.balla.sr@gmail.com

SÚHRN

Technologický pokrok a zvýšený dopyt verejnosti po samotestovaní spôsobili obrovský nárast trhu s diagnostickými zdravotníckymi pomôckami určenými priamo pre spotrebiteľa. Mnoho diagnostických súprav je dostupných voľne bez lekárskeho predpisu a dajú sa kúpiť bez obmedzenia online alebo v miestnej lekárni alebo supermarkete. Viaceré spoločnosti ponúkajú rozmanitú škálu domácich testov a ponúkajú ich spotrebiteľom ako testy na sledovanie biologickej pohody, na zlepšenie svojho zdravia, vitality a životnej energie. Je normálne, že ľudia, ktorí zvažujú domáce laboratórne testovanie, majú otázky o tom, či sú bezpečné, presné a ako ich porovnať s tradičným laboratórnym testovaním.

CIEĽ

Domáce diagnostické testy sú testy na domáce použitie. Umožňujú testovať ľudí, ktorí ešte nemajú príznaky konkrétnej choroby (stavu) na určenie jej pravdepodobnosti, robiť skrining alebo monitorovať priebeh určitej choroby alebo zdravotného stavu v súkromí domova. Väčšina testovacích súprav zahŕňa odber vzorky telovej tekutiny, ako je krv, moč alebo sliny, a ich aplikáciu podľa pokynov výrobcu. Niektoré testy poskytujú okamžité výsledky, zatiaľ čo iné je potrebné zabaliť a poslať poštou do laboratória (Ayala-Lopez a kol., 2020).

Niektoré weby (*ZdravotnéTesty.sk*, nd; *Macromo | Vaše personalizovaná cesta za zdravím*, nd; *Home blood testing for optimal health and performance*, nd; *Healthline: Medical information and health advice you can trust*, nd; *LetsGetChecked USA: Home Health Test Kits & Enterprise Wellness Solutions*, nd; *Mytests: New Zealand wide Self Requested Health Testing*, nd; *Home Blood Tests & Health Checks From £40 at Forth*, nd; *Everlywell – Innovative at-home Health Testing*, nd) tvrdia, že ide o personalizovanú medicínu, ktorá je vedecky podložená a podporuje dlhovekosť, zdravie a výkon. Tvrdia, že ich programy testovania krvi poskytujú spotrebiteľom presné informácie o tom, čo sa deje v ich tele a čo by mali urobiť, aby sa zlepšili, aby sa cítili skvele, podávali najlepšie výkony, stali sa zdravšími a lepšie zvládali stres. Nie všetky sú však rovnaké. Niektoré sledujú fyziologické funkcie a iné pripomínajú, kedy užívať lieky. Mnohé domáce testy tvrdia, že pomáhajú zlepšiť zdravie, životnú pohodu a vitalitu (wellness). Niektoré sú určené na diagnostiku, identifikáciu príčin zdravotného problému, na odhalenie infekčnej choroby a iné na skrining a hľadajú príznaky ochorenia skôr, ako sa objavia subjektívne ťažkosti. Napríklad domáce testovanie môže hľadať sexuálne prenosné choroby (STD), ktoré nemusia spôsobovať príznaky a lákajú spotrebiteľov na to, že sa im podarí vyhnúť sa nevedomému šíreniu na ostatných. Bežne sú v ponuke testy na monitorovanie zdravotného stavu.

Typickým príkladom je meranie glykémie alebo glykovaného hemoglobínu u diabetikov. V ponuke sú aj genetické testy na analýzu DNA, ktoré tvrdia, že môžu odhaliť informácie o rodinnej histórii, objasniť pôvod alebo dokonca odhaliť neznáme rodinné vzťahy. Niektoré genetické testy sú určené na vyhľadávanie génových mutácií DNA alebo na predikciu zvýšeného rizika vzniku rakoviny prsníka a vaječníkov. V roku 2018 FDA schválil test priamo pre spotrebiteľa (DTCT), ktorý uvádza tri mutácie v génoch rakoviny prsníka BRCA (Eissenberg, 2018). Ďalej existuje celý rad testov, ktorý nehľadá konkrétny problém, ale je určený na meranie látok v telových tekutinách (hormónov, minerálií, metabolitov a vitamínov). Niektorí výrobcovia tvrdia, že ich testy boli validované vo vybraných klinických laboratóriách, ktoré sú registrované v komisii pre kvalitu. Ďalej tvrdia, že ich súpravy na domáce testovanie majú značku CE. Táto značka však nie je značkou ani potvrdením kvality. Označenie testu značkou CE poukazuje na to, že výrobok bol podrobený posúdeniu výrobcu a považuje sa za spĺňajúci požiadavky EÚ o zhode na bezpečnosť, zdravie a ochranu životného prostredia.

Hranice medzi zdravotníckymi pomôckami (testami) IVD a aplikáciami pre „*lifestyle*“, „*wellness*“ a „*well-being*“ sa výrazne stierajú. Uvedené výrazy sa nedajú v slovenčine preložiť jedným slovom a ich význam sa čiastočne prekrýva. Znamenajú životný štýl, zdravie, pohodlie, a stav duševnej pohody a blahobytu. Týkajú sa nielen emócií, ale kombinácie všetkých pocitov a fyzického, mentálneho a emocionálneho zdravia, prosperity, dobrej nálady a šťastia, kedy je stav duševného zdravia spojený s celkovým zdravím tela a spokojnosťou v živote. Pohoda je skúsenosť zdravia, šťastia a prosperity. **Wellness produkty vstupujú nenápadne do medicínskeho priestoru a otvárajú ich požiadavkám platných regulačných požiadaviek in-vitro diagnostických pomôcok** (Orth a kol., 2022; Orth, 2021).

METÓDA

Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 z 5. apríla 2017 o diagnostických zdravotníckych pomôckach *in vitro* definuje diagnostickú zdravotnícku pomôcku ako akúkoľvek zdravotnícku pomôcku, ktorá je reageniou, reagenčným výrobkom, kalibrátorom, kontrolným materiálom, súpravou, nástrojom, prístrojom, vybavením, softvérom alebo systémom, používanými samostatne alebo v kombinácii, a ktorá je určená výrobcom na použitie *in vitro* na vyšetrenie vzoriek, vrátane krvi

a tkaniva od darcov, získaných z ľudského tela, výhradne alebo hlavne na účely poskytnutia jednej alebo viacerých z týchto informácií: (a) o fyziologickom alebo patologickom procese alebo stave, (b) o vrodenných telesných alebo duševných poruchách, (c) o predispozícii na zdravotný stav alebo chorobu, (d) určiť bezpečnosť a kompatibilitu s potenciálnymi príjemcami, (e) predpovedať odpoveď alebo reakcie na liečbu, (f) definovať alebo monitorovať terapeutické opatrenia (EU Regulation, 2017/746). Zdá sa, že IVDR (2017) 746 je jednostranne zameraná na výrobu zdravotníckych pomôcok a postráda určenie oprávnenej osoby na ich užívanie. Zdravotnícke pomôcky, ktoré dôsledne spĺňajú platné regulačné požiadavky manažérstva kvality, špecifikuje medzinárodná norma ISO 13485:2016: *Systém manažérstva kvality pre výrobu zdravotníckych pomôcok*. ISO 13485:2016 špecifikuje požiadavky na systém manažérstva kvality, ktorým organizácia preukazuje svoju schopnosť poskytovať zdravotnícke pomôcky a súvisiace služby, ktoré dôsledne spĺňajú požiadavky zákazníkov a platné regulačné požiadavky. ISO 13485 je v EÚ dobrovoľná, vo väčšine krajín sveta výrobcovia IVD nie sú povinní preukazovať jej splnenie.

DISKUSIA

Technologický pokrok v oblasti zdravotníckych pomôcok IVD vytvára čoraz väčší tlak na rovnováhu medzi inováciou a reguláciou. Niektorí autori definujú spotrebiteľský DTC (direct-to-consumer) test ako ktorýkoľvek *in-vitro* diagnostický (IVD) test využívajúci IVD alebo MD, ktorý sa predáva priamo spotrebiteľom s alebo bez zapojenia poskytovateľa zdravotnej starostlivosti (lekára alebo špecialistu v laboratórnej diagnostike) (Hinzmann, 2023). Hlavným cieľom regulačných noriem zdravotníckych pomôcok IVD je však zabezpečiť bezpečnosť pacienta. Zdá sa, že európske regulačné opatrenie IVDR (2017) 746 má medzeru. Chýba jasné vymedzenie toho, kto je oprávnenou osobou na používanie zdravotníckych pomôcok IVD, čo je to nezdravotnícka pomôcka a aký je rozdiel medzi zdravotníckymi pomôckami *in vitro* a výrobkami bez medicínskeho účelu (testovanie zdravia alebo životného štýlu)? IVDR (2017) 746 ani neinformuje, kto môže za akých okolností používať výrobky na iné ako lekárske účely, ak majú rovnaký princíp ako zdravotnícke pomôcky IVD, alebo dokonca aj keď ide o rovnaké výrobky.

Americký federálny úrad pre potraviny, liečivá a kozmetiku (FDA) reguluje testy priamo spotrebiteľom ako

zdravotnícke pomôcky (MD). Špecifické regulačné požiadavky závisia od klasifikácie rizika jednotlivých IVD. FDA tvrdí, že proaktívne zefektívňuje reguláciu testov priamo pre spotrebiteľa a zároveň zabezpečuje, že testy sú analyticky a klinicky platné a vhodné na použitie spotrebiteľom bez zapojenia poskytovateľa zdravotnej starostlivosti (Hinzmann, 2023). Je otázne, či FDA autorizované genetické testy poskytujú informácie len preto, aby povzbudili ľudí k zdravšiemu životu, alebo poskytujú (aj) informácie, ktoré lekára vedú k prijímaniu lekárskeho rozhodnutia.

Regulácia voľného prístupu k DTCT v Európe je veľmi odlišná. V niektorých európskych krajinách je voľný predaj testov DTC zákonom zakázaný, na druhej strane v iných krajinách (vrátane Slovenska), nie je nijako obmedzený. V niektorých európskych krajinách zákonné regulačné opatrenia jasne definujú, ktoré testy DTC (OTC) sa môžu voľne predávať a ktoré iné sú zakázané. Stručná definícia zdravotníckej pomôcky podľa WHO „Predmet, nástroj, prístroj alebo stroj, ktorý sa používa na prevenciu, diagnostiku alebo liečbu ochorenia alebo choroby, alebo na zisťovanie, meranie, obnovu, nápravu alebo úpravu štruktúry alebo funkcie tela na nejaký zdravotný účel“ je vágny. „Globálny modelový regulačný rámec pre zdravotnícke pomôcky vrátane diagnostických zdravotníckych pomôcok in vitro“ vyzýva členské štáty, aby vypracovali a implementovali regulačné kontroly a regionálne usmernenia pre správnu výrobu s cieľom zabezpečiť kvalitu, bezpečnosť a účinnosť zdravotníckych pomôcok dostupných v ich krajinách. Hovorí teda len o kvalite výroby zdravotníckych pomôcok, vyhýba sa cieľovému užívateľovi a ochrane zdravia a bezpečnosti spotrebiteľov, čím nerieši rozdiely medzi nezdravotníckymi pomôckami na všeobecné účely a IVD pomôckami pre medicínske účely (WHO, 2017).

ZÁVER

Technologický pokrok v medicínskom a fitness priemysle mení spôsob, akým sú zdravotnícke služby vnímané, poskytované a prijímané. Súkromie, všeobecná bezpečnosť a ochrana spotrebiteľov (užívateľov) diagnostických testov je kľúčová. Kto je zodpovedný za test v prípade, že produkt a/alebo súvisiaca aplikácia nefungujú spoľahlivo alebo poskytujú nesprávne rady? Do akej miery sa môže spotrebiteľ primerane spoľahnúť na produkty a odporúčania v oblasti zdravia poskytované výrobcami?

Kľúčové slová: DTCT; MD; IVD; životný štýl; IVDR

ABSTRACT

Advances in technology and increased public demand for direct-to-consumer tests have caused a huge increase in their production. Many diagnostic kits are available over the counter without a prescription and can be purchased without restriction online or at your local pharmacy or supermarket. Several companies offer a diverse range of home tests to consumers as tests to monitor well-being, and improve their health, vitality, and life energy. It's normal for people considering at-home testing to have questions about their safety, reliability, accuracy, and how they harmonize with traditional lab testing.

AIM

At-home diagnostic tests are tests for home use. They enable to test people who have not yet symptoms of a particular disease (status) to estimate its likelihood, and to screen or monitor the course of a particular disease or medical status in the privacy of one's home. Most test kits involve taking a sample of body fluid, such as blood, urine, or saliva, and applying it according to the manufacturer's instructions. Some tests provide immediate results, while others need samples to be packaged and mailed to a lab (Ayala-Lopez et al., 2020).

Some websites (*ZdravotnéTesty.sk*, nd; *Macromo | Vaše personalizovaná cesta za zdravím*, nd; *Home blood testing for optimal health and performance*, nd; *Healthline: Medical information and health advice you can trust*, nd; *LetsGetChecked USA: Home Health Test Kits & Enterprise Wellness Solutions*, nd; *Mytests: New Zealand wide Self Requested Health Testing*, nd; *Home Blood Tests & Health Checks From £40 at Forth*, nd; *Everlywell - Innovative at-home Health Testing*, nd) claim that personalized medicine is scientifically based and supports longevity, health, and performance. They claim that their blood testing programs provide consumers with accurate information about what is going on in their bodies and what they should do to improve themselves to feel great, perform at their best, become healthier, and manage stress better. However, they are not all the same. Some monitor physiological functions and others remind when to take medicine. Many home tests claim to help improve health, well-being, and vitality (wellness). On the other hand, some are intended for diagnosis, identification of the causes of a health problem, and detection of pregnancy or an infectious disease. Others are intended for screen-

ing and looking for signs of disease before the appearance of the complaints. For example, home testing can look out for sexually transmitted diseases (STDs) in the early phase that may not cause symptoms yet, so luring people to buy it to avoid unknowingly spreading it. Furthermore, tests for health monitoring are commonly offered. A typical example is the measurement of blood glucose or glycosylated hemoglobin by diabetics, and measuring prothrombin time (INR) by patients taking coumarin derivatives for anticoagulation therapy. There are also genetic tests for DNA analysis, which claim they can reveal information about family history, clarify ancestry, or even uncover unknown family relationships. Some genetic tests are designed to search for DNA gene mutations to predict an increased risk of developing breast and ovarian cancer. In 2018, the FDA authorized a direct-to-consumer test that reports three mutations in the BRCA breast cancer genes (Eisenberg, 2018). Furthermore, many tests do not look for a specific problem but are designed to measure bodily substances like hormones, minerals, metabolites, and vitamins. Some manufacturers claim their tests are validated in selected clinical laboratories registered with the Quality Commission. They further claim that their home testing kits are CE-marked. However, this mark is not a brand or an endorsement of quality. The CE mark test indicates that the product has been assessed by the manufacturer and is considered to meet EU compliance requirements for safety, health, and environmental protection. **The line between IVD medical devices and applications for “lifestyle”, “wellness” and “well-being” are blurring significantly. Wellness products subtly enter the medical space and open them to requirements of the valid regulatory requirements of in-vitro diagnostic devices** (Orth et al., 2022; Orth, 2021).

METHOD

Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices defines an ‘**in vitro diagnostic medical device**’ as any medical device which is a reagent, reagent product, calibrator, control material, kit, instrument, apparatus, piece of equipment, software or system, whether used alone or in combination, intended by the manufacturer to be used in vitro for the examination of specimens, including blood and tissue donations, derived from the human body, solely or principally to provide information

on one or more of the following: (a) concerning a physiological or pathological process or state; (b) concerning congenital physical or mental impairments; (c) concerning the predisposition to a medical condition or a disease; (d) to determine the safety and compatibility with potential recipients; (e) to predict treatment response or reactions; (f) to define or monitoring therapeutic measures. Specimen receptacles shall also be deemed to be in vitro diagnostic medical devices (EU Regulation, 2017/746). IVDR (2017) 746 seems unilaterally focused on producing medical devices and lacks the unequivocal determination of the target authorized person for their usage. Furthermore, the international standard ISO 13485:2016 “*Quality management system for the production of medical devices*” specifies medical devices that consistently meet the valid regulatory requirements of quality management. ISO 13485:2016 specifies requirements for a quality management system by which an organization demonstrates its ability to provide medical devices and related services that consistently meet customer requirements and applicable regulatory requirements. ISO 13485 is voluntary in the EU, in most countries of the world IVD manufacturers are not required to demonstrate compliance.

DISCUSSION

Technological advances in IVD medical devices are increasing pressure on the imbalance between innovation and regulation. Some authors define a direct-to-consumer (DTC) test as any in-vitro diagnostic (IVD) test using an IVD or MD that is sold directly to consumers with or without the involvement of a healthcare provider (physician laboratory professional) (Hinzmann, 2023). However, the main goal of IVD medical device regulatory standards is to ensure patient safety. The European regulatory measure IVDR (2017) 746 appears to have a loophole. It lacks a clear definition of who is the **authorized person to use the IVD medical devices** furthermore, what is a **non-medical device**, and what is the **distinction between in vitro medical devices and products with no medical purpose** (health or lifestyle testing)? IVDR (2017) 746 does not even inform who may use products for non-medical purposes under what circumstances if these have the **same principle as IVD medical devices** even if they are the same products.

The US Food, Drug and Cosmetic Administration (FDA) regulates direct-to-consumer tests as medical devices (MDs). Specific regulatory requirements depend on the

risk classification of individual IVDs. The FDA claims to be proactively streamlining the regulation of direct-to-consumer tests while ensuring that tests are analytically, clinically valid, and appropriate for consumer use without healthcare provider involvement (Hinzmann, 2023). It is questionable whether FDA-authorized genetic tests provide information only to encourage people to live healthier lives, or they (also) provide information to guide the physician in making medical decisions.

Regulating free access to DTCT in Europe is very different. In some European countries the free sale of DTC tests is prohibited by law, on the other hand, in other countries (including Slovakia) it is not restricted in any way. In some European countries, legal regulatory measures clearly define which DTC tests (OTC) can be freely sold and which others are prohibited. The WHO's brief definition of a medical device "An article, instrument, apparatus or machine that is used in the prevention, diagnosis or treatment of illness or disease, or for detecting, measuring, restoring, correcting or modifying the structure or function of the body for some health purpose" is very vague. "Global Model Regulatory Framework for Medical Devices, including In Vitro Diagnostic Medical Devices", calls on Member States to develop and implement regulatory controls and regional guidelines for good manufacturing to ensure the quality, safety, and efficacy of medical devices available in their countries. So, it only talks about the quality of the production of medical devices, it avoids the target user, and the protection of the health and safety of consumers, thus not addressing the differences between non-medical devices for general purposes versus IVD devices for medical purposes (WHO, 2017).

CONCLUSION

Technological advancements in the medical and fitness industries are changing inventions about how healthcare services are perceived, delivered, and received. Privacy, general safety, and protection of consumers (users) of diagnostic tests are crucial. However, if the product or associated application does not work properly or gives inaccurate advice who is responsible for the test? To what extent can the consumer rely without risk on non-medical product advice provided by the manufacturers?

Key words: DTCT, IVD medical device, wellness, well-being MD, IVDR

REFERENCES

1. **Ayala-Lopez, N, Nichols, J-H. A (2020).** Benefits and Risks of Direct-to-Consumer Testing. Arch Pathol Lab Med. 2020;144:1193–1198; doi:10.5858/arpa.2020-0078-RA
2. **Eissenberg JC. (2018)** FDA Approves Direct-to-Consumer Cancer Genomics Mo Med. 2018 Mar-Apr;115(2):126. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6139858/>
3. **EU Regulation (2017)** REGULATION (EU) 2017/746 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU.
4. **Everlywell - Innovative at-home Health Testing (no date).** Available at: <https://www.everlywell.com/>.
5. **Healthline: Medical information and health advice you can trust. (no date).** Available at: <https://www.healthline.com/>.
6. **Hinzmann, R. (2023)** Direct-to-consumer testing – benefits for consumers, people with disease and public health. Clin Chem Lab Med 2023; 61(4): 703–708. <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0007>
7. **Home blood testing for optimal health and performance (no date).** Available at: <https://thriva.co/>.
8. **Home Blood Tests & Health Checks From £40 at Forth (no date).** Available at: <https://www.forthwithlife.co.uk/>.
9. **LetsGetChecked USA: Home Health Test Kits & Enterprise Wellness Solutions (no date).** Available at: <https://www.letsgetchecked.com/>.
10. **Macromo | Vaše personalizovaná cesta za zdravím (no date).** Available at: <https://www.macromo.com/>.
11. **Mytests: New Zealand wide Self Requested Health Testing (no date).** Available at: <https://www.mytests.co.nz/>.
12. **Orth, M, Vollebregt, E, Trenti, T., Shih, P., Tollanes, M. and Sandberg, S. (2022)** Direct-to-consumer laboratory testing (DTCT): challenges and implications for specialists in laboratory medicine Clin Chem Lab Med 2022; <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-1227>
13. **Orth, M. (2021)** Direct to consumer laboratory testing (DTCT) – opportunities and concerns (2021).. eJIFCC 2021 Vol32 No2 pp 209-215.
14. **WHO (2017)** WHO Global Model Regulatory Framework for Medical Devices including in vitro diagnostic medical devices. WHO Medical Device Technical Series, World Health Organization 2017
15. **ZdravotnéTesty.sk (no date).** Available at: <https://www.zdravotnetesty.sk/>



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 97–98

METABOLOMICKÁ ŠTÚDIA PACIENTOV S DEFICITOM TMEM70 A ACYL-CoA DEHYDROGENÁZY MASTNÝCH KYSELÍN S KRÁTKYM REŤAZCOM METABOLOMIC STUDY OF PATIENTS WITH TMEM70 DEFICIENCY AND SHORT-CHAIN ACYL-CoA DEHYDROGENASE DEFICIENCY

Matúš Prídavok^{1,2}, Dana Dobešová², Radana Brumarová², Katarína Brennerová³, Jana Šaligová⁴,
David Friedecký², Claudia Šebová¹

¹Oddelenie laboratórnej medicíny, Centrum dedičných metabolických porúch, Národný ústav detských chorôb, Bratislava

²Laboratórium dedičných metabolických porúch, Oddelenie klinickej biochémie, Fakultná nemocnica Olomouc a Lekárska fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Česká republika

³Detská klinika, Centrum dedičných metabolických porúch, Národný ústav detských chorôb, Bratislava

⁴Metabolická ambulancia, Detská fakultná nemocnica, Košice

matus.pridavok@nudch.eu

Dedičné metabolické poruchy (DMP) sú závažné ochorenia spôsobené deficitmi enzýmov alebo poruchami iných proteínov. Medzi tieto poruchy patria aj deficit TMEM70 a deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselín s krátkym reťazcom (SCAD). TMEM70 je proteín podieľajúci sa na správnej funkcii mitochondriovej ATP syntázy a tým pádom aj oxidatívnej fosforylácie, SCAD zabezpečuje celistvé fungovanie β -oxidácie mastných kyselín.

Vzorky séra a moču 27 pacientov (14 chlapcov a 13 dievčat) s deficitom TMEM70 (13), deficitom SCAD (11), kombinovaným deficitom týchto dvoch ochorení (3) a 38 kontrolných patientskych vzoriek (23 chlapcov a 15 dievčat) boli podrobené cieľenej metabolomickej analýze, na vzorkách močov sa navyše uskutočnila aj analýza organických kyselín. Na obidva prístupy bola použitá technológia kvapalinovej chromatografie s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS). Získané dáta boli vizualizované pomocou univariačných (box ploty) a multivariačných (PCA, OPLS-DA) štatistických metód.

Cieľom tejto štúdie bolo komplexne popísať biochemické deje u pacientov s deficitom TMEM70, SCAD a kombinovaným deficitom predmetných ochorení pomocou metabolomických nástrojov.

U pacientov s kombinovaným deficitom a deficitom TMEM70 bolo zistených mnoho významných zmien v pyruvátovom metabolizme (zvýšené koncentrácie laktátu,

pyruvátu a alanínu), Krebsovom cykle (zvýšené koncentrácie citrátu, izocitrátu, akonitátu, 2-oxoglutarátu, sukcinátu, fumarátu a malátu), metabolizme acylkarnitínov (zvýšené koncentrácie C14:1OH, C14:2OH, C16OH, C16:1OH, C16:2OH a C18:1OH) a aminokyselín (znížené koncentrácie glutamínu, ornitínu, citrulínu a arginínu) v porovnaní s kontrolnými patientskymi vzorkami. Súčasne boli detegované zvýšené koncentrácie metabolitov typických pre jednotlivé skupiny pacientov s deficitom TMEM70 (3-metylglutarát, 3-metylglutakonát), deficitom SCAD (etylmalonát) a kombinovanú poruchu.

Výsledky štúdie poukazujú na narastajúcu dôležitosť metabolomiky v spojení s LC-MS/MS v oblasti dedičných metabolických porúch. Popísané zmeny v metabolóme môžu prispieť k lepšiemu pochopeniu patobiochémie a zefektívniť diagnostiku týchto porúch.

Kľúčové slová: dedičné metabolické poruchy; deficit TMEM70; deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselín s krátkym reťazcom; metabolomika

Viacerí autori tejto publikácie sú členmi Európskej referenčnej siete pre zriedkavé dedičné metabolické poruchy (MetabERN).

ABSTRACT

Inherited metabolic disorders (IMDs) are serious diseases caused by enzyme deficiencies or abnormalities in other proteins. These disorders include TMEM70 deficiency and short-chain acyl-CoA dehydrogenase (SCAD) deficiency. TMEM70 is a protein involved in the proper function of mitochondrial ATP synthase and hence oxidative phosphorylation; SCAD ensures the overall functioning of β -oxidation of fatty acids.

Both serum and urine samples from 27 patients (14 boys and 13 girls) with TMEM70 deficiency (13), SCAD deficiency (11), combined deficiency of these two diseases (3) and 38 control patient samples (23 boys and 15 girls) were subjected to targeted metabolomic analysis; in addition, organic acid analysis was performed on urine samples. Liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) technology was used for both approaches. The data obtained were processed using univariate (box plots) and multivariate (PCA, OPLS-DA) statistical methods.

The aim of this study was to comprehensively describe the biochemical events in patients with TMEM70 deficiency, SCAD deficiency and combined deficiency using metabolomic tools.

Many significant changes in pyruvate metabolism (increased concentrations of lactate, pyruvate and alanine), Krebs cycle (increased concentrations of citrate,

isocitrate, aconitate, 2-oxoglutarate, succinate, fumarate and malate), acylcarnitine (increased concentrations of C14:1OH, C14:2OH, C16OH, C16:1OH, C16:2OH a C18:1OH) and amino acid metabolism (decreased concentrations of glutamine, ornithine, citrulline and arginine) were found in patients with combined deficiency and TMEM70 deficiency compared to control patient samples. At the same time, elevated concentrations of metabolites typical for individual groups of patients with TMEM70 deficiency (3-methylglutarate, 3-methylglutaconate), SCAD (ethylmalonate) and combined disorder were detected. Study results demonstrate the increasing importance of metabolomics in conjunction with LC-MS/MS in the field of inherited metabolic disorders. Described changes in the metabolome may contribute to a better understanding of the pathobiochemistry and make the diagnosis of these disorders more efficient.

Key words: inherited metabolic disorders; TMEM70 deficiency; short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency; metabolomics

Several authors of this publication are members of the European Reference Network for Rare Hereditary Metabolic Disorders (MetabERN).



VYSOKÉ HLADINY B₁₂ - MARKER PROGNÓZY U ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV? HIGH B₁₂ LEVELS - PROGNOSTIC MARKER IN ONCOLOGY PATIENTS?

Daniel Magula¹, Gabriela Vaverková¹, Silvia Vinklerová¹, Gabriela Chowaniecová²

¹Oddelenie klinickej biochémie, Špecializovaná nemocnica sv. Svorada Zobor, n.o., Nitra

²Oddelenie klinickej onkológie, Špecializovaná nemocnica sv. Svorada Zobor, n.o., Nitra

magula@snzobor.sk

SÚHRN

V klinickej praxi sú známe stavy a ochorenia (napr. anémia, skupina vegánov, a i.), pri ktorých sa očakáva nález nižšej sérovej hladiny (deficit) vitamínu B₁₂ (ďalej len B₁₂). Prípadný nález zvýšených hladín B₁₂ je skôr neočakávaným nálezom, ktorého interpretáciu bežné učebnice ani manuály neponúkajú, i keď v odbornej literatúre možno nájsť popisované zmienky o náleze vysokých hladín B₁₂ už niekoľko rokov. Nález vyšších hladín B₁₂ sa najčastejšie spája s prítomnosťou malígnych procesov alebo poškodeniami pečene rôznej genézy (vrátane jej malígneho postihnutia). Pribúdajú práce, ktoré práve u onkologických pacientov analyzujú súvislosti medzi zvýšením hladín B₁₂ a zhoršenou prognózou prežitia (Arendt a kol., 2016; Oh a kol., 2018; Lacombe a kol., 2021). Podobné súvislosti si autori všimli i na ich pracovisku a v práci predkladajú svoje prvotné skúsenosti.

V období júl 2023 - marec 2024 sme z laboratórneho informačného systému retrospektívne vyhodnotili spolu 493 vyšetrení sérových hladín vitamínu B₁₂, z toho 431 u pacientov s diagnózou C34.x (karcinóm pľúc), zostávajúce vyšetrenia boli indikované u pacientov z geriatrického oddelenia a diabetologickej ambulancie. Špecifikom u onkologických pacientov sú ich pravidelné a opakované ambulantné, resp. hospitalizačné epizódy (v intervaloch cca 3 týždne) za účelom podávania terapie. Prevažujú-

cim dôvodom indikácie vyšetrenia B₁₂ onkológmi bola často sa vyskytujúca anémia pri základnom onkologickom ochorení, resp. pri podávaní liekov, ktoré „vytesňujú“ B₁₂ (napr. pemetrexed). Počas celého obdobia sledovania sme u týchto pacientov evidovali i dátumy úmrtí (prípadne ich verifikovali cez portál Úradu pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou). Takto vznikli pre účely analýzy hladín B₁₂ dve skupiny onkologických pacientov – tých, ktorí počas obdobia sledovania trvale prežívali a tých, ktorí zomreli. Pre biochemické analýzy bola využívaná diagnostická súprava Elecsys B12 II[®] (imunochemický analyzátor Cobas e411[®] Roche). Referenčný medián sérových hladín vitamínu B12 udávaný výrobcom je 314 pmol·L⁻¹ (rozmedzie 145 - 569 pmol·L⁻¹ pri 2,5 - 97,5 percentile).

V sledovanom období 9 mesiacov bolo cieľom porovnať vyšetrené hladiny B₁₂ u pacientov s karcinómom pľúc, ktorí v uvedenom období prežívali, s hladinami B₁₂ u onkologických pacientov, ktorí v uvedenom období zomreli. Súčasne sa ako komparátor, resp. „kontrolná“ skupina, vyhodnotili výsledky vyšetrení hladín B₁₂ u pacientov z geriatrického oddelenia a z diabetologickej ambulancie.

Mediánový priemer z 97 vyšetrení u onkologických pacientov, u ktorých bolo k 15.3.2024 evidované úmrtie, bol 1119 pmol·L⁻¹ (interkvartilové rozmedzie - IQR 511-1910 pmol·L⁻¹). Mediánový priemer hladín 334 vyšetrení B₁₂ u onkologických pacientov, ktorí prežívali, bol 543 pmol·L⁻¹

(IQR 386,75 - 1046,75 pmol·L⁻¹). V kontrolných skupinách boli namerané hodnoty nasledovné: geriatrickí pacienti (n=42) - 556 pmol·L⁻¹ (IQR 377,25-895,25 pmol·L⁻¹), diabetickí pacienti (n=12) 487,5 pmol·L⁻¹ (IQR 458-577 pmol·L⁻¹). Zároveň boli spätne voči dátumu úmrtia onkologických pacientov určené mediánové hodnoty (a IQR) hladín vitamínu B₁₂ nameraných v období do 1 mesiaca pred úmrtím 678 pmol·L⁻¹ (400-2000 pmol·L⁻¹), a v obdobiach 1-2 mesiace 1322 pmol·L⁻¹ (898,5-1670 pmol·L⁻¹), 2-3 mesiace 999 pmol·L⁻¹ (509,5-2000 pmol·L⁻¹), viac ako 3 mesiace pred úmrtím 1307 pmol·L⁻¹ (561-1690,25 pmol·L⁻¹).

Na malom pilotnom súbore dát vyšetrení B₁₂ sme preukázali významne vyššie hladiny B₁₂ u onkologických pacientov, u ktorých boli v priebehu 9-mesačného sledovania zaznamenané úmrtia, voči hladinám B₁₂ u prežívajúcich onkologických pacientov. V poslednej uvedenej skupine onkologických pacientov neboli zaznamenané významné rozdiely v mediánových priemeroch hladín B₁₂ voči kontrolným skupinám geriatrických či diabetologických pacientov. Nami získané výsledky sú v súlade so závermi publikovaných prác v svetovom písomníctve, ktoré naznačujú, že nálezy zvýšených hladín vitamínu B₁₂ môžu mať vzťah k zhoršeniu prognózy quoad vitam u onkologických pacientov.

Kľúčové slová: sérové hladiny vitamínu B₁₂; marker prognózy; onkologické choroby

ABSTRACT

In clinical practice, there are known conditions and diseases (e.g. anaemia, vegan group, etc.) in which the finding of lower serum levels (deficiency) of vitamin B₁₂ (hereafter referred to as B₁₂) is expected. The possible finding of elevated B₁₂ levels is rather unexpected, the interpretation of which is not offered in common textbooks or manuals. However, descriptions of high B₁₂ levels can be found in the literature for several years. The finding of higher B₁₂ levels is most often associated with the presence of malignant processes or liver damage of various genesis (including malignant liver involvement). There is a growing body of work analysing the association between elevated B₁₂ levels and poorer survival prognosis in cancer patients (Arendt et al, 2016, Oh et al., 2018, Lacombe et al., 2021). Similar associations have been noticed by the authors in their workplace and in this paper they present their initial experience.

Between July 2023 and March 2024, we retrospectively evaluated a total of 493 serum vitamin B₁₂ level tests from the laboratory information system, of which 431 were in patients with a diagnosis of C34.x (lung cancer); the remaining tests were indicated in patients from the geriatric ward and the diabetes outpatient clinic. The specific features of cancer patients are their regular and repeated outpatient or inpatient episodes (at intervals of about 3 weeks) for the purpose of therapy administration. The predominant reason for the indication of B₁₂ testing by oncologists was the frequently occurring anaemia in the underlying oncological disease or the administration of drugs that “crowd out” B₁₂ (e.g. pemetrexed). Throughout the follow-up period, we also recorded these patients’ death dates (or verified them via the Health Care Oversight Authority portal). This created two groups of cancer patients for analysis of B₁₂ levels - those who survived consistently during the follow-up period and those who died. The Elecsys B12 II[®] diagnostic kit (immunochemical analyzer Cobas e411[®] Roche) was used for the biochemical analyses. The median reference serum vitamin B₁₂ levels reported by the manufacturer are 314 pmol·L⁻¹ (range 145- 569 pmol·L⁻¹ at the 2.5-97.5 percentile).

During the 9-month follow-up period, the aim was to compare the investigated B₁₂ levels in lung cancer patients who survived during that period with the B₁₂ levels in cancer patients who died during that period. At the same time, as a comparator, or “control” group, the results of investigations of B₁₂ levels in patients from the geriatric ward and from the diabetology outpatient clinic were evaluated.

The median of 97 examinations in cancer patients with a recorded death as of March 15, 2024, was 1119 pmol·L⁻¹ (interquartile range - IQR 511-1910 pmol·L⁻¹). The median 334 B₁₂ levels in cancer patients who survived was 543 pmol·L⁻¹ (IQR 386.75-1,046.75 pmol·L⁻¹). In the comparison control groups, the measured values were as follows: geriatric patients (n=42) - 556 pmol·L⁻¹ (IQR 377.25-895.25 pmol·L⁻¹), diabetic patients (n=12) 487.5 pmol·L⁻¹ (IQR 458-577 pmol·L⁻¹). At the same time, the median values (and IQRs) of vitamin B₁₂ levels were determined retrospectively concerning the date of death of the cancer patients; in the period up to 1 month before death: 678 pmol·L⁻¹ (400-2000 pmol·L⁻¹), in the periods 1-2 months: 1322 pmol·L⁻¹ (898.5-1670 pmol·L⁻¹), 2-3 months: 999 pmol·L⁻¹ (509.5-2000 pmol·L⁻¹), and more than 3 months before death: 1307 pmol·L⁻¹ (561-1690.25 pmol·L⁻¹).

Using a small pilot dataset of B₁₂ testing, we demonstrated significantly higher B₁₂ levels in cancer patients who died during the 9-month follow-up period, relative to B₁₂ levels in cancer survivors. In the latter group of cancer patients, there were no significant differences in the median mean B₁₂ levels relative to the control groups of geriatric or diabetic patients. Our results are in agreement with the findings of published papers in the world literature, which suggest that the findings of elevated vitamin B₁₂ levels may be related to the worsening prognosis of *quoad vitam* in cancer patients.

Key words: serum vitamin B₁₂ levels; prognosis marker; cancer

REFERENCES

1. **Arendt, J.F.H., Farkas, D.K., Pedersen, L. et al. (2016)** „Elevated plasma vitamin B12 levels and cancer prognosis: A population-based study“, *Cancer Epidemiology*, 40 (2016), pp. 158-165. <https://dx.doi.org/10.1016/j.canep.2015.12.007>
2. **Oh, H.K., Lee, J.Y., Eo, W.K., et al. (2018)** „Elevated Serum Vitamin B₁₂ Levels as a Prognostic Factor for Survival Time in Metastatic Cancer Patients: A Retrospective Study“, *Nutrition and Cancer*, 70:1, 37-44, <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1397711>
3. **Lacombe, V., Chabrun, F., Lacout, C. et al. (2021)** „Persistent elevation of plasma vitamin B12 is strongly associated with solid cancer“, *Scientific Reports* (2021), 11:13361. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92945-y>



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 102–103

DEFICIT VITAMÍNU D: PODCEŇOVANÝ PREDIKTÍVNY RIZIKOVÝ FAKTOR V SEPSE? VITAMIN D DEFICIENCY: AN UNDERESTIMATED PREDICTIVE RISK FACTOR IN SEPSIS?

Anna Dobišová^{1,2}, Michaela Kopčová², Magda Suchánková², Elena Tibenská³, Kinga Szaboová³,
Katarína Vlniešková⁴, Ivan Pecháň[†], Juraj Koutun¹, Mária Bucová²

¹1. Klinika anestéziológie a intenzívnej medicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského a Univerzitná nemocnica Bratislava

²Ústav imunológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského Bratislava

³Oddelenie imunológie, Medirex a.s., Bratislava

⁴Oddelenie biochémie, Medirex a.s., Bratislava

[†]Oddelenie klinickej biochémie, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb a.s., Bratislava

anka.zabka@gmail.com

SÚHRN

Sepsa je život ohrozujúca orgánová dysfunkcia, ktorá vzniká v dôsledku dysregulácie imunitnej odpovede na infekciu. Tento závažný komplexný klinický syndróm je hlavnou príčinou prijatia na jednotku intenzívnej starostlivosti a smrti na infekčné ochorenia. Napriek súčasnému pokroku v liečbe, mortalita na sepsu dosahuje až 50%.

Vitamín D je neurohormón regulujúci kostnú kalcium-fosfátovú homeostázu, zároveň však hrá hlavnú úlohu v extraskeletálnych metabolických procesoch, akými sú napr. metabolizmus glukózy a v mnohých aspektoch bunkových funkcií a imunomodulácie. Má priamy vplyv na funkciu vrodenej aj adaptívnej imunity prostredníctvom vitamín D receptora exprimovaného na niekoľkých imunitných bunkách. Protizápalový účinok vitamínu D v ľudských T bunkách je čiastočne sprostredkovaný inhibičným účinkom na NFκB, taktiež sa podieľa aj na posune odpovede T pomocných (Th) buniek z Th1 (špecifická bunkami sprostredkovaná imunita sprevádzaná zápalom) na Th2 (špecifická humorálna imunita). Týmto mechanizmom môže obmedziť potenciálne poškodenie tkaniva spojené s nadmernými Th1 bunkovými imunitnými odpoveďami a hyperinflamáciou, prebiehajúcou aj pri SIRS resp. sepsu. Deficit vitamínu D je spojený s rôznymi poruchami, ako sú: diabetes mellitus, infekcia, infarkt myokardu, autoimunitné ochorenie, chronická obštrukčná

choroba pľúc, tuberkulóza a nadmerná úmrtnosť v bežnej populácii.

Cieľom tejto štúdie bolo poukázať na úlohu vitamínu D pri sepsu a neinfekčnom SIRS (syndróm systémovej zápalovej odpovede) a nájsť koreláciu hladín vitamínu D so zápalovými markermi, závažnosťou ochorenia a asociáciou so 7- a 28-dňovou mortalitou u pacientov.

Vyšetřili sme 32 pacientov (21 mužov, 11 žien) prijatých na jednotku intenzívnej starostlivosti so SIRS a sepsou. Krv bola odobratá do 24 hodín po prijatí. Skúmali sme plazmatické hladiny 25(OH)D, sTREM-1, CRP, presepsínu a prokalcitonínu. Klinický stav sme hodnotili pomocou SOFA skóre (Sekvenčné [so sepsou súvisiace] skóre zlyhania orgánov).

Pacienti so sepsou mali nižšie hladiny 25(OH)D (n=25) ako pacienti so SIRS (n = 7; p = 0,0032). Signifikantne nižšie hladiny 25(OH)D boli zistené aj u pacientov, ktorí neprežili 7. (p = 0,0076) a 28. deň (p = 0,0338) nemocničnej starostlivosti v porovnaní s preživšími 7., resp. 28. deň. Odhalili sme negatívnu koreláciu medzi hladinami 25(OH)D a zápalovými markermi CRP (p = 0,0003), presepsín (p=0,0032) a sTREM-1 (p = 0,0065) u všetkých pacientov so SIRS/sepsou a klinickým stavom (SOFA skóre p = 0,0385).

Naše výsledky ukázali, že deficit vitamínu D predisponoval k rozvoju sepsy, negatívne koreloval s CRP, presepsínom, sTREM-1 a SOFA skóre a ich hladiny boli asociované so 7- aj 28-dňovou mortalitou. Dosiahnuté

výsledky naznačujú, že deficit vitamínu D môže spôsobiť intenzívnejšiu a búrlivejšiu skorú prozápalovú Th1 odpoveď s vyššou letalitou. Rovnako poukazujú na potenciálny vplyv hladiny vitamínu D na riziko včasnej mortality a podporujú predpoklad, že deficit vitamínu D v čase začatia kritickej starostlivosti je významným prediktorom mortality pacientov so SIRS aj sepsou.

Kľúčové slová: vitamín D; sepsa; presepsín; procalcitonín; sTREM-1

ABSTRACT

Sepsis is a life-threatening organ dysfunction generated due to the dysregulation of the immune response to infection. This severe complex clinical syndrome is a major cause of admission to the intensive care unit and death from infectious diseases. Despite current advances in treatment, mortality rate of sepsis reaches up to 50%.

Vitamin D is a neuro-hormone regulating bone calcium phosphate homeostasis but plays also a major role in extra-skeletal metabolic processes, such as glucose metabolism, and in many aspects of cellular functions and immunomodulation. It has a direct effect on the function of both innate and adaptive immunity via vitamin D receptor expressed on several immune cells. Anti-inflammatory effect of vitamin D in human T cells is partially mediated by inhibitory effect on NFκB. Vitamin D also participates in the shift of T helper (Th) cell response from Th1 (specific cell mediated immunity accompanied by inflammation) to Th2 (specific humoral immunity). By this mechanism it may limit the potential tissue damage associated with excessive Th1 cellular immune responses and hyperinflammation, ongoing also in SIRS or sepsis. Vitamin D deficiency is associated with various disorders such as: diabetes mellitus, infections, myocardial infarction, autoimmune disease, chronic obstructive pulmonary disease, tuberculosis, and excess mortality in the general population.

The aim of this study was to highlight the role of vitamin D in sepsis and non-infectious SIRS (systemic inflammatory response syndrome) and to find correlation of vitamin D levels with inflammatory markers, severity of the disease, and association with the 7th and 28th survival rate of patients.

We investigated 32 patients (21 men, 11 women) admitted to an intensive care unit with both SIRS and sepsis. Blood was taken within 24 hours after admission. Plasma levels of 25(OH)D, sTREM-1, CRP, presepsin and procalcitonin were investigated. We evaluated the clinical condition using the SOFA score (Sequential [Sepsis-related] Organ Failure Assessment).

Patients with sepsis had lower levels of 25(OH)D (n=25) than SIRS patients (n=7; p=0.0032). Significantly lower levels of 25(OH)D were found also in patients, who did not survive the 7th (p=0.0076) and 28th day (p=0.0338) of hospital care compared to 7th, resp. 28th day survivors. We revealed a negative correlation between the levels of 25(OH)D and inflammatory markers CRP (p=0.0003), presepsin (p=0.0032) and sTREM-1 (p=0.0065) in all SIRS/sepsis patients and clinical condition (SOFA score; p=0.0385).

Our results showed that vitamin D deficiency predisposed to the development of sepsis, negatively correlated with CRP, presepsin, sTREM-1 and SOFA score and their levels associates with both 7th and 28th days survival of patients. The achieved results indicate, that vitamin D deficiency can cause more intense and stormy early pro-inflammatory Th1 response with a higher lethality. They also point to the potential impact of vitamin D level on early mortality risk and support the assumption, that vitamin D deficiency at the time of critical care initiation is a significant predictor of mortality in both groups of patients.

Key words: vitamin D; sepsis; presepsin; procalcitonin; sTREM-1



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 104–105

IONIZOVANÝ VÁPNIK PRIAMYM MERANÍM ALEBO VÝPOČTOM? POROVNANIE METODÍK. IONIZED CALCIUM BY DIRECT MEASUREMENT OR CALCULATION? COMPARISON OF METHODOLOGIES.

Lenka Ramajová, Jana Lučeničová, Peter Božek

Oddelenie klinickej biochémie a hematológie, UN-Nemocnica sv. Michala a.s. Bratislava

lenka.ramajova@nsmas.sk

SÚHRN

Vápnik je nepostrádateľný minerál, ktorý zohráva kľúčovú úlohu v mnohých biologických procesoch. Podporuje pevnosť kostí a zubov, zabezpečuje správnu funkciu svalov a nervov. V krvi sa vyskytuje v troch formách: ionizovaný vápnik (50%), vápnik viazaný na bielkoviny - prevažne albumín (40%), a komplex vápnika s organickými zlúčeninami, najmä citrátom (10%). Fyziologicky aktívnou formou vápnika je voľný (ionizovaný) vápnik, ktorý tvorí skoro polovicu celkového cirkulujúceho vápnika.

Na našom pracovisku sme riešili otázku, či je možné hodnoty ionizovaného vápnika vypočítať z existujúcich laboratórnych údajov, vzhľadom na to, že priame stanovenie nie je vždy možné kvôli stratám CO_2 pri otvorení skúmavky, čo vedie k zníženiu koncentrácie Ca^{2+} .

Od 2. januára 2024 do 30. júna 2024 sme uskutočnili 252 meraní ionizovaného vápnika, pričom vzorky pochádzali od 35% žien a 65% mužov. Namerané vzorky sa nachádzali v rozsahu pH 7,08-7,58 a Ca^{2+} 0,87-1,82 mmol.L⁻¹. Štúdia sa sústredila na porovnanie metód, skôr ako na konkrétnu cieľovú skupinu. Viac ako 68% vzoriek tvorili pacienti s diagnózami obehovej sústavy a 15% tvorili pacienti s diagnózou choroby žliaz s vnútorným vylučovaním. Zvyšok tvorili pacienti vyšetrení pri preventívnych prehliadkach- zdravý jedinci. Koncentrácie ionizovaného vápnika sme stanovili priamou potenciometrickou metó-

dou pomocou ISE na analyzátore Cobas b221 a porovnali sme ich s vypočítanými hodnotami. Na výpočet hodnôt sme použili vzťahy z publikácie Jabor A. (2008) vztiahnuté na namerané koncentrácie celkových bielkovín, albumínu a sérového vápnika.

Pri výpočtoch pomocou koncentrácie albumínu sme zaznamenali odchýlku vyššiu ako 10% v 43 vzorkách. Naopak, použitie celkových bielkovín poskytlo uspokojivejšie výsledky, pričom len 6 vzoriek vykázalo odchýlku vyššiu ako 10%. Výsledky výpočtov môžu byť ovplyvnené faktormi ako je pH a koncentrácia celkového vápnika, preto je dôležité pri interpretácii brať do úvahy aj tieto aspekty.

Na základe našich meraní a vyhodnotenia porovnania podľa Passing Babloka (Zíma, 2002) môžeme konštatovať, že výpočet ionizovaného vápnika pomocou koncentrácie celkových bielkovín môže byť spoľahlivou alternatívou v situáciách, kde nie je možné priame stanovenie ionizovaného vápnika. Najspoľahlivejšie výsledky poskytuje tento výpočet pri pH v referenčnom intervale hodnôt. V súlade s publikovanými prácami a aj nami zaznamenanými najvyššími odchýlkami, výpočet nie je možné aplikovať u kriticky chorých pacientoch- hlavne pri zlyhávajúcich obličkách.

Kľúčové slová: vápnik; ionizovaný vápnik; priama potenciometria pomocou ISE

ABSTRACT

Calcium is an indispensable mineral that plays a key role in many biological processes. It supports bone and tooth strength and ensures the proper functioning of muscles and nerves. In the blood, it occurs in three forms: ionized calcium (50%), protein-bound calcium—mainly albumin (40%), and a calcium complex with organic compounds, primarily citrate (10%). The physiologically active form of calcium is free (ionized) calcium, which constitutes almost half of the total circulating calcium.

At our workplace, we addressed the question of whether it is possible to calculate ionized calcium values from existing laboratory data, given that direct determination is not always possible due to CO₂ losses when the test tube is opened, leading to a decrease in Ca²⁺ concentration.

From January 2, 2024, to June 30, 2024, we conducted 252 measurements of ionized calcium, with samples coming from 35% women and 65% men. The measured samples were within the pH range of 7.08–7.58 and Ca²⁺ concentrations of 0.87–1.82 mmol.L⁻¹. The study focused on comparing methods rather than a specific target group. More than 68% of the samples were from patients with circulatory system diagnoses, and 15% were from patients with endocrine diseases. The remaining samples were from healthy individuals undergoing preventive examinations.

We determined the concentrations of ionized calcium by direct potentiometric method using ISE on the Cobas b221 analyzer and compared them with the calculated

values. For the calculations, we used formulas from Jabor A.'s publication (2008), related to the measured concentrations of total proteins, albumin, and serum calcium. In the calculations using albumin concentration, we recorded a deviation greater than 10% in 43 samples. On the other hand, using total proteins provided more satisfactory results, with only 6 samples showing a deviation greater than 10%. The calculation results may be influenced by factors such as pH and total calcium concentration, so these aspects should be considered when interpreting the data.

Based on our measurements and evaluation of comparisons using Passing-Bablok (Zíma, 2002) regression, we can conclude that calculating ionized calcium using total protein concentration can be a reliable alternative in situations where direct ionized calcium determination is not possible. The most reliable results are obtained when the calculation is within the pH reference interval. In line with published works and the highest deviations we observed, the calculation cannot be applied to critically ill patients—especially those with renal failure.

Keywords: calcium; ionized calcium; direct potentiometry using ISE

REFERENCES

1. Jabor A. a kol.: *Vnitřní prostředí*. Grada 2008, ISBN 978-80-247-1221-5
2. Zíma Tomáš: *Laboratorní diagnostika*, vyd. Galén, 2002, ISBN 80-7262-201-3



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 106–108

LABORATÓRNE STANOVENIE NEKONJUGOVANÉHO BILIRUBÍNU V SÉRE NOVORODENCOV. ZLATÝ ŠTANDARD NEONATOLÓGOV? LABORATORY DETERMINATION OF UNCONJUGATED BILIRUBIN IN SERA OF NEWBORNS. GOLD STANDARD FOR NEONATOLOGISTS?

Štefan Hajzer

hajzerst@pobox.sk

SÚHRN

Novorodenecká žltáčka v dôsledku hyperbilirubinémie je bežná u kojencov prijatých na novorodenecké JIS. Novorodenecká žltáčka sa prezentuje takmer u 80-100% nezrelých a u 50 – 60% zrelých novorodencov (Demová a kol., 2017). Asi 85% novorodencov má koncentráciu bilirubínu (TSB) $> 220 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, u 3% novorodencov dosahuje (TSB) $> 256 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ a závažná hyperbilirubinémia (TSB) $> 342 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ sa vyskytuje u menej ako 2% zrelých novorodencov (Demová a kol., 2017). V súčasnosti sa na monitorovanie bilirubinémie využíva cieľený skrínig, pri ktorom sa používa transkutánne meranie rôznymi typmi „bilirubinometrov“. Množstvo publikácií, hlavne neonatológov na túto tému za posledných niekoľko rokov, dokumentuje živý záujem odborníkov, ktorí sa snažia výsledky (TcB) korelovať so skutočnou hodnotou sérového bilirubínu (TSB) u novorodencov. Závěry väčšiny týchto štúdií považuje transkutánne meranie za užitočný skrínig, ktorého výsledky musia byť pred akýmkoľvek terapeutickým zásahom overené laboratórnym stanovením sérového bilirubínu (TSB), ktoré neonatológovia považujú za zlatý štandard. Preto je analytická kvalita výsledku laboratórneho merania pre nich rozhodujúcou informáciou.

Cieľom tohoto príspevku je zhodnotiť súčasný stav v analytike bilirubínu, ktorý je charakterizovaný veľkou

diverzitou rôznych technológií a aplikácií v rutinných systémoch medicínskych laboratórií. Ukazuje sa, že súčasné metódy, resp. ich aplikácie v diagnostických súpravách na stanovenie (TSB) nie sú dostatočne harmonizované na použitie pri diagnóze neonatálnej hyperbilirubinémie (Oostendorp a kol., 2024).

Metóda je retrospektívne zhodnotenie výsledkov externého hodnotenia kvality (EHK), ktoré naznačujú určité diskrepancie vo výsledkoch sérového bilirubínu (TSB) u novorodencov, ako aj štúdium aktuálnych publikácií na túto tému. Ukazuje sa, že je nutné podrobne sa zaoberať v súčasnosti používanými IVD jednak z hľadiska úrovne ich štandardizácie, resp. nadväzností na referenčnú metódu, a tiež z hľadiska úrovne analytických výkonnostných ukazovateľov dosahovaných pri meraní sérového bilirubínu v rutinných diagnostických laboratóriách.

Analýza metodických princípov najčastejšie používaných diagnostických súprav a systémov (Abbott, Beckman, Roche, Siemens) ukázala nedostatočne deklarované a zdokumentované vlastnosti metód, ako sú napr. jednoznačná deklarácia nadväznosti výsledkov, nejasné vyjadrenia o vhodnosti využitia súprav pre vzorky od novorodencov a pod. Analýza výsledkov externého hodnotenia kvality SEKK (20129 až 2023) a Labquality (2021 až 2023) ukazuje dlhodobé a systematické rozdiely medzi najpoužívanejšími typmi analyzátorov. Významné rozdiely

vo vzťahu k referenčným hodnotám EHK vykazujú u zmienených poskytovateľoch analyzátorov typu Cobas(Roche) -3 až -7 % Bias a analyzátorov Atellica a ADVIA(Siemens) +6 až +14 % Bias voči hodnotám CRM, alebo konsenzu participantov. Výsledky EHK v systéme *Labquality* v prípade platforiem Cobas(Roche) vykazujú odchýlky Bias -8 až -14% a u platforiem Atellica a ADVIA (Siemens) +6 až +13 % Bias. Analyzátorov Beckmann (AU) dosahujú v SEKK uspokojivé výsledky v rozmedzí $\pm 4,3\%$, kým u *Labquality* sa držia v zápornom intervale -2 až -8%. V systéme EHK SEKK sa v intervale -2 až +9,5% nachádzajú výsledky analyzátorov Abbott, zatiaľ čo výsledky v EHK *Labquality* vykazujú interval -1,4 až +3,8% odchýlky od konsenzu účastníkov.

Tieto intervaly predstavujú štatistické hodnotenie päťročného kontinuálneho sledovania robustných priemerov participantov EHK v systéme SEKK a vybrané výsledky EHK vo fínskej *Labquality* z rokov 2021 až 2023.

Zdalo by sa, že dosahované výsledky v rámci hodnotenia ich kvality v systéme SEKK podľa kritérií $D_{max} = \pm 20\%$ (prijateľný rozdiel v percentách) sú vyhovujúce, ale v celkovom hodnotení sa v kontrolovanom „teréne“ vyskytujú analytické platformy, ktorých výsledky sa dlhodobo líšia o 20% a viac aj v prípade EHK *Labquality*.

Tieto rozdiely sa prejavujú ako kritické, ak dôjde k rutínnej výmene týchto platforiem v rutinnom režime práce medicínskych laboratórií (Oostendorp a kol., 2024), alebo ak dochádza z terapeutických dôvodov k presunu novorodenca na iné pracovisko (Thomas a kol., 2022). V posledných dvoch rokoch sa objavili publikácie popisujúce dramatický nárast výmenných transfúzií ako dôsledok výmeny analyzátorov na pracovisku (Oostendorp a kol., 2024). Podobné problémy popisuje aj Hynková a kol. (2023) v súvislosti s prechodom analýz bilirubínu u novorodencov z platformy Cobas 8000 (Roche) na platformu AtellicaCH (Siemens).

Ukazuje sa, že v súčasnosti používané diagnostiká (TSB) trpia nedostatkom harmonizácie pri stanovení (TSB) vo vzťahu k novorodeneckým séram. Je zjavné, že aj veľké (až $\pm 20\%$) prípustné limity relatívnej chyby (Bias) pri EHK málo motivujú laboratóriá na dôsledné udržiavanie výrobcom deklarovovaných analytických charakteristík výsledkov meraní v rámci internej kontroly kvality. Zdá sa, že je nutné aby príslušné odborné spoločnosti využívajúce svoje odborné štruktúry (krajskí odborníci) vyvinuli adekvátnu iniciatívu v tejto oblasti. Súčasný stav si vyžaduje úzku spoluprácu odborných pracovných skupín laboratórnych a kli-

nických špecialistov pri redefinícii analytického postupu, jeho dôslednú unifikáciu a jednoznačnú metrologickú nadväznosť na referenčnú metódu podľa Doumasa (Klaucke a kol., 2018).

Kľúčové slová: neonatálna hyperbilirubinemia; referenčná metóda; nadväznosť(traceability)

PodĎakovanie: Autor ďakuje p. Liisa Ylitespa koordinátorky EQA *Labquality* za poskytnutie súhrnných Global reports z EHK novorodeneckého bilirubínu.

ABSTRACT

Introduction. Neonatal jaundice due to hyperbilirubinemia is common in infant admitted to NICU. Neonatal jaundice occurs in almost 80–100% of immature and 50–60% of mature newborns (Demová et al., 2017). About 85% of newborns have a concentration of bilirubin (TsB) $>220\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, in 3% newborns reaches (TsB) $>256\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and less 2% of severe hyperbilirubinemia (TsB) $>342\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Demová et al., 2017). Targeted screening is currently used to monitoring of hyperbilirubinemia, using transcutaneous measurement with various types of „bilirubinometers“ (TcB). A lot of publications on these topics in the last few years, mainly by neonatologists, document the keen interest of experts trying to correlate the results of transcutaneous bilirubin (TcB) with the actual value of serum bilirubin (TsB) in newborns. The conclusions of majority of these studies consider (TcB) measurements as a useful screening, results of which must be verified by laboratory determination of serum bilirubin (TsB) before any therapeutic intervention. The neonatologists consider the laboratory measurement of (TsB) as a gold standard. Therefore, is the analytical quality of laboratory measurement crucial information for them.

Goal. The aim of this contribution is to evaluate the current status of bilirubin analysis, which is characterized by a large diversity of different technologies and applications in routine analytical systems of medical laboratories. It seems that current methods, or their applications in diagnostics test kits (for TsB) are not sufficiently harmonized for use in the diagnosis of neonatal hyperbilirubinemia (Oostendorp et al., 2024).

Method. A retrospective review of results of external quality assessment (EQAS) indicates some discrepancies

in serum bilirubin (TsB) results in neonates, as well as a study of current publications on this topic. It is necessary to deal in detail with currently used IVDs, both from the point of view of their standardization level and their traceability to reference method. It would be also beneficial to deal with the level of analytical performance characteristics of bilirubin determinations achieved under the routine conditions in medical laboratories.

Results. The analysis of the methodological principles of the most widely used diagnostics kits and analytical systems shows insufficiently declared properties of the methods, such as the traceability of results, or unclear statements on the suitability of use kits for samples of newborns, etc. The analysis of the results of the external quality assessment of SEKK (2019 to 2023) and Labquality (2021 to 2023) shows long-term and systematic differences between the most used types of analyzers. Cobas analyzers (Roche) show -3 to -7% Bias in SEKK EQ program, in *Labquality* achieved Bias deviation -8 to -14%. The Atellica and ADVIA(Siemens) analyzers provide +6 to+14% Bias deviation in SEKK EQ program, while in Labquality +6 to+13% Bias in relation to the reference values. Beckmann analyzers achieve results in the range of $\pm 4,3\%$ in SEKK EQ program, and -2 to -8% in *Labquality* respectively. The results of Abbott analyzers are in the range -2 to +9,5% in SEKK and -1,4 to + 3,8% in *Labquality* EQ program.

These intervals represent the statistical evaluation of the robust means of participants during the five years continuous monitoring of SEKK EQ program and selected results of Global Reports of Finnish *Labquality* from 2021 to 2023. It would seem that the results achieved as a part of evaluation of their quality in SEKK EQ program are satisfactory according to $D_{\max} = \pm 20\%$ (acceptable difference in%), but in the overall evaluation there are analytical platforms whose long-term results differ by 20% or more also in the *Labquality* Global reports. These differences can be critical if these analyzers are exchanged in the routine work of medical laboratories (Oostendorp et al., 2024), or if the newborn is transferred to another department or hospital for therapeutic reasons (Thomas et al., 2022). In the last two years there are a lot of publications describing a dramatic increase in exchange transfusions as a result of analyzers changing in the laboratory (Oostendorp et al., 2024). Similar problems were also described by Hynková et al. (2023) in connection with the transition of bilirubin analyses from Cobas 8000 (Roche) to Atellica CH (Siemens).

Conclusion. It turns out that currently used (TsB) assay suffer from a lack of harmonization when determining (TsB) in relation to newborn sera. It is obvious that even large (up to $\pm 20\%$) allowable limits of relative error (Bias) at EQAS do not motivate laboratories to consistently maintain the analytical performance characteristics of the measurement results declared by the manufacturer as a part of internal quality control. It seems that is necessary for the relevant professional societies, using their structures (regional experts), to develop adequate initiative in this area. The current situation requires the close collaboration of professional working groups of laboratory and clinical specialist on the redefinition of the analytical procedure, its consistent unification and clear metrological traceability to the reference method according to Doumas et al. (Klauke et al., 2018).

Key words: neonatal hyperbilirubinemia; reference method; traceability

Acknowledgment: The author tanks Mr.Liisa Ylitepsa - EQA Coordinator of *Labquality* for providing summary Global reports of neonatal bilirubin EQA.

REFERENCES

1. Demová, K. a kol. (2017): Novorodenecká žltáčka. *Pediatrica pre prax.* 2017;18(2), s.51-58. www.solen.sk
2. Hynková, P. et al.(2023): Comparison of Total Bilirubin measurements on the Cobas 8000 versus Atellica CH in the central laboratory versus measurements on the analyser in POCT mode. (Abstract) *Klin. Biochem. Metab.*, No 3/ 2023, p.118.
3. Klauke,R, et al.(2018): Reference measurement procedure for total bilirubin in serum re-evaluated and measurement uncertainty determined. *Clinica Chimica Acta* 481 (2018) 115 – 120.
4. Oostendorp, M. et al.(2024): A Significant Increase in the Incidence of Neonatal Hyper-bilirubinemia and Phototherapy Treatment Due to a Routine Change in Laboratory Equipment. *Arch Pathol Lab Med.* 2024;148 e40-e47.
5. Thomas,D.H. et al.(2022): Total bilirubin assay differences may cause inconsistent treatment decisions in neonatal hyperbilirubinaemia. *Clin Chem Lab Med.* 2022; 60: 1736-1744.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 109–110

PLAZMATICKÉ MARKERY HORČÍKOVEJ HOMEOSTÁZY U PACIENTOV S PARKINSONOVOU CHOROBOU PLASMATIC MARKERS OF MAGNESIUM HOMEOSTASIS IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

Michal Cibulka^{1,2}, Mária Brodňanová¹, Milan Grofik³, Ľubica Jesenská⁴, Jela Schudichová⁴, Daniel Čierny⁴, Dušan Dobrota⁴, Martin Kolísek¹

¹Martinské centrum pre biomedicínu Biomed, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

²Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin

³Neurologická klinika, Univerzitná nemocnica Martin

⁴Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

michal.cibulka@uniba.sk

SÚHRN

Parkinsonova choroba patrí medzi vysoko prevalentné neurodegeneratívne ochorenia. Typicky postihuje pacientov vo vyššom veku. Ochorenie má vysoko invalidizujúci potenciál, pričom v posledných štádiách je pacient odkázaný na pomoc okolia. V súčasnosti je vo vedeckej komunite diskutovaných viacero potenciálnych patomechanizmov, ktoré by mohli viesť ku vzniku, rozvoju a progresii ochorenia. V poslednom období pribúdajú dôkazy o zapojení deficitu horčíka do procesov neurodegenerácie, a to tak v bunkových a zvieracích modeloch, ako aj u pacientov. Hodnotenie stavu horčíkovej homeostázy je dnes z dôvodu absencie spoľahlivého markera prakticky nemožné. V klinike najpoužívanejší marker je koncentrácia celkového horčíka, ktorá však reflektuje stav len v intravaskulárnom priestore, kde sa nachádza asi 1% celkového horčíka. Výsledky štúdií u pacientov s Parkinsonovou chorobou sú nekonzistentné z hľadiska koncentrácie celkového horčíka. Cieľom našej štúdie je preto analyzovať koncentráciu celkového horčíka v sére u pacientov a relatívne zdravých kontrol a okrem koncentrácie celkového horčíka hodnotiť aj pomer celkový vápnik/celkový horčík v sére a iónový kvocient.

Kohorta pacientov pozostávala z 61 jedincov (44 mužov a 17 žien, priemerný vek 65 rokov), ktorí sú sledovaní

v Ambulancii extrapyramídových ochorení UNM v Martine. Ako zdravé kontroly slúžili rodinní príslušníci a dobrovoľníci – 67 jedincov (42 mužov a 25 žien, priemerný vek 63 rokov). Všetci probandi boli vyšetrení neurológom – špecialistom. Žilová krv bola odobraná do skúmavok s obsahom heparinátu lítneho. Plazma bola oddelená bezprostredne o odbere a uložená na -45 °C do analýzy. Koncentrácia horčíka a vápnika bola stanovená fotometricky a koncentrácia sodíka a draslíka ISE metódou. Štatistická analýza bola vykonaná v programe GraphPad Prism 8.

Štatistickou analýzou sme nezistili signifikantné rozdiely medzi pacientmi a zdravými jedincami v žiadnom zo sledovaných parametrov.

Deficit horčíka je považovaný za významný rizikový faktor rozvoja viacerých civilizačných ochorení, vrátane Parkinsonovej choroby. Nie je však dodnes jasné, aký je stav celotelovej horčíkovej homeostázy u pacientov. Najdostupnejšia metóda – stanovenie celkového horčíka v sére – reflektuje stav celotelovej horčíkovej bilancie len v malej miere. V našej štúdií sme analyzovali koncentráciu celkového horčíka, ako aj hodnoty odvodených parametrov u pacientov a zdravých kontrol. Koncentrácia celkového horčíka ani odvodené parametre nevykazovali významné rozdiely medzi skupinou pacientov a kontrol. Pri hodnotení horčíkového statusu u pacientov s Parkinsono-

vou chorobou sú v našej skupine pacientov nepoužiteľné. Koncentrácia ionizovaného (voľného) Mg^{2+} je považovaná za spoľahlivejší indikátor horčikového statusu než celkový horčík. Problémom sú metodické prekážky v meraní koncentrácie ionizovaného horčíka a absencia konsenzu na referenčných intervaloch. Meranie horčíka v bunke je ešte komplikovanejšie – existujú významné rozdiely v koncentrácii voľného horčíka v rozličných bunkových typoch a metodiky merania nie sú vhodné pre rutinnú prevádzku, spojenú s vyšetrovaním väčšieho počtu vzoriek.

Kľúčové slová: Parkinsonova choroba; neurodegenerácia; horčík

ABSTRACT

Parkinson's disease is one of the highly prevalent neurodegenerative diseases. It typically affects patients in older age. The disease has a highly disabling potential, and in the last stages the patient is dependent on the help of others. Several potential pathomechanisms that could lead to the onset, development and progression of the disease are currently being discussed in the scientific community. Recently, there has been increasing evidence for the involvement of magnesium deficiency in the processes of neurodegeneration, both in cellular and animal models and in patients. Assessment of magnesium homeostasis is now virtually impossible due to the lack of a reliable marker. In the clinic, the most widely used marker is the concentration of total magnesium, which, however, reflects the state only in the intravascular space, where about 1% of total magnesium is found. The results of studies in patients with Parkinson's disease are inconsistent in terms of total magnesium concentration. Therefore, the aim of our study is to analyze the serum total magnesium concentration in patients and relatively healthy controls and to evaluate the serum total calcium/total magnesium ratio and the ion quotient in addition to the total magnesium concentration.

The cohort of patients consisted of 61 individuals (44 males 17 females, mean age 65) followed in the Outpatient Department of Extrapyrimal Diseases, UNM, Mar-

tin. Family members and volunteers served as healthy controls – 67 individuals (42 males a 25 females, mean age 6). All probands were examined by a neurologist. Venous blood was drawn into tubes containing lithium heparinate. Plasma was separated immediately on collection and stored at $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. Magnesium and calcium concentrations were determined photometrically and sodium and potassium concentrations were determined by ISE method.. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 8 software.

Statistical analysis revealed no significant differences between patients and healthy subjects in any of the parameters studied.

Magnesium deficiency is considered to be an important risk factor for the development of several diseases of civilization, including Parkinson's disease. However, the status of whole-body magnesium homeostasis in patients is still unclear. The most accessible method - determination of total serum magnesium - reflects the state of whole-body magnesium balance only to a small extent. In our study, we analyzed the concentration of total magnesium as well as the values of derived parameters in patients and healthy controls. Neither the total magnesium concentration nor the derived parameters showed significant differences between the group of patients and controls. They are not applicable in the evaluation of magnesium status in Parkinson's disease patients in our patient group. The concentration of ionized (free) Mg^{2+} is considered a more reliable indicator of magnesium status than total magnesium. Methodological obstacles in measuring ionized magnesium concentration and lack of consensus on reference intervals are a problem. The measurement of magnesium in the cell is even more complicated - there are significant differences in the concentration of free magnesium in different cell types and the measurement methodologies are not suitable for routine operation, associated with the examination of large numbers of samples.

Key words: Parkinson's disease; neurodegeneration; magnesium



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 111–112

DÔLEŽITOSŤ GENOTYPIZÁCIE TIOPURÍN-S-METYLTRANSFERÁZY (TPMT) PRED PODANÍM IMUNOSUPRESÍVNEJ LIEČBY

IMPORTANCE OF THIOPURINE-S-METHYLTRANSFERASE (TPMT) GENOTYPING BEFORE ADMINISTRATION OF IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY

Katarína Paľuvová¹, Mária Škereňová¹, Monika Turčanová Koprušáková², Bibiana Malicherová¹,
Michal Cibulka^{3,4}, Lenka Plicová¹, Daniel Čierny¹, Jela Schudichová¹, Dušan Dobrota¹

¹Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského Bratislava
a Univerzitná nemocnica Martin

²Neurologická klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského Bratislava a Univerzitná
nemocnica Martin

³Martinské centrum pre biomedicínu Biomed, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského
Bratislava

⁴Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin

dusan.dobrota@uniba.sk

SÚHRN

Enzým tiopurín S-metyltransferáza, jeden z najlepšie preštudovaných enzýmov v metabolizácii imunosupresívnych liečiv, sa čoraz viac aplikuje do klinickej praxe. TPMT metabolizuje tiopuríny 6-merkaptopurín, 6-tioguanín a azatioprín, ktoré sa používajú v liečbe akútnych leukémií, črevných zápalových ochorení, ale aj zriedkavých autoimunitných neuromuskulárnych ochorení. Výrazný vplyv na zníženie enzymovej aktivity TPMT majú variantné alely pre TPMT. U ľudí s variantnými alelami génu TPMT dochádza po podaní tiopurínov k zmene úrovne odbúravania. Zníženie metabolickej aktivity enzýmu a zvýšenie plazmatickej koncentrácie liečiva je sprevádzané viacstupňovými prejavmi cytotoxicity (DiPiero a kol., 2015; Thompson a kol., 2014).

Do roku 2022 bolo popísaných približne 52 variantných alel (TPMT*2 - TPMT*46) pre TPMT, ktoré sú asociované so zníženou aktivitou TPMT v porovnaní s divým typom (wt, wild type, TPMT*1). Najčastejšie sa vyskytujúce variantné alely TPMT - TPMT*2 (c.238G>C; p.Ala80Pro), TPMT*3A (c.[460G>A;719A>G]; p.[Ala154Thr;Tyr240Cys]), TPMT*3B (c.460G>A; p.Ala154Thr), TPMT*3C (c.719A>G; p.Tyr240Cys) sú zároveň najviac detekovateľnými v kaukazoidnej populácii (Zarca a kol., 2019).

Základným cieľom využívania farmakogenetického testovania je genotypizácia, ktorou možno predikovať enzymovú aktivitu, ale nie je ňou možné stanoviť samotnú hladinu TPMT enzýmu. Stanovenie genotypu TPMT možno považovať za jeden z faktorov, ktorý napomáha určiť dávkovanie imunosupresív, tým by sa zabránilo vedľajším nežiadúcim účinkom.

Kľúčové slová: génový polymorfizmus; tiopurín S-metyl transferáza; imunosupresíva; alela; enzymová aktivita

ABSTRACT

The enzyme thiopurine S-methyltransferase, one of the best-studied enzymes in the metabolism of immunosuppressive drugs, is increasingly being applied to clinical practice. TPMT metabolizes the thiopurines 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, and azathioprine, which are used in the treatment of acute leukemias, intestinal inflammatory diseases, as well as rare autoimmune neuromuscular diseases. Variant alleles for TPMT have a significant effect on reducing TPMT enzyme activity. In people with variant alleles of the TPMT gene, there is a change in the level of degradation after thiopurine administration. The decrease in metabolic activity of the enzyme and the in-

crease in plasma drug concentration are accompanied by multistep manifestations of cytotoxicity (DiPiero et al., 2015; Thompson et al., 2014).

By 2022, approximately 52 variant alleles (TPMT*2 - TPMT*46) have been described for TPMT that are associated with reduced TPMT activity compared to wild type (wt, wild type, TPMT*1). The most frequently occurring variant alleles of TPMT - TPMT*2 (c.238G>C; p.Ala80Pro), TPMT*3A (c.[460G>A;719A>G]; p.[Ala154Thr;Tyr-240Cys]), TPMT*3B (c.460 G>A; p.Ala154Thr), TPMT*3C (c.719A>G; p.Tyr240Cys) are also the most detectable in the caucasoid population (Zarca et al., 2019).

The primary goal of using pharmacogenetic testing is genotyping, which can predict enzyme activity but cannot determine TPMT enzyme levels themselves. At the same time, genotyping should be the option number one before setting the patient on immunosuppressive therapy to avoid side effects.

Keywords: gene polymorphism; thiopurine S-methyltransferase; immunosuppressants; allele; enzyme activity

REFERENCES

1. DiPiero, J., Teng, K., Hicks, J.K. (2015): Should thiopurine methyltransferase (TPMT) activity be determined before prescribing azathioprine, mercaptopurine, or thioguanine? *Cleveland Clinic J. of Med.*, 82 (7), p. 400-413. doi:10.3949/ccjm.82a.14106.
2. Thompson, A.J., Newman, W.G., Elliott, R.A. et al. (2014): The Cost-Effectiveness of a Pharmacogenetic Test: A Trial-Based Evaluation of TPMT Genotyping for Azathioprine. *Value in Health*, 17, p. 22-33. doi: 10.1016/j.jval.2013.10.007.
3. Zarca, K., Durand-Zaleski, I., Lorient, M.A. et al. (2019): Modeling the Outcome of Systematic TPMT Genotyping or Phenotyping Before Azathioprine Prescription: A Cost-Effectiveness Analysis. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 23, p. 429–438. doi: 10.1007/s40291-019-00398-x.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 113–113

GENETICKÁ HEMOCHROMATÓZA, JEDNA PRÍČINA, VIAC OCHORENÍ GENETIC HEMOCHROMATOSIS, ONE CAUSE, MULTIPLE DISEASES

**Bibiana Malicherová¹, Katarína Paľuvová¹, Lenka Plicová¹, Michal Cibulka^{2,3}, Daniel Čierny¹,
Jela Schudichová¹, Dušan Dobrota¹**

¹Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského Bratislava a Univerzitná nemocnica Martin, Martin

² Martinské centrum pre biomedicínu Biomed, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského Bratislava, Martin

³ Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin, Martin

bibiana.malicherova@gmail.com

SÚHRN

Hereditárna hemochromatóza (HH) je autozómovo recesívne dedičné ochorenie, charakterizované hromadením železa (Fe) v organizme, ktoré vedie k ukladaniu nadbytočného Fe v orgánoch a tkanivách, s ich následným poškodením. Pri diagnostike HH sa využíva najmä nález zvýšenej hladiny Fe v sére, zvýšenej saturácie transferínu, zvýšenej hladiny feritínu v sére a dôkaz akumulácie železa v pečeni. Železo je základnou zložkou erytropoézy a jeho metabolizmus je prísne regulovaný rôznymi vnútornými a vonkajšími podnetmi vrátane ukladania železa, hypoxie tkaniva, zápalu a stupňa erytropoézy. Genetické vyšetrenie je v súčasnosti zlatým štandardom pri diagnostike HH. Okrem klasického klinického obrazu HH pribúdajú v súčasnosti aj asymptomatickí pacienti, bez prítomnosti klinických prejavov. Prvé príznaky ochorenia sa však môžu objaviť aj extrahepaticálne, na základe postihnutia iných orgánov a systémov (pankreas, srdce, kĺby, pokožka, endokrinný systém).

Kľúčové slová: hemochromatóza; železo; dedičnosť; klinika; diagnostika

ABSTRACT

Hereditary hemochromatosis (HH) is an autosomal recessive inherited disease, characterized by the accumulation of iron (Fe) in the body, which leads to the deposition of excess Fe in organs and tissues, with their subsequent damage. In the diagnosis of HH, the finding of an increased level of Fe in the serum, an increased saturation of transferrin, an increased level of ferritin in the serum and evidence of iron accumulation in the liver are used in particular. Iron is a basic component of erythropoiesis and its metabolism is strictly regulated by various internal and external stimuli, including iron deposition, tissue hypoxia, inflammation and degree of erythropoiesis. Genetic testing is currently the gold standard in the diagnosis of HH. In addition to the classic clinical picture of HH, asymptomatic patients without clinical manifestations are also increasing. However, the first symptoms of the disease can also appear extrahepatically, based on the involvement of other organs and systems (pancreas, heart, joints, skin, endocrine system).

Key words: hemochromatosis; iron; heredity; clinic; diagnostics



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 114–115

TERAPEUTICKÉ MONITOROVANIE IMUNOSUPRESÍV, VALIDÁCIA ANALYTICKÝCH VÝKONOVÝCH KRITÉRIÍ THERAPEUTIC MONITORING OF IMMUNOSUPPRESSANT, VALIDATION OF ANALYTICAL CRITERIA

Ľubica Jesenská¹, Miroslava Šimeková¹, Nataša Karaffová¹, Daniel Čierny¹, Dušan Dobrota¹

¹Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

lubica.jesenska1@unm.sk

SÚHRN

Imunosupresíva tvoria významnú skupinu liečiv vďaka svojej schopnosti potlačiť imunitnú odpoveď organizmu, ktorá sa využíva hlavne v transplantáčnej medicíne. Správne nastavenie dávkovania je kľúčové, pretože poddávkovanie môže viesť k rejekcii transplantovaného orgánu a s príliš vysokými hladinami narastá riziko oportunných infekcií, malígnit a poškodení organizmu toxickými účinkami lieku. Úzke terapeutické rozmedzie väčšiny imunosupresív, vysoká farmakokinetická variabilita a vplyv genetických faktorov vedie k nutnosti spoľahlivého monitorovania ich hladín. To zahŕňa ako včasné potransplantačné obdobie k nastaveniu stabilného terapeutického dávkovania, tak udržiavacie obdobie, kedy môže byť z rôznych dôvodov potrebné upraviť dávkovanie alebo kedy kontrola hladiny imunosupresíva slúži k overeniu compliance pacienta. V našej práci sme sa zamerali na validáciu výkonových charakteristík – reprodukovateľnosť v sérii a čase - imunochemických metód stanovenia cyklosporínu, tacrolímu a sirolímu na analyzátoře Architect i1000 (Abbott, USA). Tiež sme porovnali hodnoty koncentrácií získané pri terapeutickom monitorovaní liečiv u pacientov po transplantácii obličky s doporučenými hodnotami. Výsledky ukázali, že výkonové kritéria sledovaných imunosupresív sú v súlade s deklarovanými hodnotami. Variačný koeficient deklarovaný

firmou pri sledovaní reprodukovateľnosti: cyklosporín $\leq 15\%$, takrolímus $\leq 10\%$, sirolímus $\leq 10\%$. Naše namerané hodnoty cyklosporín 6,6-12,8 %, takrolímus 3,5-7,0%, sirolímus 2,3-6,8 %. U pacientov sa darí udržiavať koncentráciu imunosupresív v cieľovom terapeutickom rozmedzí: cyklosporín sa v terapeutickom rozmedzí (50 – 400 ng/ml) nachádzalo 91,4% nameraných výsledkov, sirolímus (4 – 15 ng/ml) 98,1%, takrolímus (5 – 20 ng/ml) 99,2%.

Kľúčové slová: imunosupresíva, cyklosporín, tacrolímus, sirolímus, terapeutické monitorovanie liečiv

ABSTRACT

Immunosuppressants are an important group of drugs due to their ability to suppress the body's immune response, which is used particularly in transplantation medicine. Proper dosage adjustment is crucial, as underdosing can lead to rejection of the transplanted organ, and overdosing increases the risk of opportunistic infections, malignancies and damage to the body from the toxic effects of the drug. The narrow therapeutic range of most immunosuppressants, the high pharmacokinetic variability and the influence of genetic factors lead to the need for careful monitoring of their levels. This includes both the early post-transplant stage to es-

establish a stable therapeutic dosage and the maintenance stage when dosage adjustments may be necessary for various reasons or when monitoring of immunosuppressant levels is used to verify patient compliance. In our study, we focused on the validation of the performance characteristics - reproducibility in series and time - of immunochemical methods for the determination of cyclosporine, tacrolimus and sirolimus on the Architect i1000 (Abbott, USA). We also compared drug concentrations obtained during therapeutic drug monitoring in renal transplant patients with recommended values. The results showed that the performance criteria of the monitored immunosuppressants were in accordance with the

declared values. The coefficient of variation declared for reproducibility monitoring: cyclosporine $\leq 15\%$, tacrolimus $\leq 10\%$, sirolimus $\leq 10\%$. Our measured values CV for cyclosporine 6.6-12.8%, tacrolimus 3.5-7.0%, sirolimus 2.3-6.8%. The concentrations of the immunosuppressants in the patients were maintained within the therapeutic range: cyclosporine, 91.4% of the measured results were in the therapeutic range (50-400 ng/ml) sirolimus (4-15 ng/ml) 98.1% and tacrolimus (5-20 ng/ml) 99.2%.

Keywords: immunosuppressants, cyclosporine, tacrolimus, sirolimus, therapeutic drug monitoring



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 116–117

STANOVENIE KONCENTRÁCIE CITRÁTOV A OXALÁTOV V MOČI PRI METAFYLAXII UROLITIÁZY DETERMINATION OF CITRATE AND OXALATE CONCENTRATIONS IN URINE IN METAPHYLAXIS OF UROLITHIASIS

Lenka Plicová, Ľubica Jesenská, Dušan Dobrota, Jela Schudichová, Romana Rástočná,

Filip Rechterík

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

lenka.plicova@unm.sk

SÚHRN

Urolitiáza je ochorenie charakterizované prítomnosťou konkrémentov v močových cestách. Postihuje približne 10 % západnej populácie, pričom u polovice osôb dochádza k vzniku urolitiázy opakovane. Bolesťovosť akútnej renálnej koliky a závažnosť komplikácií robia z urolitiázy významný zdravotný problém. Na etiológii ochorenia sa podieľajú štyri hlavné faktory - hypersaturácia moču, močové pH, stagnácia moču a močová infekcia. U pacientov s recidívou ochorenia by malo byť vykonané nielen urologické vyšetrenie a analýza konkrémentu, ale aj metabolické vyšetrenie. Okrem bežne vyšetrovaných litogénnych látok v sére a moči je vhodné stanoviť aj koncentráciu oxalátov, ktoré sú základnou zložkou najčastejšie sa vyskytujúcich konkrémentov a koncentráciu citrátov ako hlavných inhibítorov kryštalizácie. Z tohto dôvodu sme pre pacientov s prekonanou urolitiázou sledovaných v nefrologickej ambulancii zaviedli tieto vyšetrenia aj na našom pracovisku. S ohľadom na technické vybavenie sme zvolili enzymatickú analýzu so spektrofotometrickou detekciou. Metóda na stanovenie citrátov využíva rozklad citrátov prostredníctvom citrátlyázy s následnou redukciou produktov, ktorých výsledkom je pokles koncentrácie NADH + H⁺. Oxaláty sú zo vzoriek izolované precipitáciou so síranom vápenatým. Po rozpustení precipitátu sú oxidované oxalátoxidá-

zou a vzniknutý peroxid vodíka potom oxiduje bezfarebný chromogén na farebný produkt detekovateľný pri 590 nm. Dôležitou preanalytickou podmienkou je správna konzervácia zozbieraného moču. Sledovanie koncentrácií citrátov a oxalátov v moči pomáha posúdiť riziko kalcium-oxalátovej urolitiázy, monitorovať účinnosť liečby a predchádzať recidíve ochorenia.

Kľúčové slová: citráty; oxaláty; urolitiáza

ABSTRACT

Urolithiasis is a disease characterized by the presence of concretions in the urinary tract. It affects approximately 10% of the Western population, with half of the affected individuals experiencing urolithiasis repeatedly. The painfulness of acute renal colic and the severity of complications make urolithiasis a significant health problem. Four main factors are involved in the etiology of the disease - urine hypersaturation, urinary pH, urine stagnation and urinary infection. In patients with recurrence of the disease, not only urological examination and analysis of the concretion should be performed, but also a metabolic evaluation. In addition to the routinely investigated lithogenic substances in serum and urine, it is also advisable to determine the concentration of oxalates, which are the main constituents of the

most frequently occurring concrements, and the concentration of citrates as the major inhibitors of crystallization. For this reason, we have introduced these tests in our department for patients with urolithiasis followed up in the nephrology outpatient clinic. With regard to technical equipment, we chose enzymatic analysis with spectrophotometric detection. The method for the determination of citrate involves the lysis of citrate by citrate lyase followed by the reduction of the products, which results in a decrease in $\text{NADH} + \text{H}^+$ concentration. Oxalates are isolated from samples by precipitation with

calcium sulfate. After dissolution of the precipitate, they are oxidised by oxalate oxidase, and the resulting hydrogen peroxide then oxidises the colourless chromogen to a coloured product detectable at 590 nm. An important preanalytical condition is the proper preservation of the collected urine. Monitoring citrate and oxalate concentrations in urine helps assess the risk of calcium-oxalate urolithiasis, monitor the efficacy of treatment, and prevent recurrence of the disease.

Key words: citrate; oxalate; urolithiasis



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 118–119

NAŠE SKÚSENOSTI S IZOELEKTRICKOU FOKUSÁCIOU OLIGOKLONÁLNYCH IMUNOGLOBULÍNŮ V LIKVORE OUR EXPERIENCE WITH ISOELECTRIC FOCUSING OF OLIGOCLONAL IMMUNOGLOBULINS IN CEREBROSPINAL FLUID

Mária Škereňová^{1,2}, Jozef Michalik³, Lenka Plícová¹, Miroslava Šimeková¹, Daniel Čierny¹, Dušan Dobrota¹

¹Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského Bratislava a Univerzitná nemocnica Martin, Martin

²Martinské centrum pre biomedicínu Biomed, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského Bratislava, Martin

³Neurologická klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského Bratislava a Univerzitná nemocnica Martin, Martin

molbiol@unm.sk

SÚHRN

Vyšetrovanie oligoklonálnych pásov (OCB) v mozgovom moku (CSF) sa na Ústave klinickej biochémie UNM vykonáva od roku 2014. Tu sumarizujeme naše skúsenosti s najcitlivejšou metódou stanovenia prítomnosti oligoklonálnych pásov imunoglobulínu G (IgG) v likvore, izoelektrickou fokusáciou (IEF) s imunofixáciou na systéme HYDRASIS 2 (Sebia). Výsledky od takmer 1300 pacientov analyzujeme v rôznych demografických a klinických kontextoch.

Takmer polovica vzoriek pochádza z pracovísk UNM, mimo UNM sú najčastejšími žiadateľmi vyšetrenia DNSP Dolný Kubín, FNSP Žilina, ÚVN Ružomberok a KNSP Čadca. Výsledky IEF OCB v CSF sú zasielané jednak ako výstup z LISu, a zároveň formou Reportu s výrezom IEF záznamu (sérum/likvor), Reiberovým diagramom a, podľa diagnostických kritérií, všetkými laboratórnymi výsledkami potrebnými k žiadosti o schválenie biologickej liečby.

Medzi lekáorskými odbornosťami žiadajúcimi vyšetrenie prevláda neurológia (91 %). Ženy podstupujú testovanie OCB častejšie ako muži, typicky v mladšom veku, prípady pediatrických pacientov tvoria menšinu (7,5 %), čo koreluje s nižšou incidenciou chronických zápalových ochorení centrálnej nervovej sústavy v tejto vekovej sku-

pine. Skoro tri štvrtiny vzoriek boli bez intratekálnej syntézy. Typ 2 OCB (15,5 %) prevládala u mladších dospelých (25-45 rokov), s vyššou prevalenciou u žien. Naopak, typ 3 OCB (11,0 %) bol posunutý k mierne vyššiemu priemernému veku, rovnako s prevahou u žien. Negatívny nález (typ 1) bez prítomnosti oligoklonálnych pásov má približne jedna tretina pacientov.

V súčasnosti je vyšetrenie prítomnosti oligoklonálnych IgG pásov v likvore dôležitým diagnostickým nástrojom pri mnohých zápalových ochoreniach centrálneho nervového systému. Toto vyšetrenie je súčasťou diagnostických kritérií roztrúsenej sklerózy a autoimunitnej encefalitídy. U mnohých pacientov s typickým klinickým a MR obrazom vedie k skoršiemu potvrdeniu diagnózy a výberu personalizovanej terapie. Zistenie prítomnosti intratekálnej syntézy oligoklonálnych IgG umožňuje odhaliť imunitnú zložku aj pri ochoreniach, kde presný antigénny cieľ protilátok nie je známy. Preukázanie intratekálnej syntézy tak napomáha lepšiemu pochopeniu patofyziologických procesov sprevádzajúcich rôzne neurologické a iné ochorenia.

Kľúčové slová: oligoklonálne pásy; izoelektrická fokusácia; skleróza multiplex

ABSTRACT

The examination of oligoclonal bands (OCBs) in cerebrospinal fluid (CSF) has been performed at the UNM Department of Clinical Biochemistry since 2014. Here we summarize our experience with the most sensitive method for determining the presence of oligoclonal bands of immunoglobulin G (IgG) in CSF, isoelectric focusing (IEF) with immunofixation on the HYDRASIS 2 system (Sebia). We analyze results from nearly 1300 patients in a variety of demographic and clinical contexts.

Almost half of the samples come from UNM Departments; outside UNM, the most frequent applicants are DNsP Dolný Kubín, FNsP Žilina, ÚVN Ružomberok and KNsP Čadca. The results of IEF OCB in CSF are sent both as an output from LIS and in the form of a Report with a cut-out of the IEF record (serum/liquor), Reiber diagram and, according to the diagnostic criteria, all laboratory results necessary for the application for approval of biological treatment.

Among the medical specialties requesting testing, neurology predominates (91%); women undergo OCB testing more frequently than men, typically at a younger age; pediatric cases are a minority (7.5%), which correlates with a lower incidence of chronic inflammatory diseases of the central nervous system in this age group. Nearly

three-quarters of the samples were free of intrathecal synthesis. Type 2 OCB (15.5%) was prevalent in younger adults (25-45 years), with a higher prevalence in women. Conversely, type 3 OCB (11.0%) was skewed towards a slightly higher mean age, with the same prevalence in females. Approximately one-third of patients have a negative finding (type 1) without the presence of oligoclonal bands.

Currently, examination for the presence of oligoclonal IgG bands in the CSF is an important diagnostic tool in many inflammatory diseases of the central nervous system. This examination is part of the diagnostic criteria for multiple sclerosis and autoimmune encephalitis. In many patients with a typical clinical and MR picture, it leads to earlier confirmation of the diagnosis and selection of personalized therapy. Detection of the presence of intrathecal synthesis of oligoclonal IgGs allows detection of the immune component even in diseases where the exact antigenic target of the antibodies is unknown. Thus, demonstration of intrathecal synthesis helps to better understand the pathophysiological processes accompanying various neurological and other diseases.

Key words: oligoclonal bands; isoelectric focusing; sclerosis multiplex



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 120–121

ZMENA ZLOŽENIA MASTNÝCH KYSELÍN V SÉRE PACIENTOV S NEALKOHOLOVOU TUKOVOU CHOROBOU PEČENE – DIABETIKOV A NEDIABETIKOV CHANGES IN THE SPECTRUM OF SERUM FATTY ACIDS OF PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE – DIABETICS AND NON-DIABETICS

Lenka Hrobárová¹, Viera Kupčová², Marcel Repiský¹, Monika Ďurfinová¹, Martin Prievalský¹,
Milada Laššánová¹, Eva Uhlíková¹, Ladislav Turecký¹

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF UK, Bratislava

²III. interná klinika LF UK a UNB, Bratislava

ladislav.turecky@fmed.uniba.sk

SÚHRN

Nealkoholová tuková choroba pečene (NAFLD) je najbežnejším chronickým ochorením pečene. NAFLD môže progredovať od jednoduchej steatózy, cez zápalovo-nekrotické zmeny pri steatohepatitíde (NASH) až po fibrózu a cirhózu pečene. Predpokladá sa, že až 30% obéznej populácie v industriálnych krajinách je postihnutých NAFLD a z nich 10-20% progreduje do NASH, pričom 5-20% pacientov s NASH progreduje do cirhózy pečene. Jedným z dôležitých faktorov pri vzniku NAFLD je aj diabetes mellitus. Práce na modeloch experimentálneho diabetu ukazujú, že pri diabete dochádza ku zmenám v aktivite elongáz a desaturáz, ktoré sú schopné predĺžovať uhlíkový reťazec mastných kyselín, resp. vytvoriť v uhlíkovom reťazci nenasýtené väzby.

Cieľom našej práce bolo vyšetriť zmeny v zložení mastných kyselín v sére pacientov s NAFLD – diabetikov a nediabetikov a zistiť či je rozdiel medzi týmito dvoma skupinami pacientov.

Vyšetrovaný súbor tvorilo 44 pacientov s NAFLD a 25 zdravých kontrol. Diagnóza steatózy bola stanovená na základe klinických príznakov, fyzikálneho vyšetrenia, biochemických vyšetrení a sonografického vyšetrenia pečene. 22 pacientov s NAFLD malo diabetes mellitus (priemerný vek 60 rokov, BMI=31,45 kg/m², fatty liver index=78,01) a 22 bolo nediabetikov (priemerný vek 54,5 rokov, BMI=29,38

kg/m² a fatty liver index=78,19). Spektrum mastných kyselín sme vyšetrili metódou plynovej chromatografie.

Ako ukázali výsledky našej štúdie, dochádza v spektre mastných kyselín pacientov s NAFLD – diabetikov aj nediabetikov ku výrazným zmenám. K najvýraznejším zmenám patrí pokles podielu polynenasýtených mastných kyselín (PUFA) a zvýšenie podielu mononenasýtených mastných kyselín (MUFA). Podiel PUFA na celkovom množstve mastných kyselín v sére klesol v priemere o 30% a zvýšenie podielu MUFA predstavuje tiež vzostup okolo 30%. Čo sa týka zastúpenia omega-3 a omega-6 PUFA, ku poklesu dochádzalo v oboch skupinách, avšak pokles bol výraznejší v skupine omega-3 PUFA (zhruba o 40%) ako v skupine omega-6 PUFA (zhruba o 30%). Pomer omega-6/omega-3 PUFA sa zvýšil u diabetikov asi o 10%, u nediabetikov o 20%. Porovnanie v zastúpení C16 a C18 mastných kyselín ukázalo posun v prospech C16 kyselín, ako v prípade C16:0, tak aj C16:1, pričom nárast podielu kyseliny palmitoolejovej bol vyšší ako kyseliny palmitovej (C16:0 +15%, C16:1 +80%). Pomer medzi C16:1/C16:0 a C18:1/C18:0 ukázal zvýšenie podielu mononenasýtených kyselín (nárast C16:1/C16:0 zhruba o 30%, nárast C18:1/C18:0 zhruba o 20%). Zmeny v spektre mastných kyselín pacientov diabetikov a nediabetikov boli obdobné a rozdiely medzi oboma skupinami neboli štatisticky významné.

U pacientov so steatózou pečene sme zistili pokles frakcie PUFA a vzostup frakcie MUFA v porovnaní so zdravými kontrolami. V skupine PUFA došlo k posunu v prospech prozápalových omega-6 PUFA. Zmena pomeru medzi C16 a C18 mastných kyselín poukazuje na zníženie aktivity elongácie u pacientov so steatózou pečene. Porovnanie zmien spektra mastných kyselín u diabetikov a nediabetikov s NAFLD neukázalo výraznejší vplyv diabetu na rozvoj zmien spektra mastných kyselín u pacientov so steatózou pečene.

Kľúčové slová: nealkoholová tuková choroba pečene; mastné kyseliny; omega-3 mastné kyseliny; omega-6 mastné kyseliny; diabetes mellitus

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common chronic liver disease. NAFLD can progress from simple steatosis, through inflammatory-necrotic changes in steatohepatitis (NASH) to fibrosis and cirrhosis of the liver. It is estimated that up to 30% of the obese population in industrialized countries are affected by NAFLD and of these, 10-20% progress to NASH, with 5-20% of patients with NASH progressing to liver cirrhosis. One of the important factors in the development of NAFLD is diabetes mellitus. Publications on models of experimental diabetes shows that in diabetes there are changes in the activity of elongases and desaturases, which are able to lengthen the carbon chain of fatty acids (FA) or create unsaturated bonds in the carbon chain.

The aim of our work was to investigate changes in the composition of fatty acids in the serum of patients with NAFLD - diabetics and non-diabetics and to find out if there is a difference between these two groups of patients.

The investigated group consisted of 44 patients with NAFLD and 25 healthy controls. The diagnosis of steatosis was established on the basis of clinical symptoms, physical examination, biochemical examinations and sonographic examination of the liver. 22 patients with NAFLD had diabetes mellitus (mean age 60 years, BMI=31.45 kg/m², fatty liver index=78.01) and 22 were non-diabetic (mean age 54.5 years, BMI=29.38 kg/m² and fatty liver index=78.19).

We investigated the spectrum of fatty acids using the gas chromatography method.

As the results of our study showed, there are significant changes in the FA spectrum of patients with NAFLD - both diabetics and non-diabetics. The most significant changes include a decrease in the proportion of polyunsaturated fatty acids (PUFA) and an increase in the proportion of monounsaturated fatty acids (MUFA). The proportion of PUFA in the total amount of fatty acids in the serum decreased by an average of 30%, and the increase in the proportion of MUFA also represents an increase of around 30%. Regarding the representation of omega-3 and omega-6 PUFA, the decrease occurred in both groups, but the decrease was more pronounced in the omega-3 PUFA group (by about 40%) than in the omega-6 PUFA group (by about 30%). The omega-6/omega-3 PUFA ratio increased in diabetics by about 10%, in non-diabetics by 20%. A comparison of the representation of C16 and C18 free fatty acids showed a shift in favor of C16 acids, both in the case of C16:0 and C16:1, while the increase in the proportion of palmitoleic acid was higher than that of palmitic acid (C16:0 +15%, C16:1 +80 %). The ratio between C16:1/C16:0 and C18:1/C18:0 showed an increase in the proportion of monounsaturated acids (increase in C16:1/C16:0 by about 30%, increase in C18:1/C18:0 by about 20%). Changes in the fatty acid spectrum of diabetic and non-diabetic patients were similar and the differences between the two groups were not statistically significant.

In patients with liver steatosis, we found a decrease in the PUFA fraction and an increase in the MUFA fraction compared to healthy controls. In the PUFA group, there was a shift in favor of pro-inflammatory omega-6 PUFAs. A change in the ratio between C16 and C18 FFA indicates a decrease in elongation activity in patients with hepatic steatosis. Comparison of fatty acid spectrum changes in diabetics and non-diabetics with NAFLD did not show a significant influence of diabetes on the development of fatty acid spectrum changes in patients with liver steatosis.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease; fatty acids; omega-3 fatty acids; omega-6 fatty acids; diabetes mellitus



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 122–123

AKTIVITA BUTYRYLCHOLÍNESTERÁZY V SÉRE PACIENTOV S COVID-19 ACTIVITY OF BUTYRYLCHOLINESTERASE IN SERA OF PATIENTS WITH COVID-19

Lenka Nemcová¹, Monika Ďurfinová¹, Štefan Laššán², Eva Uhlíková¹, Viera Kupčová³,
Ladislav Turecký¹

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF UK, Bratislava

²Klinika pneumológie, ftizeológie a funkčnej diagnostiky SZU a UNB, Bratislava

³3.interná klinika LF UK a UNB, Bratislava

ladislav.turecky@fmed.uniba.sk

SÚHRN

COVID-19 je infekčné ochorenie vyvolané koronavírusom SARS-CoV-2, spôsobujúce ťažký akútny respiračný syndróm. U ľudí nebolo identifikované pred rokom 2019. Súčasná epidémia začala koncom roku 2019, nasledujúci rok ju WHO vyhlásila za pandémiu. Postihuje hlavne dýchací systém, v ťažkých prípadoch vyvoláva závažnú pneumóniu a môže viesť k úmrtiu pacienta. Pacienti so závažnými príznakmi, ktoré postihujú dýchacie cesty, môžu potrebovať mechanickú ventiláciu. Riziko úmrtia na COVID-19 je vyššie ako riziko pri chrípke. Sérová cholínesteráza (EC 3.1.1.8, pseudocholínesteráza, BChE) je sekrečný enzým syntetizovaný v pečeni a vylučovaný do krvi. Nejedná sa o jeden enzým ale o skupinu viacerých izoenzýmov. BChE kóduje gén na chromozóme č.3 v polohe 3q26.1-26.2, ktorý má 4 exóny. Presná fyziologická funkcia sérovej butyrylcholínesterázy nie je dosiaľ známa. Je známe, že sa podieľa na hydrolýze viacerých xenobiotík, ako napr. sukcinylcholín, prokaín a tetrakaín. Vyšetrenie aktivity sérovej cholínesterázy sa používa ako parameter na posúdenie proteosyntetickej funkcie pečene. V literatúre sa objavilo niekoľko prác, ktoré uvažujú o aktivite BChE ako prognostickom faktore pri mortalite na ochorenie COVID-19. V našej práci sme sa pokúsili overiť tieto hypotézy.

Do súboru bolo zaradených 50 pacientov s potvrdeným ochorením COVID-19, hospitalizovaných na pľúcnej

klinike UNB. Z nich počas hospitalizácie zomrelo 15 pacientov (32%). Tých čo prežili sme rozdelili na pacientov s ťažším priebehom (ŤP) (potrebovali pľúcnu ventiláciu) a ľahším priebehom (ĽP) bez pľúcnej ventilácie. Krv na laboratórne vyšetrenia bola odobratá pri prijatí na hospitalizáciu. Aktivitu BChE sme vyšetrovali spektrofotometricky s použitím butyryltiocholínjodidu ako substrátu. Uvoľnený tiocholínjodid reaguje s Ellmanovým činidlom za vzniku 2-nitro-5-merkaptobenzoátu.

Vyšetrenie aktivity BChE ukázalo v skupine pacientov, ktorí počas hospitalizácie zomreli, mierne nižšie aktivity BChE ako v skupine pacientov, ktorí prežili, avšak tento rozdiel nebol štatisticky významný (55,7 $\mu\text{kat.L}^{-1}$ vs. 64,2 $\mu\text{kat.L}^{-1}$, NS). Po rozdelení na skupinu s ťažším a ľahším priebehom ochorenia bola aktivita u pacientov ťažším priebehom ochorenia vyššia ako u pacientov s ľahším priebehom (70,3 $\mu\text{kat.L}^{-1}$ vs. 60,2 $\mu\text{kat.L}^{-1}$) pričom ani tento rozdiel nebol štatisticky významný. Jedným z faktorov, ktoré ovplyvňujú aktivitu BChE je obezita. Z tohto dôvodu nás zaujímal vzťah aktivity BChE a BMI. U pacientov s BMI < 30, bola aktivita BChE 57,7 \pm 4,2 $\mu\text{kat.L}^{-1}$, zatiaľ čo u pacientov s BMI > 30 bola aktivita 63,9 \pm 3,7 $\mu\text{kat.L}^{-1}$. Tento rozdiel nebol štatisticky významný. Pri rozdelení pacientov podľa závažnosti ochorenia, u pacientov s ľahším aj ťažším priebehom bola aktivita BChE vyššia u pacientov s BMI > 30. Je známe, že acetylcholín inhibuje vyplavenie prozápalových

cytokínov. Zvýšená aktivita BChE znižuje množstvo acetylcholínu a tak podporuje zápalovú aktivitu. Je možné, že zvýšená aktivita BChE u obéznych pacientov podporuje zápalovú reakciu a spôsobuje ťažší priebeh ochorenia.

Výsledky vyšetrenia aktivity BChE neukázali prognostický význam vyšetrenia tohto enzýmu. Na druhej strane výsledky ukázali možnosť súvisu zvýšených aktivít BChE s intenzitou zápalovej reakcie a tak so závažnosťou priebehu ochorenia COVID-19.

Kľúčové slová: COVID-19; butyrylcholinesteráza; prognóza

ABSTRACT

COVID-19 is an infectious disease caused by the SARS-CoV-2 coronavirus, causing severe acute respiratory syndrome. It was not identified in humans before 2019. The current epidemic began in late 2019, the following year the WHO declared it a pandemic. It mainly affects the respiratory system, in severe cases it causes severe pneumonia and can lead to the death of the patient. Patients with severe symptoms affecting the airways may require mechanical ventilation. The risk of death from COVID-19 is higher than the risk from the flu.

Serum cholinesterase (EC 3.1.1.8, pseudocholinesterase, BChE) is a secretory enzyme synthesized in the liver and secreted into the blood. It is not a single enzyme but a group of several isozymes. BChE encodes a gene on chromosome no. 3 at position 3q26.1-26.2, which has 4 exons. The exact physiological function of serum butyrylcholinesterase is still unknown. It is known that it participates in the hydrolysis of several xenobiotics, such as succinylcholine, procaine and tetracaine. Examination of serum cholinesterase activity is used as a parameter to assess the proteosynthetic function of the liver.

Several works have appeared in the literature that consider BChE activity as a prognostic factor in mortality from the disease COVID-19. In our work, we tried to verify these hypotheses.

50 patients with confirmed COVID-19, hospitalized at the Clinic of Pneumology of University Hospital Bratislava, were included in our study. Of these, 15 patients (32%)

died during hospitalization. We divided the survivors into patients with a more severe course (SC)(needing pulmonary ventilation) and a milder course (MC) without pulmonary ventilation. Blood for laboratory tests was taken upon admission to hospital. We investigated BChE activity spectrophotometrically using butyrylthiocholine iodide as a substrate. The liberated thiocholine iodide reacts with Ellman's reagent to form 2-nitro-5-mercaptobenzoate.

Examination of BChE activity showed slightly lower BChE activities in the group of patients who died during hospitalization than in the group of patients who survived, but this difference was not statistically significant ($55.7 \mu\text{kat}\cdot\text{L}^{-1}$ vs. $64.2 \mu\text{kat}\cdot\text{L}^{-1}$, NS). After dividing into a group with a more severe and a milder course of the disease, the activity in patients with a more severe course of the disease was higher than in patients with a milder course ($70.3 \mu\text{kat}\cdot\text{L}^{-1}$ vs. $60.2 \mu\text{kat}\cdot\text{L}^{-1}$), while this difference was not statistically significant either. One of the factors that affect BChE activity is obesity. For this reason, we were interested in the relationship between BChE activity and BMI. In patients with BMI < 30, BChE activity was $57.7\pm 4.2 \mu\text{kat}\cdot\text{L}^{-1}$, while in patients with BMI > 30, activity was $63.9\pm 3.7 \mu\text{kat}\cdot\text{L}^{-1}$. This difference was not statistically significant. When the patients were divided according to the severity of the disease, in patients with mild and severe course, BChE activity was higher in patients with BMI > 30.

Acetylcholine is known to inhibit the release of pro-inflammatory cytokines. Increased activity of BChE reduces the amount of acetylcholine and thus promotes inflammatory activity. It is possible that the increased activity of BChE in obese patients promotes the inflammatory response and causes a more severe course of the disease.

The results of the examination of BChE activity did not show the prognostic significance of the examination of this enzyme. On the other hand, the results showed the possibility of a connection of increased BChE activities with the intensity of the inflammatory reaction and thus with the severity of the course of the disease of COVID-19.

Key words: COVID-19; butyrylcholinesterase; prognosis



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 124–125

PRAKTICKÉ SKÚSENOSTI S ANALYZÁTOROM EVIDENCE MULTISTAT V KLINICKOM LABORATÓRIU HANDS-ON EXPERIENCE WITH EVIDENCE MULTISTAT ANALYZER IN THE CLINICAL LABORATORY

Jana Varhačová¹, Renáta Šmilňáková², Františka Puškášová³
Oddelenie klinickej biochémie, Medirex, a.s., Košice

jana.varhacova@medirex.sk

SÚHRN

Toxikologické vyšetrenia sú dôležitým nástrojom v medicíne, ktoré umožňujú identifikovať prítomnosť toxických látok v tele. Ich význam je kľúčový pri diagnostike otravy a odhaľovaní zneužívania drog. Systematický prístup realizácie toxikologických vyšetrení, od skríningu k potvrdeniu, zabezpečuje presnosť a spoľahlivosť výsledkov.

Pre skrínung liečiv a drog sa v súčasnosti javí ako spoľahlivé riešenie využitie analyzátora Evidence MultiSTAT s biočipovou technológiou (BAT), ktorá umožňuje simultánnu detekciu až 21 analytov z jednej vzorky moču, krvi alebo slín. Nevýhodou skrínungových metód je možná falošná pozitivita štruktúrne podobných a odlišných látok, ich využitie je obmedzené a slúži len k predbežnému zachytu látok. Definitívny výsledok je možné získať nadstavbovou, cielenou analýzou použitím vysoko špecifických chromatografických systémov s hmotnostnou spektrometriou ako GC/MS, LC/MS/MS.

Analyzovali sme súbor močových vzoriek pacientov (n=70) zaslaných do nášho laboratória v rámci rutinného toxikologického vyšetrenia. Vzorky boli testované certifikovanými imunochromatografickými testami a biočipovou technológiou na analyzátore Evidence MultiSTAT (Randox).

Cieľom bolo otestovať biočipovú technológiu, porovnať ju s imunochromatografickou metódou a overiť jej spoľahlivosť.

Kapa štatistika bola použitá na hodnotenie zhody medzi výsledkami skrínungových metód. Výsledky ukázali veľmi dobrú zhodu pre väčšinu testovaných skupín liečiv a drog s hodnotou $K = 0,89 - 1$. Uspokojivé výsledky sa dosiahli pre testovanú skupinu tricyklických antidepresív (TCA), čo možno vysvetliť rozdielnou citlivosťou testov (150ng/ml BAT vs 1000ng/ml imunochromatografia) a tiež skríženou reakciou štruktúrne podobnej látky Chlorprotixenu (antipsychotikum).

Biočipová technológia priniesla v našom laboratóriu výrazné zlepšenie v efektívite skrínungu. Pri jej používaní je dôležité zohľadniť možnosť falošne pozitívnych výsledkov, ktoré môžu vzniknúť v dôsledku interferencie s inými látkami. Na zabezpečenie správnej interpretácie výsledkov je preto potrebné biočipový skrínung doplniť konfirmačnými analytickými metódami.

Kľúčové slová: skrínung drog; biočipová technológia (BAT); GC/MS; LC/MS/MS

ABSTRACT

Toxicological examinations are an important tool in medicine that allow to identify the presence of toxic substances in the body. Their significance is crucial in the diagnosis of poisoning and the detection of drug abuse. A systematic approach to conducting toxicological ex-

aminations, from screening to confirmation, ensures accuracy and reliability of the results. For drugs and illicit drugs screening, the use of the Evidence MultiSTAT analyser with biochip technology (BAT), which allows the simultaneous detection of up to 21 analytes from a single urine, blood or saliva sample, currently appears to be a reliable solution. The disadvantage of screening methods is the possible false positivity of structurally similar and dissimilar substances, their use is limited and they serve only for the preliminary detection of substances. A definitive result can be obtained by extension, targeted analysis using highly specific chromatographic mass spectrometry systems such as GCMS, LC/MS/MS.

We analyzed a set of urine samples from patients (n=70) sent to our laboratory as part of a routine toxicological examination. Samples were tested with certified immunochromatographic assays and biochip technology on an Evidence MultiSTAT analyzer (Randox).

The aim was to test the biochip technology, compare it with the immunochromatographic method, and verify its reliability.

The kappa statistics was used to assess the agreement between the results of the screening methods. The results showed very good agreement for most of the tested groups of medications and drugs, with a $K = 0.89 - 1$. We achieved satisfactory results for the tested group of tricyclic antidepressants (TCAs), which can be explained by the different sensitivity of the tests (150ng/ml BAT vs 1000ng/ml immunochromatography) as well as the cross-reactivity of the structurally similar substance Chlorprothixene (an antipsychotic).

Biochip technology has significantly improved the efficiency of screening in our laboratory. However, it is important to consider the possibility of false positive results due to interference from other substances. To ensure correct interpretation of the results, biochip screening should be supplemented with confirmatory analytical methods.

Keywords: drugs screening; biochip technology (BAT); GC/MS; LC/MS/MS



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 126–128

PILOTNÁ ŠTÚDIA BIOCHEMICKÝCH PARAMETROV U PACIENTOV PODSTUPUJÚCICH KARDIOCHIRURGICKÝ VÝKON VO VZŤAHU K VYBRANÝM OCHORENIAM

PILOT STUDY OF BIOCHEMICAL PARAMETERS IN PATIENTS UNDERGOING CARDIAC SURGERY IN RELATION TO SELECTED DISEASES

Gabriela Sabolová¹, Ladislav Kočan², Miroslava Rabajdová¹, Janka Vašková¹

¹Ústav lekárskej a klinickej biochémie, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta,
040 11 Košice, Slovensko

²Klinika anestéziológie a intenzívnej medicíny, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb,
040 11 Košice, Slovensko

gabriela.sabolova@student.upjs.sk

SÚHRN

Kardiochirurgické výkony predstavujú významnú záťaž pre organizmus a sú často sprevádzané rôznymi komplikáciami, ktoré môžu ovplyvniť výsledok operácie a následnú rekonvalescenciu pacienta. Biochemické parametre môžu poskytovať cenné informácie o stave pacienta pred, počas a po operácii, a pomáhať pri monitorovaní a predikcii vývoja rôznych ochorení. Táto pilotná štúdia sa zameriava na analýzu biochemických parametrov u pacientov podstupujúcich kardiochirurgický výkon za použitia srdcovo-pľúcnej pumpy, s cieľom identifikovať možné súvislosti medzi týmito parametrami a vybranými ochoreniami. Zvláštny dôraz kladieme na antioxidantné enzýmy a molekuly, ktoré plnia kľúčovú úlohu v ochrane pred oxidačným stresom.

Do štúdie sú zaradení zdraví jedinci nepodstupujúci kardiochirurgický operačný výkon ako kontrolná skupina; pacienti podstupujúci plánovaný kardiochirurgický operačný výkon (CABG, Coronary Artery Bypass Grafting) na mimotelovom obehu (ECC, Extracorporeal Circulation) v dĺžke ECC < 60 min ako prvá experimentálna skupina; pacienti podstupujúci plánovaný CABG na mimotelovom obehu v dĺžke ECC > 60 min ako druhá experimentálna skupina. Do tejto pilotnej štúdie bolo zaradených 37 pacientov, ktorí podstúpili kardiochirurgický výkon vo Východoslovenskom ústave srdcových a cievnych chorôb.

Od všetkých pacientov boli odobraté vzorky arteriálnej krvi v dvoch časových intervaloch: hodinu pred operáciou a hodinu po operácii. Odobratá plná krv bola následne spracovaná centrifugáciou pri 3000 rpm po dobu 10 minút, čím sa separovala plazma. Plazma bola ďalej rozdelená do viacerých eppendorfiiek pre ďalšiu analýzu. Hodnotené parametre zahŕňali superoxididismutázu (SOD), glutatiónperoxidázu (GPx), glutatiónreduktázu (GR) a redukovaný glutatión (GSH). Koncentrácie boli stanovené pomocou reakcie Ellmanovho činidla (DTNB, 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)) s voľnými -SH skupinami, kde sa tvoril žltý komplex TNB2- (2-nitro-5-thiobenzoát), ktorý bol kvantifikovaný spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 412 nm, podľa metodiky popísanej Floreanim a kol. (1997) (Floreani *a kol.*, 1997). Ide o všeobecný postup používaný v biochemických laboratóriách na analýzu antioxidantov a oxidačného stresu v plazme alebo iných biologických vzorkách. Všetky merania boli uskutočnené prostredníctvom jednodúčového UV-Vis spektrofotometra Camspec M501 (Yorkshire, Spojené kráľovstvo).

Cieľom tejto pilotnej štúdie je analyzovať biochemické parametre u pacientov podstupujúcich kardiochirurgický výkon s použitím mimotelového obehu (v trvaní do 60 minút, alebo dlhšie), a identifikovať možné súvislosti medzi týmito parametrami a vybranými ochoreniami prostredníctvom aktivít antioxidantných enzýmov a molekuly.

ly, ako sú SOD, GPx, GR a GSH, ktoré plnia kľúčovú úlohu v ochrane pred oxidačným stresom. Cieľom je objasniť mieru pôsobenia mimotelového obehu na rozvoj oxidačného stresu a biochemických zmien u pacientov s rôznymi ochoreniami.

Na základe odberov vykonaných v rôznych časových intervaloch (hodinu pred operáciou a hodinu po operácii) a porovnania s kontrolnou skupinou, boli zistené súhrnne nasledovné výsledky pre sledované biochemické parametre:

Aktivita SOD sa vplyvom kardiochirurgického zákroku výrazne nezmenila, čo naznačuje stabilný prínos tohto enzýmu k antioxidačnej obrane organizmu.

Aktivita GPx sa po operácii signifikantne znížila ($p < 0,001$), čo môže signalizovať nedostatočnú kompenzáciu nárastu oxidačného stresu spôsobeného kardiochirurgickým zákrokom.

Aktivita GR bola po operácii signifikantne vyššia ($p < 0,05$), pravdepodobne v dôsledku snahy organizmu doplniť antioxidačné mechanizmy závislé od GSH.

Koncentrácia GSH sa vplyvom zákroku výrazne nemeňovala, čo naznačuje adekvátnu kompenzáciu jeho úbytku vplyvom oxidačného stresu prostredníctvom zvýšenej aktivity GR po operácii.

Tieto výsledky naznačujú dynamické zmeny v antioxidačných parametroch počas kardiochirurgického výkonu, čo môže odrážať reakciu organizmu na operačný stres a následné obdobie. Výrazné rozdiely v hladinách sledovaných parametrov v porovnaní s kontrolnou skupinou poukazujú na významné zmeny v oxidačnom stave organizmu počas a po operácii až jeho nedostatočnú aktivitu po výkone.

Pilotná štúdia poskytuje cenné údaje o biochemických zmenách (napr. úroveň hladín antioxidačných enzýmov), pred a po kardiochirurgických výkonoch. Informuje o zmenách analyzovaných parametrov v závislosti od trvania mimotelového obehu. Výsledky tejto štúdie poskytujú cenné informácie o oxidačnom stave organizmu a môžu slúžiť ako základ pre ďalší výskum a vývoj nových terapeutických stratégií na zníženie oxidačného stresu a zlepšenie zdravotného stavu pacientov.

Realizovaná pilotná štúdia poukazuje na význam štúdia biochemických parametrov dôležitých pre posúdenie oxidačného stavu organizmu, ktoré môžu poskytovať cenné informácie o zdravotnom stave pacientov podstupujúcich kardiochirurgický výkon. V nasledujúcom období

budú hodnotené aj iné enzýmové parametre dopĺňajúce mechanizmus pôsobenia oxidačného stresu v cirkulácii.

Kľúčové slová: CABG; kardiochirurgický zákrok; antioxidačné enzýmy; oxidačný stres; kardiovaskulárne ochorenia

Táto práca vznikla pri riešení projektu APVV-22-0357.

ABSTRACT

Cardiac surgical procedures represent a significant burden on the body and are often accompanied by various complications that can affect the outcome of the operation and the subsequent recovery of the patient. Biochemical parameters can provide valuable information about the patient's condition before, during and after surgery, and assist in monitoring and predicting the development of various diseases. This pilot study focuses on the analysis of biochemical parameters in patients undergoing cardiac surgery using a heart-lung pump, with the aim of identifying possible associations between these parameters and selected diseases. Special emphasis is placed on antioxidant enzymes and molecules that play a key role in protection against oxidative stress.

The study includes healthy subjects not undergoing cardiac surgery as a control group; patients undergoing elective cardiac surgery (CABG, Coronary Artery Bypass Grafting) on extracorporeal circulation (ECC, Extracorporeal Circulation) with ECC length < 60 min as the first experimental group; patients undergoing elective CABG on extracorporeal circulation with ECC length > 60 min as the second experimental group. Thirty-seven patients who underwent cardiac surgery at the East Slovak Institute of Heart and Vascular Diseases were enrolled in this pilot study. Arterial blood samples were collected from all patients at two time intervals: one hour before surgery and one hour after surgery. The collected whole blood was then processed by centrifugation at 3000 rpm for 10 minutes to separate the plasma. The plasma was further divided into multiple eppendorfs for further analysis. Parameters evaluated included superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) and reduced glutathione (GSH). Concentrations were determined by the reaction of Ellman's reagent (DTNB, 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)) with free -SH groups

to form a yellow TNB2-(2-nitro-5-thiobenzoate) complex, which was quantified spectrophotometrically at 412 nm, according to the methodology described by Floreani et al. (1997) (Floreani et al., 1997). This is a general procedure used in biochemical laboratories for the analysis of antioxidants and oxidative stress in plasma or other biological samples. All measurements were performed using a Camspec M501 single-beam UV-Vis spectrophotometer (Yorkshire, UK).

The aim of this pilot study is to analyse biochemical parameters in patients undergoing cardiac surgery using extracorporeal circulation (lasting up to 60 minutes or longer), and to identify possible associations between these parameters and selected diseases through the activities of antioxidant enzymes and molecules such as SOD, GPx, GR and GSH, which play a key role in protection against oxidative stress. The aim is to elucidate the extent to which the extracorporeal circulation influences the development of oxidative stress and biochemical changes in patients with various diseases.

On the basis of sampling performed at different time intervals (one hour before and one hour after surgery) and comparison with the control group, the following results were found for the biochemical parameters studied:

SOD activity did not change significantly due to cardiac surgery, indicating a stable contribution of this enzyme to the antioxidant defence of the organism.

GPx activity decreased significantly after surgery ($p < 0.001$), which may indicate insufficient compensation for the increase in oxidative stress caused by cardiac surgery.

GR activity was significantly higher after surgery ($p < 0.05$), probably due to the body's attempt to replenish GSH-dependent antioxidant mechanisms.

GSH concentration was not significantly altered by surgery, suggesting adequate compensation for its loss due to oxidative stress through increased GR activity after surgery.

These results suggest dynamic changes in antioxidant parameters during cardiac surgery, which may reflect the body's response to surgical stress and the follow-up period. Significant differences in the levels of the studied parameters compared to the control group indicate significant changes in the oxidative state of the organism during and after surgery, up to its lack of activity after the procedure.

The pilot study provides valuable data on biochemical changes (e.g. levels of antioxidant enzymes) before and after cardiac surgery. It informs about the changes of the analyzed parameters depending on the duration of extracorporeal circulation. The results of this study provide valuable information on the oxidative status of the body and can serve as a basis for further research and development of new therapeutic strategies to reduce oxidative stress and improve the health status of patients.

This pilot study highlights the importance of studying biochemical parameters important for assessing the oxidative status of the body, which can provide valuable information about the health status of patients undergoing cardiac surgery. Other enzymatic parameters complementing the mechanism of action of oxidative stress in the circulation will be evaluated in the next period.

Key words: CABG; cardiac surgery; antioxidant enzymes; oxidative stress; cardiovascular diseases

This work was carried out in the framework of the project APVV-22-0357.

REFERENCES

1. Floreani, M. *et al.* (1997) 'A comparison between different methods for the determination of reduced and oxidized glutathione in mammalian tissues', *Free Radical Research*, 26(5), pp. 449–455. Available at: <https://doi.org/10.3109/10715769709084481>.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 129–131

INTEGRÁCIA VOĽNE DOSTUPNÝCH TRANSKRIPTOMICKÝCH DÁT V ANALÝZE RECEPTIVITY ENDOMETRIA INTEGRATION OF PUBLICLY AVAILABLE TRANSCRIPTOMIC DATA IN THE ANALYSIS OF ENDOMETRIAL RECEPTIVITY

Peter Artimovič, Eva Kriváková, Zuzana Badovská, Miroslava Rabajdová, Mária Mareková
Ústav lekárskej a klinickej biochémie, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Lekárska fakulta, Košice

miroslava.rabajdova@upjs.sk

SÚHRN

Kľúčovým faktorom úspešnosti implantácie embrya je receptivita endometria. Ide o krátke obdobie v sekrečnej fáze menštruačného cyklu, počas ktorého endometrium prechádza špecifickými zmenami, aby umožnilo adhéziu a implantáciu embrya. Značná časť výskumu ženskej neplodnosti sa zameriava na objasnenie molekulovej podstaty receptivity endometria s cieľom identifikovať špecifické biomarkery tohto obdobia a potenciálne terapeutické ciele na jeho moduláciu. Efektívnou technikou pre tieto účely je RNA-seq, ktorá poskytuje rozsiahle údaje o expresii génov v endometriu. Tieto údaje je možné uchovať vo verejne dostupných databázach ako datasey, ktorých analýza predstavuje moderný bioinformatický prístup k štúdiu molekulových procesov. Transkriptomickú analýzu je možné následne prepojiť s údajmi z funkčných proteomických databáz. Integrácia analýzy transkriptómu a proteómu predstavuje komplexnejší prístup k štúdiu molekulových mechanizmov.

Na analýzu boli použité datasey uchované v Gene Expression Omnibus (GEO) databáze pod identifikátormi GSE132711 a GSE106602. Vybrané datasey získané sekvenovaním novej generácie boli analyzované pomocou webového nástroja GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/geo2r.html>). Hodnoty génovej expzie v transcript per million (TPM) boli štatisticky spracova-

né v programe GraphPad Prism, verzia 8. Interakčná sieť proteínov, ktoré potenciálne ovplyvňujú receptivitu endometria, bola vyhotovená pomocou databázy STRING, verzia 12.0 (<https://string-db.org/>).

Cieľom práce bolo charakterizovať vzťahy medzi potenciálnymi regulátormi receptivity endometria na základe funkčných proteomických dát a preukázať ich význam analýzou voľne dostupných transkriptomických dát.

Interakčná sieť potenciálnych regulátorov receptivity endometria, zostrojená pomocou databázy STRING (minimálne interakčné skóre: 0,4 – stredná spoľahlivosť), potvrdila známe interakcie medzi jadrovými receptormi steroidných hormónov a odhalila široké spektrum vzájomných interakcií potenciálnych regulátorov receptivity endometria, pričom celkový počet interakcií bol 61. Štúdium obohatenia génovej ontológie ukázalo, že viaceré mapované proteíny sa podieľajú na regulácii reprodukčných procesov (GO:2000241), plodnosti žien (GO:0007565), implantácie (GO:0007566) a decidualizácie (GO:0046697) embrya. Významným zistením bola identifikácia zapojenia jadrového receptora γ aktivovaného peroxizómovým proliferátorom (PPAR γ) do reprodukčného procesu. Ide o oblasť výskumu, v ktorej je aktuálne limitované množstvo literatúry a úloha PPAR γ v kontexte receptivity endometria bola doteraz len málo preskúmaná. Analýzou transkriptomických dát boli zistené signifikantne zvýšené ($p = 0,0014$) endometriál-

ne hladiny *PPARG* počas obdobia receptivity u pacientiek s opakovaným implantačným zlyhaním v rámci *in vitro* fertilizácie (IVF), v porovnaní s pacientkami s úspešným výsledkom IVF. Signifikantné rozdiely v génovej expresii boli pozorované aj u polovice interakčných partnerov PPAR γ , pričom dve z týchto interakcií mali vysoké interakčné skóre (skóre > 0,7): ESR1 – estrogénový receptor 1 a NR2F2 – jadrový receptor podrodiny 2 skupiny F člen 2. Tento výsledok naznačuje potenciálny mechanizmus účinku PPAR γ na receptivitu endometria.

Predkladaná štúdia poukazuje na kľúčové interakcie medzi jadrovými receptormi steroidných hormónov a potenciálnymi regulátormi endometriálnej receptivity. Identifikácia PPAR γ ako potenciálneho modulátora úspešnosti implantácie embrya naznačuje potrebu ďalších štúdií jeho úlohy v receptivite endometria. Výsledky výskumu môžu byť v budúcnosti využité pre porovnanie s výsledkami *ex vivo* štúdie, analyzujúcej vplyv modulácie účinku PPAR γ na receptivitu endometria maternice v IVF procese.

Kľúčové slová: receptivita endometria; transkriptomické dáta; proteínové interakcie, neplodnosť

Podakovanie: Táto práca vznikla na základe podpory z projektu VVGS-2023-2930 financovaného EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00008 a VEGA 1/0747/24.

ABSTRACT

Endometrial receptivity is a key factor in successful embryo implantation. This occurs during a short period in the secretory phase of the menstrual cycle when the endometrium undergoes specific changes to allow for the adhesion and implantation of the embryo. A significant portion of research on female infertility focuses on elucidating the molecular basis of endometrial receptivity, aiming to identify specific biomarkers of this period and potential therapeutic targets for its modulation. An effective technique for these purposes is RNA-seq, which provides extensive data on gene expression in the endometrium. This data can be stored in publicly accessible databases as datasets, and their analysis represents a modern bioinformatics approach to studying molecular processes. Transcriptomic analysis can then be connected with data from functional proteomic databases. In-

tegrating transcriptome and proteome analyses offers a more comprehensive approach to studying molecular mechanisms.

The datasets used for the analysis were stored in the Gene Expression Omnibus (GEO) database under the identifiers GSE132711 and GSE106602. Selected datasets obtained through next-generation sequencing were analysed using the web tool GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/geo2r.html>). Gene expression values in transcript per million (TPM) were statistically processed using GraphPad Prism, version 8. An interaction network of proteins potentially affecting endometrial receptivity was created using the STRING database, version 12.0 (<https://string-db.org/>).

The work aimed to characterize the relationships between potential regulators of endometrial receptivity based on functional proteomic data and to demonstrate their significance through the analysis of publicly available transcriptomic data.

The interaction network of potential regulators of endometrial receptivity, constructed using the STRING database (minimum interaction score: 0,4 – medium confidence), confirmed known interactions between nuclear receptors of steroid hormones and revealed a wide range of mutual interactions among potential regulators of endometrial receptivity, with a total of 61 interactions. Gene ontology enrichment analysis showed that several mapped proteins are involved in the regulation of reproductive processes (GO:2000241), female fertility (GO:0007565), implantation (GO:0007566), and decidualization (GO:0046697) of the embryo. A significant finding was the identification of the involvement of the peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) in the reproductive process. This is an area of research with currently limited literature, and the role of PPAR γ in the context of endometrial receptivity has been scarcely explored until now. Transcriptomic data analysis revealed significantly increased ($p = 0,0014$) endometrial levels of *PPARG* during the receptive period in patients with recurrent implantation failure during *in vitro* fertilization (IVF), compared to patients with successful IVF outcomes. Significant differences in gene expression were also observed in half of the interaction partners of PPAR γ , with two of these interactions having high interaction scores (score > 0,7): ESR1 – estrogen receptor 1 and NR2F2 – nuclear receptor subfamily 2 group F member 2. This result

suggests a potential mechanism of action of PPAR γ on endometrial receptivity.

This study highlights key interactions between nuclear receptors of steroid hormones and potential regulators of endometrial receptivity. The identification of PPAR γ as a potential modulator of embryo implantation success suggests the need for further studies on its role in endometrial receptivity. The research results may be used in the future for comparison with *ex vivo* studies analysing the impact of PPAR γ 's effects on endometrial receptivity during the IVF process.

Key words: endometrial receptivity; transcriptomic data; protein interactions; infertility

Acknowledgments: This work was supported by the project VVGS-2023-2930 funded by the EU NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under the project No. 09I03-03-V05-00008 and VEGA 1/0747/24.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 132–133

ABÚZUS VYBRANÝCH OMAMNÝCH LÁTKOK V POPULÁCIÍ MLÁDEŽE V BRATISLAVSKOM KRAJI ABUSE OF SELECTED NARCOTIC SUBSTANCES IN THE YOUTH POPULATION IN THE BRATISLAVA REGION

Katarína Vlniešková, Lucia Nagyová, Miroslava Kamenská, Adela Svitková
Oddelenie laboratórnej diagnostiky MEDIREX, Bratislava

katarina.vlnieskova@medirex.sk

SÚHRN

Z analýzy Európskej správy o drogách z roku 2023 vyplýva, že vplyv užívania nelegálnych drog je viditeľný takmer všade v spoločnosti a všetky látky s psychoaktívnymi vlastnosťami majú potenciál byť použité ako droga. Dostupnosť nelegálnych drog je na vysokej úrovni pre všetky druhy látok a je sprevádzaná väčšou rozmanitosťou. To znamená, že spotrebitelia sú vystavení rôznym psychoaktívnym látkam. Patria medzi ne nové syntetické drogy, pre ktoré existuje len málo informácií o zdravotných rizikách. Najčastejšie konzumovanou nelegálnou látkou zostáva kanabis.

Na našom pracovisku sme v období 1.1. 2023- 31.12. 2023 vyšetřili vzorky moču od 1253 osôb (663 mužov, 590 žien) vo veku 15- 30 rokov z oblasti Bratislavského kraja. išlo o pacientov z ambulancií ale aj z nemocníc (UNB Ružinov, UNB Antolská, UNB Mickiewiczova, Pinelova nemocnica Pezinok, Nemocnica Malacky). Drogy sme vyšetřovali 5 parametrovým testom na skrining drog, imunochromatografickou metódou. Testom sa vyšetřovala pozitivita kokaínu (COC), benzodiazepínov (BZD), amfetamínových derivátov (MET), opiátov (OPI) a kanabinoïdov (THC).

Cieľom práce bolo zistiť, ktoré sú najčastejšie pozitívne drogy u mužov a žien, porovnať výsledky v jednotlivých vekových skupinách a taktiež porovnať pozitivitu drog

v jednotlivých mesiacoch počas roka. Chceli sme tiež zistiť rozdiely v pozitívite drog podľa odosielajúcich lekárov – výsledky ležiacich pacientov (psychiatrické kliniky) verzus ambulancie, centrálné príjmy.

Z celkového počtu 1253 vyšetřených osôb malo 477 pozitívnu aspoň jednu drogu. Najčastejšie pozitívnu drogu boli benzodiazepíny (241), nasledovalo THC (166) a na treťom mieste boli amfetamínové deriváty (157). V porovnaní ženy- muži bola výraznejšia pozitivita THC u mužov (125) ako u žien (41). Taktiež bol rozdiel v pozitívite u ambulantných pacientov- najčastejšia pozitivita THC a hospitalizovaných pacientov najčastejšia pozitivita BZD, pričom z celkového počtu pozitívnych BZD -241 bolo 182 pozitívnych vzoriek z psychiatrických kliník. Vyhodnotili sme najčastejšie užívané drogy vo vekových skupinách 15-19, 20-24 a 25-30 rokov.

U 15-19 ročných a 20-24 ročných bola najvyššia pozitivita na THC, v skupine 25-30 ročných bol takmer porovnateľný záchyt THC, MET, BDZ. Čo sa týka porovnania výsledkov počas roka, najviac pozitívnych močov na drogy bolo v mesiacoch september a október, najmenej pozitívnych vzoriek v mesiaci jún.

Kľúčové slová: drogy; drogová závislosť; benzodiazepíny; THC

ABSTRACT

The analysis of the European Drug Report 2023 shows that the impact of illegal drug use is visible almost everywhere in society and all substances with psychoactive properties have the potential to be used as drugs. The availability of illegal drugs is high for all types of substances and is accompanied by greater diversity. This means that consumers are exposed to different psychoactive substances. These include new synthetic drugs for which there is little information on health risks. The most frequently consumed illegal substance remains cannabis.

In our study we examined urine samples from 1253 persons (663 men, 590 women) aged 15-30 from the Bratislava region, in the period 1.1. 2023- 31.12. 2023.

These were patients from outpatient clinics but also from hospitals (UNB Ružinov, UNB Antolská, UNB Mickiewiczova, Pinelova hospital Pezinok, Malacky hospital). We examined the drugs with a 5-parameter drug screening test, using the immunochromatographic method. The test examined positivity for cocaine (COC), benzodiazepines (BZD), amphetamine derivatives (MET), opiates (OPI) and cannabinoids (THC).

The aim of the study was to find out which are the most common positive drugs in men and women, to compare the results in individual age groups and also to compare the positivity of drugs in individual months during the year. We also wanted to find out the differences in drug positivity according to the referring doctors – the results of bedridden patients (psychiatric clinics) versus outpatient clinics.

Out of the total number of 1253 examined persons, 477 were tested positive for at least one drug. The most frequently positive drug were benzodiazepines (241), followed by THC (166) and in third place were amphetamine derivatives (157). In the female-male comparison, THC positivity was more pronounced in men (125) than in women (41). There was also a difference in positivity in outpatients - the most common positivity of THC and hospitalized patients - the most common positivity of BZD, with 182 positive samples from psychiatric clinics of the total number of positive BZD -241. We evaluated the most commonly used drugs in the age groups of 15-19, 20-24 and 25-30 years.

In 15-19 and 20-24 years old THC was most often positive in the group of 25-30 years old the record of THC, MET, BDZ was almost similar. As far as the comparison of results during the year is concerned, the highest number of positive urine tests for drugs was in the months of September and October the fewest positive samples in June.

Key words: drugs; drug addiction; benzodiazepines; THC

REFERENCE

1. Európske monitorovacie centrum pre drogy a drogovú závislosť (2023), ISBN: 978-92-9497-943-8, *Európska správa o drogách 2023*



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 134–135

NEALKOHOLICKÁ TUKOVÁ CHOROBA PEČENE (NAFLD) A EXTRAHEPATÁLNE ZHUBNÉ NÁDORY NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE (NAFLD) AND EXTRAHEPATIC MALIGNANCIES

Peter Minárik^{1,2,3}

¹Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

²Inštitút pre prevenciu a intervenciu, Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava

³Onkologický ústav sv. Alžbety, II. Rádiologická klinika LFUK a OÚSA, Gastroenterologické oddelenie, Bratislava

peterminarik57@gmail.com

SÚHRN

Nealkoholická choroba pečene (NAFLD – *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*), resp. podľa novej terminológie metabolicky asociovaná tuková choroba pečene (MAFLD – *Metabolic Associated Fatty Liver Disease*) má úzky vzťah k metabolickému syndrómu a významne prispieva k riziku hepatocelulárneho karcinómu (HCC). NAFLD podľa najnovších dôkazov môže byť pridaným rizikovým faktorom aj pre extrahepatálne zhubné nádory, najmä v gastrointestinálnom trakte (GIT). Predmetom prebiehajúcich výskumov je však aj hľadanie súvislostí medzi NAFLD a rizikom extrahepatálnych zhubných nádorov (EHZN), najmä kolorektálneho karcinómu (KRC), ale aj ďalších malignít. Výsledky recentných štúdií naznačujú, že NAFLD a metabolický syndróm môžu mať úzky vzťah ku zvýšenému riziku zhubných nádorov. Hoci kauzálnu súvislosť medzi NAFLD a CRC nemožno zatiaľ ešte jednoznačne potvrdiť, výsledky doterajších štúdií naznačujú mierne zvýšenú prevalenciu KRC medzi pacientmi s NAFLD. Riziko KRC zvyšuje predovšetkým NAFLD v štádiu fibrózy. Významným rizikovým faktorom karcinómu pažeráka (KP) je obezita. Predovšetkým viscerálna obezita zvyšuje riziko karcinómu pažeráka až štvornásobne v porovnaní so štíhlymi jedincami. Nedávne štúdie potvrdili, že centrálna adipozita nezávisle od BMI podporuje rozvoj Barrettovho pažeráka (BE), prispieva k progresii

zápalu sliznice distálneho pažeráka smerom k metapláziám BE a KP. S vysokým rizikom vzniku karcinómu pažeráka významne koreluje aj NAFLD. Prítomnosť NAFLD signifikantne zvyšuje u pacientov s KP mortalitu zo všetkých príčin. Podobne NAFLD zvyšuje aj riziko karcinómu žalúdka (KŽ) – (kardie) a takisto NAFLD u pacientov s KŽ zvyšuje u nich mortalitu zo všetkých príčin. Práca prináša príklady rizikového vzťahu NAFLD/MAFLD aj k ďalším EHZN (prsík, pankreas, žlčové cesty, prostata).

Kľúčové slová: nealkoholická choroba pečene; metabolicky asociovaná tuková choroba pečene; extrahepatálne zhubné nádory

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), or according to the newer terminology, metabolically associated fatty liver disease (MAFLD – metabolic dysfunction-associated fatty liver disease) is closely related to the metabolic syndrome and significantly contributes to the risk of hepatocellular carcinoma (HCC). According to recent evidence, NAFLD may be an added risk factor for extrahepatic malignancies, especially in the gastrointestinal tract. However, the subject of ongoing research is also the investigation of a connection between NAFLD and the risk of extrahepatic malignant tumours, especial-

ly colorectal cancer (CRC), but also other malignancies. The results of recent studies suggest that NAFLD and the metabolic syndrome may be closely related to an increased risk of malignant tumours. Although the causal relationship between NAFLD and CRC cannot yet be unequivocally confirmed, the results of recent studies suggest a slightly increased prevalence of CRC among patients with NAFLD. The risk of CRC is increased primarily by NAFLD in the stage of fibrosis. Obesity is a significant risk factor for oesophageal cancer. In particular, visceral obesity increases the risk of oesophageal cancer up to fourfold compared to lean individuals. Recent studies have confirmed that central adiposity, independently of BMI, promotes the development of Barrett's oesophagus (BE), contributes to the progression of distal oesoph-

ageal mucosal inflammation towards metaplasia (BE) and oesophageal cancer. NAFLD is also significantly correlated with a high risk of oesophageal cancer. The presence of NAFLD significantly increases all-cause mortality in patients with oesophageal cancer. Similarly, NAFLD also increases the risk of gastric cancer (cardia) and in patients with gastric cancer NAFLD increases all causes mortality. This paper will bring examples of the relationship of NAFLD/MAFLD towards other extrahepatic malignancies (breast, pancreas, bile ducts, prostate).

Key words: non-alcoholic liver disease; metabolic dysfunction-associated fatty liver disease; extrahepatic malignant tumours



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 136–137

MODERNÁ LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA PORÚCH FAGOCYTÓZY MODERN LABORATORY DIAGNOSTICS OF PHAGOCYTOSIS DISORDERS

Veronika Mrázová, Mária Zuzulová, Jana Jarčušková, Miriam Mikušová, Ingrid Kultánová,
Lucia Májovská

Onkologický ústav sv. Alžbety, Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Bratislava

veronika.mrazova@ousa.sk

SÚHRN

Fagocytárne neutrofilné granulocyty patria medzi prvé imunitné bunky aktívne v miestach infekcie a tvoria dôležitú obranu prvej línie proti inváziám mikroorganizmov. Vrodené imunitné defekty týkajúce sa týchto fagocytov môžu byť spôsobené zníženým počtom alebo funkciou neutrofilov. Moderná laboratórna diagnostika porúch fagocytózy využíva pomocou prietokovej cytometrie funkčný test fagocytózy DHR123 (dihydrorodamín 123). Test je vhodný na hodnotenie X-viazanej a autozomálne recesívnej formy chronickej granulomatóznej choroby (CGD), pri deficite myeloperoxidázy a aj pri monitorovaní funkcie nikotínamid adenín-dinukleotid-fosfátu (NADPH). U detských pacientov sa využíva v rámci diferenciálnej diagnostiky ako nutnosť na vylúčenie život ohrozujúcich imunodeficitov.

Pomocou prietokovej cytometrie sa stanoví fagocytárna aktivita neutrofilných granulocytov po ich stimulácii inaktivovanými baktériami *E. coli* a následne sa meria respiračné (oxidačné) vzplanutie z plnej krvi. Za prítomnosti substrátu dihydrorodamín 123 (DHR123), ktorý sa oxiduje na fluorescenčný rhodamin 123 sa určuje percento neutrofilných granulocytov, ktoré produkujú voľné kyslíkové radikály v priebehu respiračného vzplanutia.

Cieľom našej práce bolo vylúčiť život ohrozujúcich imunodeficitov u detských pacientov pomocou testu

funkčnej fagocytárnej aktivity neutrofilných granulocytov testom FagoFlowEx od firmy Exbio.

Náš súbor obsahoval 20 detských pacientov. Metódou prietokovej cytometrie sme im vyšetrili funkčnú fagocytárnu aktivitu neutrofilných granulocytov testom FagoFlowEx. U jedného pacienta sme zaznamenali chronickú granulomatóznou chorobu, ktorú mal následne potvrdenú aj indikujúcim lekárom.

Funkčný test fagocytózy DHR123 (dihydrorodamín 123) je v modernej laboratórnej diagnostike porúch fagocytózy neoddeliteľnou súčasťou každodenného testovania v laboratóriu klinickej imunológie a alergológie. Umožňuje nám zachytiť detských pacientov s ťažkými imunodeficitmi, ktoré môžu byť život ohrozujúce.

Kľúčové slová: fagocytóza; imunodeficiencie; prietoková cytometria

ABSTRACT

Phagocytic neutrophil granulocytes are among the first immune cells active at sites of infection, forming an important first-line defense against invading microorganisms. Congenital immune defects concerning these phagocytes may be due to reduced neutrophil numbers or function. Modern laboratory diagnostics of phagocytosis disorders use the functional phagocytosis test

DHR123 (dihydrorhodamine 123) by means of flow cytometry. The test is suitable for evaluating the X-linked and autosomal recessive form of chronic granulomatous disease (CGD), with myeloperoxidase deficiency and also for monitoring the function of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH). In pediatric patients, it is used as part of differential diagnosis as a necessity to rule out life-threatening immunodeficiencies.

Using flow cytometry, the phagocytic activity of neutrophil granulocytes is determined after their stimulation with inactivated E. coli bacteria, and then the respiratory (oxidative) burst from whole blood is measured. In the presence of the substrate dihydrorhodamine 123 (DHR123), which is oxidized to fluorescent rhodamine 123, we determine the percentage of neutrophil granulocytes that produce free oxygen radicals during the respiratory burst.

The goal of our work was to rule out life-threatening immunodeficiencies in pediatric patients using the test of

functional phagocytic activity of neutrophil granulocytes using the FagoFlowEx test from Exbio.

Our file included 20 pediatric patients. Using the flow cytometry method, we examined the functional phagocytic activity of neutrophil granulocytes using the FagoFlowEx test. In one patient, we recorded chronic granulomatous disease, which was subsequently confirmed by the referring doctor.

The functional phagocytosis test DHR123 (dihydrorhodamine 123) is an integral part of daily testing in the laboratory of clinical immunology and allergology in the modern laboratory diagnosis of phagocytosis disorders. It allows us to capture pediatric patients with severe immunodeficiencies that can be life-threatening.

Key words: phagocytosis; immunodeficiency; flow cytometry



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 138–139

VÝZNAM DIAGNOSTIKY SELEKTÍVNEHO DEFICITU IgA THE SIGNIFICANCE OF DIAGNOSING SELECTIVE IgA DEFICIENCY

Mária Zuzulová, Jana Jarčušková, Veronika Mrázová, Adriana Číková, Martin Hrubíško
Onkologický ústav sv. Alžbety, Oddelenie klinickej imunológie a alergológie

maria.zuzulova@ousa.sk

SÚHRN

Selektívny deficit IgA (SIGAD) sa považuje za najbežnejšiu primárnu imunodeficienciu. Prevalencia v našej populácii je približne jeden z 500, zatiaľ čo v niektorých ázijských populáciách je SIGAD veľmi zriedkavý. Hoci prevažná väčšina postihnutých jedincov je asymptomatická, symptomatickí pacienti trpia opakovanými infekciami, alergiami a autoimunitnými ochoreniami. U niektorých pacientov sa časom vyvinie bežná variabilná imunodeficiencia a u niektorých spontánne ustúpi. Diagnóza spočíva v meraní sérových imunoglobulínov. Pacienti s deficitom IgA, kde $\text{IgA} < 0.02 \text{ g.L}^{-1}$, často vykazujú cirkulujúce protilátky proti IgA, o ktorých sa predpokladá, že sú spojené s transfúznymi reakciami. Anti-IgA protilátky sa vyskytujú asi u 10 % pacientov so selektívnym deficitom IgA (SIGAD) a sú detegované približne u rovnakého percenta pacientov so spoločnou variabilnou imunodeficienciou (CVID). U pacientov s anti-IgA protilátkami existuje riziko vzniku anafylaktoidnej reakcie na substitučnú liečbu gama globulínom, najmä pri intravenóznom podaní.

Hladiny $\text{IgA} < 0.02 \text{ g.L}^{-1}$ sme sledovali turbidimetrickou metódou na analyzátore Optilite (Binding Site), anti IgA protilátky sme vyšetrili inhibičným testom metódou ELISA od firmy Biovendor.

Cieľom práce je poskytnúť prehľad klinického významu stanovenia selektívneho deficitu IgA, sledovania IgG

anti IgA protilátok a návrh odporúčaní komplexného vyšetrenia pacienta s podozrením na selektívny deficit IgA

Významné množstvo anti-IgA protilátok sme našli u 8 % pacientov s najčastejšou primárnou hypogamaglobulinémiou (selektívny deficit IgA a bežné variabilné imunodeficiencie), kde hladina IgA v sére bola nižšia ako 0.02 g.L^{-1} . Znalosť prítomnosti protilátok proti IgA je dôležitá v klinickej praxi, aby sa zabránilo anafylaktickej reakcii pri transfúzii krvi alebo pri substitučnej liečbe imunoglobulínmi.

U pacientov s poruchou tvorby IgA je vhodné vykonať vyšetrenie IgG anti-IgA protilátok, pretože v prípade ich prítomnosti a podania krvnej transfúzie alebo imunoglobulinovej náhrady (napr. u CVID) môže dôjsť k anafylaktoidnej reakcii, z dôvodu vzniku aktivácie komplementu po imunokomplexe.

Kľúčové slová: deficit IgA; bežné variabilné imunodeficiencie

ABSTRACT

Selective IgA deficiency (SIGAD) is considered as the most common primary immunodeficiency. The prevalence in Caucasians is around one in 500, whereas in some Asian populations it is very uncommon. Although the vast majority of affected individuals are asymptom-

atic, symptomatic patients suffer from recurrent infections, allergies and autoimmune diseases. Some patients develop common variable immunodeficiency over time, and some remit spontaneously. Diagnosis is by measuring serum immunoglobulins. Patients with IgA deficiency, $\text{IgA} < 0.02 \text{ g.L}^{-1}$, often demonstrate circulating antibodies against IgA, which have been suggested to be associated with transfusion reactions. Anti-IgA antibodies occur in about 10% of patients with selective IgA deficiency (SIGAD) and are detected approximately in the same percentage of patients with Common Variable Immunodeficiency (CVID). Patients with anti-IgA antibodies are at risk to develop an anaphylactoid reaction to substitution gamma globulin treatment, especially upon intravenous administration data suggested that there was a significant association between anti-IgA antibody presence and the adverse reactions, especially in CVID patients with higher susceptibility to produce this constitutional antibody.

IgA levels lower than 0.02 g.L^{-1} were monitored by the turbidimetric method on the Optilite (analyzer of Binding Site), anti IgA antibodies were examined by the inhibition test using the ELISA method from Biovendor

The aim of the work is to provide an overview of the clinical significance of determining selective IgA deficiency, monitoring of IgG anti IgA antibodies and a proposal for recommendations for a comprehensive examination of a patient suspected of selective IgA deficiency.

We found a significant amount of anti-IgA antibodies in 8% of patients with the most common primary hypogammaglobulinemia (selective IgA deficiency and common variable immunodeficiencies), where the serum IgA level was lower than 0.02 g.L^{-1} . Knowledge of the presence of anti-IgA antibodies is important in clinical practice to prevent an anaphylactic reaction during blood transfusion or immunoglobulin replacement therapy

In patients with a disorder of IgA production, it is advisable to perform an examination of IgG anti-IgA antibodies, because in the case of their presence and administration of blood transfusion or immunoglobulin substitution (eg in CVID), an anaphylactoid reaction may occur due to the activation of complement after the formation of an immune complex.

Key words: IgA deficiency; variable immunodeficiencies

Immu F6

Plne automatický POCT Chemiluminiscenčný imunologický Analyzátor

Point-of-care analyzátor spĺňajúci štandardy laboratórnej kvality

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



Test Menu

Kardiálne markery

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

Markery mozgu

S100
NSE

Nádorové markery

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

Zápalové markery

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

Funkcia štítnej žľazy

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

Koagulačné markery

D-Dimer
FDP
TAT
TM
PIC
tPAI.C

Metabolizmus

25-OH VD
iPTH
hGH

Plodnosť & Hormóny

β-HCG
PROG
AMH
FSH
LH
E2
TESTO
PRL

Anémia

Ferr
Folate
VB12

Distribútor pre SR:

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

MOČOVÁ ANALÝZA

Nabízíme produkty pro použití v laboratořích klinické biochemie a v ordinacích u praktických lékařů.

Analyzátoři řady LAURA



Plně automatický močový analyzátor **LAURA XL** umožňuje chemickou analýzu pomocí testovacích proužků a komplexní analýzu močového sedimentu využívající digitální mikroskopii s novým rozpoznávacím softwarem (na principu AI).

LAURA XL

automatický analyzátor



LAURA

poloautomatický analyzátor močových proužků



LAURA SMART

kompaktní analyzátor močových proužků vhodný i do ambulance

Diagnostické proužky PHAN®

Diagnostické proužky moči **PHAN®** jsou určeny pro stanovení základních parametrů moči.

Proužky jsou navrženy buď pro vizuální hodnocení nebo pro objektivní hodnocení na poloautomatických analyzátořích **LAURA SMART** a **LAURA**.





Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 140–145

DYNAMIKA ZMIEN PARAMETROV OXIDAČNÉHO STRESU U PACIENTOV SO SIRS DYNAMICS OF CHANGES IN OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN PATIENTS WITH SIRS

Katarína Orešanská¹, Lenka Nemcová¹, Anna Dobišová², Ladislav Turecký¹, Monika Ďurfinová¹

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LFUK Bratislava

²Klinika anestéziológie a intenzívnej medicíny, UNB Ružinov, Bratislava

monika.durfinova@fmed.uniba.sk

SÚHRN

Syndróm systémovej zápalovej reakcie (SIRS) predstavuje stav charakterizovaný rozsiahlym zápalovým procesom v organizme, ktorý môže viesť k závažným komplikáciám až prechodu do sepsy. Naša práca bola zameraná na monitorovanie a hodnotenie zmien markerov oxidačného stresu počas 10 dňovej hospitalizácie pacientov so SIRS. V plazme boli monitorované markery oxidačného poškodenia lipidov - malondialdehyd (MDA) a lipoperoxidy (LPO), antioxidantná kapacita plazmy (TAC), hladina kyseliny močovej a alantoínu.

Do súboru bolo zaradených 51 pacientov z Kliniky anestéziológie a intenzívnej medicíny Univerzitnej Nemocnice Ružinov v Bratislave, ktorým boli odobraté vzorky krvi na 1., 3., 5., 7. a 10. deň hospitalizácie. Pacienti boli rozdelení do troch skupín podľa závažnosti stavu: pacienti so SIRS, pacienti so sepsou a pacienti so septickým šokom. Už pacienti so SIRS mali zvýšené hladiny markerov lipoperoxidácie (MDA, LPO) v porovnaní so zdravými kontrolami. Počas hospitalizácie bol naznačený nárast parametrov oxidácie lipidov u pacientov so SIRS. V porovnaní so sepsou a septickým šokom boli hodnoty MDA a LPO nižšie, čo poukazuje na zvýšenú účasť oxidačného stresu na závažnosti multiorgánového zlyhávania. Medzi pacientmi s vyššou (pacienti, ktorí zomreli) a nižšou (pacienti, ktorí prežili) mortalitou sa nepreukázali významné rozdiely MDA a

LPO v plazme. Hladiny alantoínu, produktu spontánnej oxidácie kyseliny močovej, boli vyššie u pacientov so SIRS s vyššou mortalitou, čo naznačuje, že intenzívnejšia antioxidantná aktivita kyseliny močovej môže byť spojená s priaznivejšou prognózou pacientov. Súčasne počas hospitalizácie narastala aj celková antioxidantná kapacita plazmy (TEAC).

Z našich výsledkov vyplýva, že monitorovanie parametrov oxidačného stresu by mohlo byť vhodný doplnkový marker pri posudzovaní prognózy pacientov so SIRS a optimalizácii terapeutických prístupov.

Kľúčové slová: SIRS; oxidačný stres; lipoperoxidácia; antioxidantná kapacita

ABSTRACT

Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) represents a condition characterized by a prevalent inflammatory process within the body, which can lead to severe complications and often precedes the onset of sepsis. Our study was focused on monitoring and evaluating changes in oxidative stress markers during a 10-day hospitalization period in patients developing SIRS. The monitored markers included lipid oxidative damage indicators—malondialdehyde (MDA) and lipoperoxides (LPO), total plasma antioxidant capacity (TEAC), and lev-

els of uric acid and allantoin in plasma, measured using HPLC methods.

The study consists of 51 patients from the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine at University Hospital Ružinov in Bratislava, with blood samples taken during the 1st, 3rd, 5th, 7th, and 10th day of hospitalization. The patients were categorized into three groups based on the severity of their condition: patients with SIRS, patients with sepsis, and patients with septic shock. Patients with SIRS showed elevated levels of lipid peroxidation markers (MDA, LPO) compared to healthy controls. During hospitalization, an increase in lipid oxidation parameters were observed in patients with SIRS. In comparison to sepsis and septic shock, the levels of MDA and LPO were lower, indicating an increased involvement of oxidative stress in the severity of multi-organ failure. No significant differences in plasma MDA and LPO levels were found between patients with positive (patients died) and negative (patients survived) mortality. However, allantoin levels, a product of uric acid oxidation, were higher in SIRS patients with positive mortality, suggesting that a more intense antioxidant activity of uric acid might be associated with a more favorable prognosis. Concurrently, the total plasma antioxidant capacity (TEAC) increased during hospitalization.

Our findings suggest that monitoring oxidative stress parameters could serve as a valuable supplementary markers in evaluation the prognosis of patients with SIRS and optimizing therapeutic approaches.

Key words: SIRS; oxidative stress; lipoperoxidation; antioxidant capacity

ÚVOD

Sepsa a syndróm systémovej zápalovej odpovede (SIRS) predstavujú dva závažné klinické stavy s vysokou morbiditou a mortalitou, ktoré si vyžadujú komplexný medicínsky prístup. Sepsa je definovaná ako život ohrozujúca orgánová dysfunkcia spôsobená dysregulovanou odpoveďou organizmu na infekciu, zatiaľ čo SIRS je nešpecifická zápalová odpoveď organizmu na rôzne systémové inzulty, vrátane infekčných a neinfekčných príčin. Septický šok, najťažšia forma sepsy, je charakterizovaný pretrvávajúcou hypotenznou a orgánovou dysfunkciou a je spojený s vyššou mortalitou (1).

Sepsa a septický šok patria medzi dve hlavné príčiny smrti na jednotkách intenzívnej starostlivosti (JIS) na

svete, ktorým denne podľahne okolo 1400 pacientov. Incidencia sepsy narastá ročne o takmer 9%, pričom celosvetová mortalita sa pohybuje okolo 50%. Príčina tejto vysokej úmrtnosti je spojená so súčasnými neadekvátnymi možnosťami diagnostiky a terapie týchto stavov (2).

Definícia SIRS

Syndróm systémovej zápalovej odpovede (SIRS) je komplexná klinická odpoveď organizmu na rôzne stimuly, vrátane infekcií, traumy, popálenín, pankreatitídy a ischémie. Definícia SIRS zahŕňa prítomnosť aspoň dvoch z nasledujúcich kritérií: teplota tela nad 38°C alebo pod 36°C, srdcová frekvencia nad 90 úderov/min., dýchanie nad 20 vdychov/min., parciálny tlak CO₂ v arteriálnej krvi pod 32 mmHg, leukocytóza (viac ako 12000/mm³), leukocytopenia (menej ako 4000/mm³) alebo viac ako 10% nezrelých foriem leukocytov. Pacient s aspoň dvoma kritériami je diagnostikovaný ochorením SIRS (3). Evolúcia definícií a diagnostických kritérií pre sepsu, SIRS a septický šok reflektuje snahu o presnejšie identifikovanie a manažment týchto stavov s cieľom efektívnejšieho terapeutického podchytenia priebehu septických stavov. V roku 2016 bola publikovaná tretia medzinárodná konsenzuálna definícia sepsy (Sepsis-3), ktorá zvýraznila dôležitosť orgánovej dysfunkcie v diagnostike sepsy a zaviedla nový koncept qSOFA (quick Sequential Organ Failure Assessment) pre rýchlu identifikáciu pacientov s podozrením na sepsu (3).

Zatiaľ čo tieto kritériá sú široko akceptované, nešpecifikujú základný patofyziologický mechanizmus, ktorý vedie k vzniku SIRS. Jedným z kľúčových aspektov patofyziológie SIRS je oxidačný stres (4). Oxidačný stres vzniká v dôsledku nerovnováhy medzi tvorbou reaktívnych kyslíkových foriem (ROS) a schopnosťou antioxidantných systémov neutralizovať tieto reaktívne molekuly. ROS sú nestabilné molekuly, ktoré ľahko interagujú s inými molekulami v bunke, čo môže viesť k poškodeniu bunkových komponentov, ako sú lipidy, proteíny a DNA až k zániku samotných buniek.

SIRS a oxidačný stres

Oxidačný stres je obzvlášť významný v kontexte SIRS, pretože nadmerná tvorba ROS môže spôsobiť poškodenie tkanív a orgánov, čo vedie k multiorgánovému zlyhaniu. Na druhej strane, ROS tiež zohrávajú dôležitú úlohu v imunitnej obrane tým, že pomáhajú ničiť patogény. Táto dvojznačná úloha ROS vytvára komplexnú dynamiku, kde

rovnováha medzi škodlivými a prospešnými účinkami ROS je kritická pre priebeh a výsledok SIRS (4).

Oxidačný stres je možné hodnotiť pomocou rôznych parametrov, vrátane produktov lipidovej peroxidácie, ako je malondialdehyd (MDA) a 8-iso-prostaglandín F_{2α} (8-iso-PGF_{2α}), ako aj aktivít antioxidantných enzýmov ako superoxidodismutáza (SOD), kataláza (CAT) a glutatiónperoxidáza (GPx). Celková antioxidantná kapacita (TAC) poskytuje súhrnný pohľad na schopnosť séra alebo plazmy neutralizovať ROS.

Porozumenie dynamike zmien týchto parametrov v priebehu SIRS je kľúčové pre diagnostiku, monitorovanie a terapeutické intervencie. Akútna fáza SIRS je charakterizovaná prudkým nárastom ROS, čo vedie k zvýšeniu hladín MDA a 8-iso-PGF_{2α}, ako aj k počiatočnému zvýšeniu aktivity antioxidantných enzýmov (5). V subakútnej a chronickej fáze môžu byť tieto antioxidantné enzýmy vyčerpané, čo vedie k zvýšeniu oxidačného stresu a ďalšiemu poškodeniu tkanív.

Oxidačný stres hrá zásadnú úlohu nielen v patofyziológii SIRS, ale aj v jeho komplikáciách, ako sú sepsa, septický šok a multiorgánové zlyhanie. Monitorovanie parametrov oxidačného stresu a cielenej antioxidantnej terapie môže byť kľúčové pre zlepšenie klinických výsledkov u pacientov so SIRS. Vzhľadom na túto komplexnosť je nevyhnutné, aby sa ďalšie štúdie zamerali na detailnejšie pochopenie mechanizmov oxidačného stresu pri SIRS a na vývoj účinných terapeutických stratégií.

MATERIÁL A METÓDY

Biologický materiál

Do štúdie bolo zaradených 51 pacientov, ktorí boli prijatí na JIS I. Kliniky anesteziológie a intenzívnej medicíny LF UK a UNB so SIRS, sepsou alebo septickým šokom. Vek pacientov sa pohyboval od 20 do 85 rokov, s priemerným vekom 55 rokov. Z celkového počtu bolo 34 mužov a 17 žien. Pacienti boli zaradení do štúdie a rozdelení na základe klinických príznakov a laboratórnych výsledkov spĺňajúcich kritériá jednotlivých skupín: skupina pacientov so SIRS (16 pacientov), sepsou (18 pacientov) a septickým šokom (17 pacientov). Analýza parametrov bola uskutočnená z krvnej plazmy.

Oxidačné poškodenie lipidov bolo posudzované stanovením *lipoperoxidov (LPO)* v plazme pacientov spektrofotometricky prostredníctvom upravenej metódy podľa Jessup a kol. (1994).

Stanovenie *malondialdehydu (MDA)*, koncového produktu degradácie lipidov, bolo uskutočnené modifikovanou metódou podľa Ohkawa a kol. (1979).

Celková antioxidantná kapacita (TAC) bola posudzovaná spektrofotometricky dekolorizačnou metódou TEAC - Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, modifikované podľa Re a kol (1999).

Pri stanovení konečného produktu degradácie purínových nukleotidov - *kyseliny močovej (KM)* a *alantoínu* v plazme bola použitá modifikovaná metóda HPLC podľa Lux a kol. (1992).

Pri štatistickom spracovaní výsledkov bol použitý program StatsDirect, Statistical Analysis Software 2.7.2 (Statsdirect, Birkenhead, UK). Výsledky sú udávané ako medián a interkvartilový rozptyl (Q1-Q3: 25–75 %). Vyhodnotenie neparametrických výsledkov – Kruskal – Wallis test; vyhodnotenie štatistickej významnosti Mann-Whitney test ($p \leq 0,05$); posúdenie korelácie parametrov – Spearmanov test ($p \leq 0,05$)).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Práca bola zameraná na posúdenie zmien parametrov oxidačného stresu počas 10. dňovej hospitalizácie pacientov so SIRS na JIS. Zároveň bola posudzovaná hodnota týchto parametrov pri predikcii zhoršenia stavu pacientov a zvýšeného rizika ich mortality. Príčinou rozvoja SIRS u nami sledovaných pacientov bola najmä polytrauma. Sepsa a septický šok vznikali najmä z respiračných alebo abdominálnych infekcií. V priebehu týchto stavov (SIRS, sepsa, septický šok) majú na rozvoji oxidačného stresu podiel viaceré faktory. Fagocytujúce bunky následkom neprimeranej zápalovej reakcie produkujú voľné radikály, ktoré za týchto podmienok pôsobia aj na okolité tkanivá organizmu a ich reaktivita spúšťa reťazové reakcie s výsledným rozsiahlym poškodením buniek, ktoré môže viesť až k smrti. V dôsledku hypoperfúzie a ischémie môžu byť zdrojom voľných radikálov tiež bunkové organely (mitochondrie); indukovateľná NO syntáza stimulovaná zápalovou reakciou prispieva k produkcii voľných radikálov a prooxidačných molekúl, rovnako ako metabolická kaskáda kyseliny arachidónovej.

V porovnaní so skupinou pacientov so sepsou a septickým šokom, najvyšší počet pacientov, ktorí ochoreniu podľahli bol u pacientov so SIRS (tabuľka 1). Pacientov sme rozdelili do skupín na základe mortality – vyššia mortalita označuje pacientov, ktorí ochoreniu podľahli; nižšia mortalita označuje pacientov, ktorí hospitalizáciu prežili.

Tabuľka 1 Charakteristika pacientov v testovanom súbore

Kategória	SIRS	Sepsa	Septický šok
Počet pacientov	16	18	17
Muži	9	14	11
Ženy	7	4	6
Vek (medián, Q1-Q3)	52,5 (41-70,5)	63 (49-68)	59,5 (57-69,5)
Nižšia mortalita	2	5	6
Vyššia mortalita	14	13	11

Hodnoty sú uvedené ako medián a interkvartilové rozpätie (Q1-Q3, 25%-75%)

Hladiny MDA, ktoré sú indikátorom lipidovej peroxidácie, vykazujú v monitorovaní stúpajúci trend od prvého do desiateho dňa hospitalizácie (tabuľka 2). Tento nárast naznačuje, že u pacientov so SIRS dochádza k pretrvávajúcemu a zvyšujúcemu sa oxidačnému stresu počas obdobia sledovania na JIS. Zvýšené hladiny MDA môžu byť výsledkom neustálej aktivácie zápalových procesov, ischemicko-reperfúzných zmien, neefektívnej antioxidačnej obrany a intenzívnej peroxidácie lipidov spôsobenej dysregulovanou imunitnou odpoveďou organizmu (6). Porovnanie s inými štúdiami ukazuje konzistentné výsledky (6, 9).

Koncentrácia LPO taktiež naznačuje prítomnosť oxidačného stresu, avšak ich dynamika je menej výrazná ako pri MDA.

Sledované parametre počas hospitalizácie nevykazovali štatisticky významne zmeny pre nami vybranú skupinu pacientov so SIRS. Sledovaná dynamika parametrov

však naznačuje zmeny, ktoré by mohli byť nápomocné v posudzovaní dynamiky vývoja ochorenia, resp. v predpokladaní prechodu medzi ľahším (SIRS) a závažnejším (sepsa, septický šok) stavom pacienta.

Medzi pacientmi s vyššou a nižšou mortalitou sa nepreukázali signifikantné rozdiely MDA a LPO v plazme (Tabuľka 3).

Tabuľka 3 Porovnanie hodnôt MDA a LPO medzi pacientami s vyššou a nižšou mortalitou

Mortalita	MDA [$\mu\text{mol/l}$]	LPO [mmol/l]
Nižšia	4,659 (2,855-6,347)	0,068 (0,0505-0,0905)
Vyššia	3,673 (2,428-9,382)	0,095 (0,054-0,1275)

Hodnoty sú uvedené ako medián a interkvartilové rozpätie (Q1-Q3, 24%-75%). MDA – malondialdehyd, LPO – lipoperoxidy

U pacientov s vyššou mortalitou boli zistené vyššie hodnoty LPO, zatiaľ čo hodnoty MDA dosahovali nižšie hodnoty. Tento nález je v rozpore s publikovanou prácou Lorente et al. (7), kde koncentrácie MDA dosahovali signifikantne vyššie hodnoty u pacientov, ktorí neprežili. Výsledky spomenutej práce predpokladajú vyššiu intenzitu oxidačného poškodenia lipidov u pacientov, ktorí podľahli septickému stavu a zároveň naznačujú význam pre pozorovanie dynamiky rozvoja septického stavu práve prostredníctvom markerov oxidačného poškodenia lipidov. V nami prezentovaných výsledkoch ide o pacientov so SIRS (nie sepsu), z toho dôvodu sme pravdepodobne nepozorovali signifikantné rozdiely v hladinách MDA a LPO.

Tabuľka 2 Dynamika zmien vybraných parametrov oxidačného stresu v priebehu hospitalizácie u pacientov so SIRS

Parameter	1. deň hospitalizácie	3. deň hospitalizácie	5. deň hospitalizácie	7. deň hospitalizácie	10. deň hospitalizácie
MDA [$\mu\text{mol/l}$]	3,71 (2,79-5,07)	3,74 (2,79-4,901)	4,377 (2,81 - 4,87)	4,756 (2,77 - 8,41)	5,353 (2,92-9,54)
LPO [mmol/l]	0,077 (0,051-0,095)	0,07 (0,049-0,088)	0,075 (0,057-0,089)	0,088 (0,056-0,095)	0,082 (0,067-0,089)
TEAC [mmol/l]	2,96 (2,72-3,48)	3,01 (2,88-3,4)	3,3 (2,57-3,52)	3,14 (2,98-3,35)	3,25 (2,99-3,91)
KM [$\mu\text{mol/l}$]	248,71 (188,73-323,48)	187,9 (87,12-218,45)*	147,31 (94,5-179,34)*	123,17 (84,64-200,28)*	141,95 (95,63-268,85)*
Alantoín [$\mu\text{mol/l}$]	24,79 (13,61-34,93)	15,61 (12,48-33,6)	16,25 (11,83-24,81)	17,73 (13,17-24,18)	19,02 (16,58-35,86)

Hodnoty sú uvedené ako medián a interkvartilové rozpätie (Q1-Q3, 24%-75%). MDA – malondialdehyd, LPO – lipoperoxidy, TEAC – antioxidačná kapacita plazmy, KM – kyselina močová, * $p < 0,05$ štatisticky významné rozdiely voči prvému dňu hospitalizácie.

Tabuľka 4 Dynamika zmien koncentrácie MDA a LPO v jednotlivých skupinách pacientov počas hospitalizácie

Parameter	SIRS	Sepsa	Septický šok
MDA [$\mu\text{mol/l}$]			
1. deň hospitalizácie	3,71 (2,79-5,07)	3,338 (2,68-7,61)	5,981 (3,23-9,32)
3. deň hospitalizácie	3,74 (2,79-4,90)	3,762 (2,93-6,24)	4,059 (2,97-8,22)
5. deň hospitalizácie	4,377 (2,87-4,87)	4,498 (2,97-6,25)	3,97 (1,98-5,57)
7. deň hospitalizácie	4,756 (2,77-8,41)	3,422 (2,07-6,00)	3,733 (2,97-5,70)
10. deň hospitalizácie	5,353 (2,92-9,54)	3,843 (2,74-5,46)	4,90 (2,46-8,01)
LPO [mmol/l]			
1. deň hospitalizácie	0,077 (0,051-0,095)	0,062 (0,049-0,106)	0,12 (0,073-0,18)
3. deň hospitalizácie	0,07 (0,049-0,088)	0,064 (0,054-0,078)	0,094 (0,071-0,237)
5. deň hospitalizácie	0,075 (0,057-0,089)	0,062 (0,045-0,080)	0,063 (0,061-0,13)
7. deň hospitalizácie	0,088 (0,067-0,093)	0,068 (0,046-0,091)	0,076 (0,064-0,146)
10. deň hospitalizácie	0,082 (0,067-0,089)	0,066 (0,051-0,079)	0,068 (0,049-0,211)
TEAC [mmol/l]			
1. deň hospitalizácie	2,96 (2,72-3,48)	2,9 (2,48-4,15)	3,06 (2,61-4,15)
3. deň hospitalizácie	3,01 (2,88-3,4)	3,24 (2,54-4,3)	3,1 (2,81-3,67)
5. deň hospitalizácie	3,3 (2,57-3,52)	3,5 (2,52-3,8)	3,45 (2,81-4,33)
7. deň hospitalizácie	3,14 (2,98-3,35)	3 (2,54-3,76)	3,36 (3,13-3,85)
10. deň hospitalizácie	3,25 (2,99-3,91)	3,34 (2,7-3,9)	3,27 (2,99-3,73)

Hodnoty sú uvedené ako medián a interkvartilové rozpätie (Q1-Q3, 24%-75%). MDA – malondialdehyd, LPO – lipoperoxidy;

V nami sledovanej skupine pacientov sa nepreukázali významné zmeny MDA a LPO počas hospitalizácie (tabuľka 2, tabuľka 4), ani medzi skupinami pacientov so septickým šokom, resp. sepsou voči skupine pacientov so SIRS. Štatistická analýza medzi jednotlivými skupinami pacientov voči SIRS pacientom ukázala nesignifikantné zmeny. Napriek tomu, v porovnaní so zdravými kontrolami publikovanej štúdie (7) sa jedná o významný nárast. Zvýšené hodnoty MDA by preto mohli slúžiť ako prognostický marker závažnosti ochorenia pacienta. V porovnaní so sepsou a septickým šokom boli hodnoty MDA a LPO u pacientov so SIRS nižšie, čo poukazuje na zvýšenú účasť oxidačného stresu na závažnosti multiorgánového zlyhávania. MDA a LPO dosahovali najvyššie hodnoty pri prijímaní pacientov na hospitalizáciu u skupiny so septickým šokom (tabuľka 4). Tieto výsledky naznačujú možnosť využitia markerov oxidačného stresu ako prognostických faktorov pri sepe a septickom šoku.

Obranný mechanizmus voči oxidačnému poškodeniu bunkových komponentov tvoria enzymatické (napr. superoxidodismutáza, glutatiónperoxidáza) aj neenzymatické antioxidanty (napr. kyselina močová, albumín, bilirubín,

vitamín A, C, E). Schopnosť organizmu neutralizovať voľné radikály meraná metódou TEAC v skupine pacientov so SIRS (tabuľka 2) vykazuje mierne kolísanie počas hospitalizácie. Tieto zmeny však neboli štatisticky významné. Tento trend naznačuje, že antioxidačná kapacita plazmy sa postupne vyčerpáva pokračujúcim oxidačným stresom, čo môže prispieť k zhoršeniu stavu pacienta.

Výsledky merania celkovej antioxidačnej kapacity plazmy počas celej doby hospitalizácie (1.-10.deň) naznačujú rozdiel v porovnaní skupín pacientov SIRS vs sepsa (Z skóre = -0,9825; $p = 0,014$), čo by mohlo poukazovať na lepšiu reakciu pacienta na priebeh podpornej antioxidačnej liečby podávanej počas celej hospitalizácie, pokiaľ bol daný pacient prijatý v menej závažnom stave, tj v stave SIRS.

Koncentrácia kyseliny močovej vykazuje zostupný trend počas hospitalizácie u pacientov so SIRS (tabuľka 2). Najvýraznejší pokles pozorujeme v prvých dňoch hospitalizácie. Pokles koncentrácie kyseliny močovej je štatisticky významný počas hospitalizácie voči prvému dňu (tabuľka 2). Tieto zmeny môžu vznikáť ako následok pozitívneho efektu antiinfekčnej liečby, ako aj využitia KM pri antioxidačnej ochrane bunky. Signifikantný pokles kyseliny mo-

čovej pozorovaný dynamicky v čase počas hospitalizácie u pacientov so SIRS možno odôvodniť oxidáciou KM na alantoín. Hladiny alantoínu boli signifikantne vyššie u pacientov s vyššou mortalitou. U pacientov so SIRS bol zaznamenaný signifikantný pokles koncentrácie KM (tabuľka 2) počas hospitalizácie, čo naznačuje, že intenzívnejšia antioxidantná aktivita kyseliny močovej môže byť spojená s priaznivejšou prognózou pacientov. Koncentrácia alantoínu v plazme narastala v smere zvýšenej závažnosti stavu pacientov (tabuľka 5). Signifikantne vyššie hodnoty alantoínu u pacientov s vyššou mortalitou a súčasný pokles kyseliny močovej u týchto pacientov poukazuje na intenzívnejšiu antioxidantnú aktivitu kyseliny močovej (8). Štatisticky významné zvýšenie koncentrácie alantoínu bolo zaznamenané u pacientov so sepsou a septickým šokom v porovnaní so SIRS, čo poukazuje na význam kyseliny močovej ako antioxidantu pri zlyhávaní organizmu.

Tabuľka 5 Porovnanie hodnôt kyseliny močovej a alantoínu medzi pacientmi s vyššou a nižšou mortalitou z celého súboru

Mortalita	Kyselina močová [umol/l]	Alantoín [umol/l]
Nižšia	254,54 (209,06 - 351,79)	29,95 (14,26 - 41,42)
Vyššia	182,22 (172,64 - 402,91)	57,97 (35,24 - 60,055)*

Hodnoty sú uvedené ako medián a interkvartilové rozpätie (Q1-Q3, 25%-75%). * $p < 0,05$ štatisticky významné rozdiely medzi skupinou pacientov s nižšou mortalitou v porovnaní s vyššou mortalitou.

ZÁVER

V súčasnosti sa mnohé vedecké práce usilujú o popísanie presného mechanizmu rozvoja sepsy s cieľom uľahčiť a urýchliť diagnostiku vďaka zadefinovaniu špecifického markera a tým zlepšiť prognózu pacientov. Dynamika zmien parametrov oxidačného stresu u pacientov so SIRS poukazuje na komplexnú odpoveď organizmu na systémový zápal. Zvýšenie MDA v akútnom štádiu ochorenia naznačuje intenzívny oxidačný stres, ktorý je následne kompenzovaný aktiváciou antioxidantných mechanizmov. Signifikantný pokles kyseliny močovej pozorovaný počas hospitalizácie u pacientov so SIRS poukazuje na zapojenie sa KM do antioxidantných procesov, čo je v súlade s nárastom koncentrácie alantoínu.

Aj naše výsledky podporujú význam systematického sledovania oxidačného stresu u pacientov so SIRS, čo môže prispieť k lepšiemu riadeniu liečby a zníženiu morbidity a mortality spojených s týmto ochorením.

LITERATÚRA

- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al.** Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*. 1992;101(6):1644-1655.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al.** The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama*, 2016 Feb 23;315(8):801-10. doi: 10.1001/jama.2016.0287. PMID: 26903338; PMCID: PMC4968574.
- Marik P.E., Taeb A.M.** SIRS, qSOFA and new sepsis definition. *J Thorac Dis*. 2017 Apr; vol. 9, iss.4., p: 943-945. doi: 10.21037/jtd.2017.03.125. PMID: 28523143; PMCID: PMC5418298.
- Valko M, et al. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1):44-84.
- Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. (2005).** A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4):316-328.
- Andersen, M., Regueira, T. et al.** Lipoperoxidation and Protein Oxidative Damage Exhibit Different Kinetics During Septic Shock. *Mediators of Inflammation*. [online]. 2008. <https://www.hindawi.com/journals/mi/2008/168652>
- Lorente, L., Martin, M. et al.** Prognostic Value of Malondialdehyde Serum Levels in Severe Sepsis: A Multicenter Study. *PLOS One*. [online]. 2013, vol.8, iss.1. <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0053741&type=printable>
- Ďurfinová, M., Dobišová, A. a kol.** Vzťah vybraných parametrov oxidačného stresu k mortalite pacientov s rôznym stupňom systémovej zápalovej reakcie organizmu. *Laboratórna diagnostika*. [online]. 2021, vol. 26. no.1, p. 43-47. <https://www.sskb.sk/portal/wp-content/uploads/2021/05/lab-diag-1-21-web.pdf>
- Zhang, H., Slutsky, A. S. et al.** Oxygen free radicals in ARDS, septic shock and organ dysfunction. *Intensive Care Medicine*. 2000, vol. 6, p. 474-476.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 146–153

ANALÝZA ZMENY EXPRESIE VYBRANÝCH NEKÓDUJÚCICH RNA MOLEKÚL V PATOLÓGIÁCH REPRODUKČNÉHO SYSTÉMU A ICH POTENCIÁLNE VYUŽITIE V LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKE

ANALYSIS OF CHANGES IN THE EXPRESSION OF SELECTED NON-CODING RNA MOLECULES IN PATHOLOGIES OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM AND THEIR POTENTIAL USE IN LABORATORY DIAGNOSTICS

Silvia Mihóková^{1,2}, Peter Urdzík², Miroslava Rabajdová¹

¹Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF, LF UPJŠ v Košiciach, Košice

²Gynekologicko – pôrodnícka klinika UPJŠ LF a UNLP, Košice

silvia.mihokova@student.upjs.sk

SÚHRN

Nekódujúce RNA predstavujú funkčné molekuly ribonukleovej kyseliny tvoriace rozsiahly segment transkriptómu, ktorý sa v rôznej miere uplatňuje vo fyziologických a patologických procesoch. Preukazujúc nielen diagnostický potenciál sú oprávnené tieto molekuly predmetom rozsiahlych výskumov. Predkladaná práca poskytuje prehľad zapojenia nekódujúcich RNA molekúl do patológií reprodukčného systému a prakticky sa opiera o analýzu zmeny expresie vybraných microRNA (miRNA, miR), konkrétne miR-99 a miR-17-5p, v plazme pacientiek s karcinómom endometria, cervixu uteru a endometriózou prostredníctvom metódy kvantitatívnej Real Time polymerázovej reťazovej reakcie (qReal-Time PCR). Dosiahnuté výsledky dokumentujú súvislosť medzi mierou expresie vybraných molekúl a uvedenými patológiami, čím naznačujú potenciálne možnosti využitia nekódujúcich RNA molekúl v diagnostickej praxi.

Kľúčové slová: nekódujúce RNA; biomarker; uterus; karcinóm

ABSTRACT

Non-coding RNAs are functional ribonucleic acid molecules forming a large segment of the transcriptome, which is involved in physiological and pathological pro-

cesses. Demonstrating not only diagnostic potential, these molecules are justifiably the subject of research. The present work provides an overview of the involvement of non-coding RNA molecules in the pathologies of the reproductive system and is practically based on the analysis of the expression changes of selected miRNAs, namely miR-99 and miR-17-5p, in the plasma of patients with endometrial carcinoma, uterine cervix and endometriosis by qReal-Time PCR. The achieved results demonstrated an association between the expression levels of the selected molecules and the aforementioned pathologies suggesting the potential use of non-coding RNA molecules in diagnostic practice.

Key words: non – coding RNAs; biomarker; uterus; carcinoma

ÚVOD

Eukaryotické genómy sú neustále dôsledne transkribované. Okrem RNA kódujúcich proteíny existujú rôzne typy funkčných nekódujúcich RNA (ncRNA) molekúl, ktoré modulujú komplexné molekulové a bunkové procesy, pričom nie sú prekladané do výsledného proteínu v procese translácie.

Technológie sekvenovania RNA a bioinformatické metódy výrazne podporili výskum a štúdium ncRNA, čím

zásadne prispeli k poznaniu úlohy ncRNA v rôznych aspektoch ich biologických funkcií. Ako dôležití účastníci v regulačných sieťach génov ncRNA spolupracujú s inými biomolekulami vrátane kódujúcich a nekódujúcich RNA, DNA a proteínov (Zhang a kol., 2019).

Deregulácia ncRNA bola pozorovaná pri viacerých typoch nádorov v spojení s bunkovými procesmi ako je transkripcia, vnútrobunkové presuny a remodelácia chromozómov (Carvalho de Oliveira a kol., 2019). Rozsiahle a neustále prebiehajúce štúdie už viackrát preukázali, že ncRNA majú potenciál stať sa možnými biomarkermi pri diagnostike a spresnení prognózy aj tejto skupiny ochorení aj vďaka ich dostupnosti, nakoľko je možné ich neinvazívne získať z telesných tekutín, tkanív a buniek (Qian, Shi and Luo, 2020).

Nielen patologické procesy, ako kancerogenéza, ale aj fyziologické, ako samotný embryonálny vývoj, sú regulované interakciou viacerých faktorov, a práve dlhé nekódujúce RNA molekuly (lncRNA) boli nedávno identifikované ako dôležité regulátory mnohých z nich, napríklad určovania pohlavia (Golicz a kol., 2018), hormonálnych odpovedí (Sanbonmatsu, 2022) a negenetickej dedičnosti (Cheuquemán and Maldonado, 2021). Zároveň sa podieľajú na morfogéneze, čo je proces, ktorý ovplyvňuje tvorbu štruktúr a orgánových systémov embrya, a na apoptóze, ktorá je podstatným prvkom správneho vývoja orgánov a odstránenia nepotrebných buniek (Shahbazi, 2020). Pochopenie ich regulačného a funkčného mechanizmu dokáže výrazne napomôcť pri prenatalnej diagnostike a zároveň zvýšiť úspešnosť technológií asistovanej reprodukcie v oblasti implantácie embryí, receptivity endometria a gravidity samotnej (Shekibi a kol., 2022).

KARCINÓM ENDOMETRIA

Karcinóm endometria (EC) je štatisticky považovaný za najčastejšie sa vyskytujúci gynekologický nádor v Európe (Restaino a kol., 2023). Na základe histologických charakteristík, expresie špecifických proteínov a gradingu sa klasifikuje EC do dvoch podtypov: endometroidný a neendometroidný.

Endometroidný typ, ktorý predstavuje 80% prípadov, je zvyčajne dobre diferencovaný a prognosticky priaznivý. Na molekulovej úrovni sa väčšina tohto nádorového typu spája so zníženou alebo chýbajúcou expresiou fosfatázy a tenzínového homológu a s nadmernou expresiou estrogénového receptora, ktoré podporujú deregulovanú bunkovú proliferáciu (Mahdy a kol., 2022).

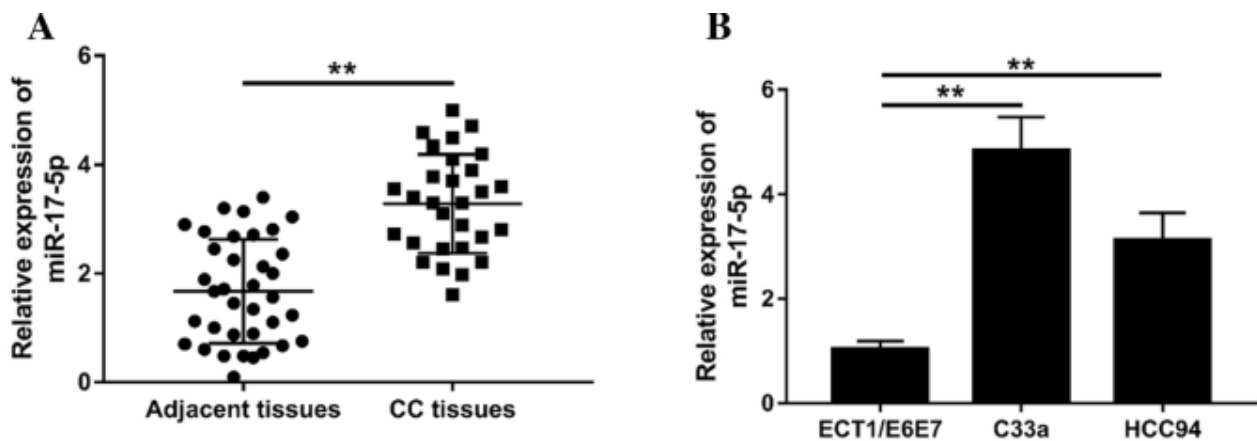
Druhý typ, neendometroidný karcinóm endometria, nie je asociovaný s hladinou estrogénu a štatisticky tvorí len 10-20% podiel prípadov EC. Je charakteristický horšou prognózou, pretože je zvyčajne diagnostikovaný až v čase prítomnosti metastáz. Na molekulovej úrovni vykazujú vzorky tkaniva z neendometroidného karcinómu endometria vysokú expresiu inhibítora cyklín dependentnej kinázy 2A (CDKN2A alebo P16) a nádorového proteínu p53 (TP53), čo vedie k rozmnožovaniu aberantných buniek a nekontrolovanému rastu (Campos, 2022)

LncRNA a miRNA v patogenéze karcinómu endometria

Analýza expresie nekódujúcich RNA (ncRNA) v karcinómoch endometria má význam pre pochopenie neoplastickej endometriálnej transformácie. Tieto RNA transkripty sú možnými biomarkermi včasnej neoplastickej transformácie tkaniva, pričom ich význam môže byť ešte väčší, než sa pôvodne predpokladalo (Vallone a kol., 2018).

Antisense intergénová RNA transkriptu homeobox (HOTAIR), prepisovaná z antisense vlákna chromozómu 12 v génovom klastru homeobox C klaster (HOXC), už bola skúmaná v mnohých solídnych tumoroch (Fang a kol., 2016). Vysoká expresia tejto molekuly podporuje proliferáciu malígnych buniek a zároveň inhibuje apoptózu prostredníctvom aktivácie fosfatidylinozitol-3-kinázovej dráhy (PI3K/Akt) cez väzbu na fosfatázu a tenzínový homológ (PTEN), čo by mohlo byť prognostickým markerom a zároveň terapeutickým cieľom endometriálneho karcinómu (Zhang a kol., 2019). Zároveň sa analýzou preukázalo, že HOTAIR interaguje s miR-646 a touto interakciou reguluje životaschopnosť, migráciu a invazivitu buniek karcinómu endometria. Vzhľadom na rôznorodosť funkcií sa lncRNA správajú ako nádorové supresory alebo onkogény tým, že zasahujú do rôznych bunkových procesov súvisiacich s kancerogézou vrátane bunkového rastu, diferenciácie a metastázovania (Zhou a kol., 2018).

Významnou a jednou z najlepšie charakterizovaných rodín miRNA v korelácii s metastatickým potenciálom v prípade karcinómu endometria sa preukázala miR-200. Pozostáva z piatich miRNA (miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 a miR-429), ktoré negatívne ovplyvňujú expresiu Zinc finger E – box binding proteínov 1 a 2 (ZEB-1/2) a zohrávajú kľúčovú úlohu pri prechode z epitelu na mezenchým (Guo a kol., 2020; Jo a kol., 2022). V prípade karcinómu endometria je tento biologický proces obzvlášť



Graf č. 1 Relatívna expresia miR-17-5p v nádorovom tkanive karcinómu cervixu uteru, upravené podľa Zou and Zhang, 2021.

dôležitý, pretože invázia do myometria je jedným z najdôležitejších prognostických faktorov rizika rozšírenia ochorenia mimo maternice, najmä lymfatických uzlín. Viaceré štúdie zaznamenali dereguláciu miR-200c v tkanivách EC v porovnaní s fyziologickým tkanivom (Guo a kol., 2020).

KARCINÓM CERVIXU UTERU

Karcinóm krčka maternice patrí podobne, ako karcinóm endometria, medzi najrozšírenejšie gynekologické malignity v populácii vyspelých krajín s vysokou mortalitou. Vzniká v dôsledku infekcie epitelu krčka maternice ľudským papilomavírusom (HPV), rozvíja sa do cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie a ďalej do invazívneho skvamocelulárneho karcinómu. Medzi HPV typy vírusov s vysokým rizikom vyvolania prekancerózných zmien patria subtypy: 16 a 18, respektíve je možné tu zaradiť aj 31, 33, 35 a 51 (Kumar a kol., 2020).

Expresia miR-17-5p v karcinóme cervixu uteru

MikroRNA (miRNA) sa podieľajú na modulácii porúch bunkového cyklu skvamózných buniek krčka maternice, na nadobúdaní ich invazívnych schopností, transformácii epitelových buniek a ďalších procesoch podporujúcich vznik a vývoj karcinómu cervixu. Vzhľadom na paletu ich funkcií, mohli by byť včasným diagnostickým a prognostickým biomarkerom tohto ochorenia (Tornesello a kol., 2020). MiRNA ako regulátory na posttranskripčnej úrovni inhibujú transláciu mediátorovej RNA (mRNA) alebo katalyzujú jej štiepenie, aby došlo k inhibícii expresie cieľovej mRNA (Zou and Zhang, 2021).

MiR-17-5p je členom klastra miR-17-92, ktorý sa zvyčajne podieľa na dysregulovaných fyziologických procesoch pri nádorových ochoreniach. MiR-17-5p preukazuje tka-

nivovú špecifickosť u pacientiek s karcinómom krčka maternice a v budúcnosti má potenciál slúžiť ako marker na včasnú detekciu, predpovedanie prognózy a monitorovanie odpovede na liečbu (Shukla a kol., 2019). Predošlé výskumy dokázali, že miR-17-5p indukuje rast a podnecuje invazivitu buniek karcinómu krčka maternice (Cai a kol., 2018).

Podľa štúdie realizovanej v roku 2021, ktorá bola zameraná na detekciu miery expresie miR-17-5p v tkanivách a bunkách pacientiek s karcinómom krčka maternice bolo preukázané, že jej hladina bola niekoľkonásobne vyššia než v iných nádorových tkanivách, čo dokumentuje graf č. 1. Na stanovenie hladín týchto molekúl v biologickom materiáli sa štandardne používa RT-qPCR, čo bolo metódou voľby aj v tejto štúdii, pričom sa skúmali hladiny miR-17-5p v bunkových líniiach CC33, HCC94 a ECT1/E6E7 (Zou and Zhang, 2021).

Profilovanie miRNA v cervikálnom hliene sa tiež ukázalo ako vhodná stratégia na identifikáciu neoplastických lézií krčka maternice. Štyri molekuly miRNA (miR-126-3p, miR-20b-5p, miR-451a a miR-144-3p) detegované v cervikálnom hliene sa skutočne ukázali ako účinné pri diagnostike adenokarcinómu krčka maternice a high-grade intraepiteliálnych lézií. Avšak, pre potvrdenie klinickej hodnoty detekcie miRNA v cervikálnom hliene je potrebných viac výskumov (Kawai a kol., 2018). Navyše, nekódujúce RNA molekuly boli detegované nielen v biologických tekutinách, ale pre ďalšie analýzy je možné použiť aj bunky cervixu, ktoré sa používajú aj pri rutinnom cytologickom vyšetrení (Tian a kol., 2014).

ENDOMETRIÓZA

Endometrióza je pomerne časté gynekologické ochorenie vyskytujúce sa u žien vo fertilnom veku (Nothnick,

2017). Medzi klinické príznaky endometriózy patrí dysmenorea, nadmerné krvácanie, chronické bolesti v oblasti brucha a panvy, pocity nepohodlia a okrem týchto symptómov je zároveň v úzkom vzťahu s infertilitou (Donnez a kol., 2018; Konrad a kol., 2020). Pre toto ochorenie je typická tvorba ektopických lézií endometriálneho tkaniva, nielen v oblasti panvovej dutiny, ktoré reaguje na hormonálne zmeny počas menštruačného cyklu. Na základe lokalizácie lézií sa endometrióza klasifikuje na peritoneálnu endometriózu, ovariálnu endometriózu a hlbokú infiltrujúcu endometriózu (Smolarz a kol., 2021).

Etiológia endometriózy stále nie je celkom objasnená, no k jej vzniku a rozvoju prispieva množstvo faktorov. V súčasnosti je hlavným dostupným diagnostickým postupom laparoscopia, ktorá je invazívna a okrem potenciálnych rizík spojených s chirurgickým zákrokom si vyžaduje aj celkovú anestéziu. Aj na základe uvedených skutočností, je dopyt po jednoduchšom a neinvazívnom diagnostickom teste výrazný, a práve preto v snahe identifikovať diferenciálne exprimované ncRNA ako diagnostické a prognostické biomarkery endometriózy, sa vo viacerých štúdiách skúmala úloha lncRNA v patogenéze tohto ochorenia (Aljubran and Nothnick, 2021).

Jedna z nedávno publikovaných štúdií skúmala diagnostickú a prognostickú hodnotu lncRNA Urothelial carcinoma-associated-1 (UCA1) pri ovariálnej endometrióze. lncRNA UCA1 bola výrazne downregulovaná v ektopických léziách v porovnaní so zodpovedajúcimi eutopickými tkanivami endometria žien s ovariálnou endometriózou. Rovnako aj sérové hladiny UCA1 boli významne nižšie u pacientiek s ovariálnou endometriózou v porovnaní so zdravou kontrolou a zároveň sérová hladina UCA1 korelovala s progresiou ochorenia. Hladina bola nižšia v štádiu II v porovnaní so štádiom I a v štádiu IV bola najnižšia medzi ostatnými skupinami. Tieto zistenia naznačujú, že lncRNA UCA1 v sére pri ovariálnej endometrióze má potenciál pôsobiť ako diagnostický a zároveň prognostický biomarker, ktorý môže byť prínosný pri včasnej detekcii a následnej terapii ochorenia (Huang a kol., 2019).

METÓDA

Biologický materiál (krv) experimentálnych skupín bol získaný na základe kooperácie s Gynekologicko-pôrodnickou klinikou UPJŠ LF a UNLP na Tr. SNP 1 a Centrom pre asistovanú reprodukciu Gyncare s.r.o. v Košiciach. Prvú experimentálnu skupinu tvorili pacientky s laparoskopicky

verifikovanou endometriózou (n=5) s vekovým priemerom 44 rokov. Druhú experimentálnu skupinu tvorili pacientky s potvrdenou diagnózou karcinómu endometria uteru (n=5) s vekovým priemerom 65 rokov. Tretiu skúmanú skupinu tvorili pacientky s histologicky stanovenou diagnózou karcinómu cervixu uteru (n=5) s vekovým priemerom 58 rokov. Výsledky boli porovnávané s kontrolnou skupinou, ktorú tvorili ženy (n=4) s priemerným vekom 50 rokov. Pacientkam jednotlivých skupín bol biologický materiál odobratý v súlade so štandardnými diagnosticko-liečebnými postupmi.

Metódou voľby sa pre spoľahlivé stanovenie a monitorovanie expresných profilov miRNA v rôznych bunkách, tkanivách a organizmoch stala kvantitatívna Real-Time polymerázová reťazová reakcia, ktorá sa využíva na kvantitatívnu analýzu údajov v molekulárnej medicíne. V tomto prípade bola použitá na analýzu biologického materiálu pacientiek experimentálnej skupiny s endometriózou, karcinómom endometria uteru a karcinómom cervixu uteru pre stanovenie miery expresie miR-17-5p a miR-99 v plazme v porovnaní s biologickým materiálom kontrolnej skupiny zdravých žien podľa krokov definovaných v protokole. Kvantitatívnej Real-Time PCR predchádzala izolácia nekódujúcich RNA molekúl na kolónkach a následne vytvorenie komplementárneho vlákna DNA (cDNA) použitím reverznej transkriptázy.

Izolácia nekódujúcich RNA molekúl na kolónkach

Do pripravených vzoriek rozmrazenej plazmy bolo pridaných 5 objemov QIAzol Lysis Reagent a následne obsah premiešaný vortexovaním. Vzniknutý homogenát bol inkubovaný pri izbovej teplote (15 – 25 °C) po dobu piatich minút. K východiskovej vzorke bol pridaný chloroform rovnakého objemu, následne bola pevne uzavretá skúmavka pretrepávaná 15 s, po čom nasledovala inkubácia pri izbovej teplote po dobu 2-3 minút. Následne boli 15 minútovou centrifugáciou pri 12 000 otáčkach a teplote 4 °C odstredené jednotlivé fázy. Horná vodná fáza bola prenesená do novej zbernej skúmavky a k nej bolo pridaných 1,5 objemu 100% etanolu. Následne bolo napipetovaných 700 µl vzorky do zbernej kolónky a vložené do centrifúgy, pričom nasledovala centrifugácia pri $\geq 8\ 000 \times g$ počas 15 s pri izbovej teplote, ktorá sa celkovo opakovala trikrát v rovnakom intervale a s rovnakým počtom otáčok, vždy s pridaním ďalšieho pufra alebo alkoholu po každom cykle podľa protokolu. V predposlednom

kroku bola vzorka v kolónke centrifugovaná pri najvyššej možnej rýchlosti po dobu piatich minút, aby došlo k vysušeniu membrány. Na základe posledného bodu protokolu, bolo k vzorke pridaných 14 μ l vody zbavenej RNázy, ktorá bola napipetovaná priamo do stredu membrány kolónky a vložená v zbernej skúmavke do centrifúgy, kde bola centrifugovaná minútu pri plných otáčkach, aby sa eluovala RNA. Čistota a koncentrácia izolovanej ncRNA bola určená pomerom absorbančie pomocou Spektrofotometra Nano-Drop 2000C pri 260 nm a 280 nm.

Reverzná transkripcia miRNA do cDNA

Po izolácii ncRNA, bola miRNA nariadená na koncentráciu 6 ng. μ l⁻¹. Následne bola uskutočnená reverzná syntéza miRNA do cDNA prostredníctvom kitu TaqMan™ MicroRNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). Komponenty reakčnej zmesi, (ako: deoxyribonukleové trifosfáty (dNTP), RT pufor (reverse transcription pufor), Inhibitor RNázy, Multiscribe reverzná transkriptáza, Nuclease free voda), boli pipetované na ľade. K pripravenej zmesi boli pridané riedené miRNA a špecifická RT sonda TaqMan™ MicroRNA Assays. Takto pripravená zmes bola inkubovaná 30 min. pri teplote 16 °C, 30 min. pri 42 °C, 5 min. °C pri 85°C a následne ochladená na 4 °C. Po ukončení reakcie bola cDNA použitá na qReal- Time PCR analýzu.

Kvantitatívna Real – Time PCR miRNA

Po reverznej transkripcii miRNA bola uskutočnená qReal-Time PCR analýza vybraných miRNA molekúl, s použitím TaqMan® Universal Master Mix II, no UNG (Applied Biosystems). Podmienky pre amplifikáciu miRNA molekúl boli prevádzané na základe odporúčania výrobcu komerčného kitu a to nasledovne: Aktivácia 2 min. 50 °C, denaturácia 95 °C 10 min., denaturácia 95 °C 15 s, Annealing 60 °C v trvaní 1 min., konečný krok 40 °C v trvaní 1 minúty.

Štatistické metódy

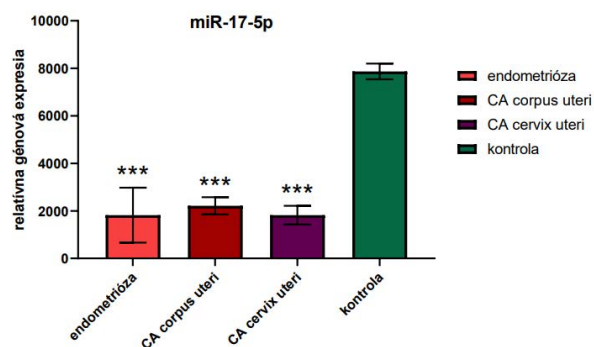
K štatistickému vyhodnoteniu exprimácie vybraných miRNA molekúl bol použitý program GraphPad Prism (verzia 8) s využitím dvojstranného nepárového testu a Sidak's multiple porovnávacieho testu. Hodnoty pravdepodobnosti *p < 0,05, **p < 0,01 a ***p < 0,0001 sa považovali za štatisticky významné.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Metódou qReal-Time PCR bola uskutočnená analýza expresie vybraných miR-17- 5p a miR-99 molekúl, v krvnej plazme pacientiek s verifikovanou diagnózou endometriózy, karcinómu endometria uteru a karcinómu cervixu uteru v porovnaní s expresiou uvedených molekúl v biologickom materiáli krvnej plazmy osôb kontrolnej skupiny. Štatistické výsledky analýzy expresie miR-17-5p experimentálnej skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou sú uvedené v tabuľke č.1. Vo všetkých troch skúmaných parametroch bol výsledok štatisticky signifikantný, čo verifikuje aj p hodnota <0,0001.

	Priemer	Signifikancia ku kontrole	P value
kontrola	7868		
endometrióza	1818	***	<0,0001
CA corpus uteri	2216	***	<0,0001
CA cervix uteri	1820	***	<0,0001

Tab. 1 Referenčné hodnoty expresie miR-17-5p v plazme CA – karcinóm



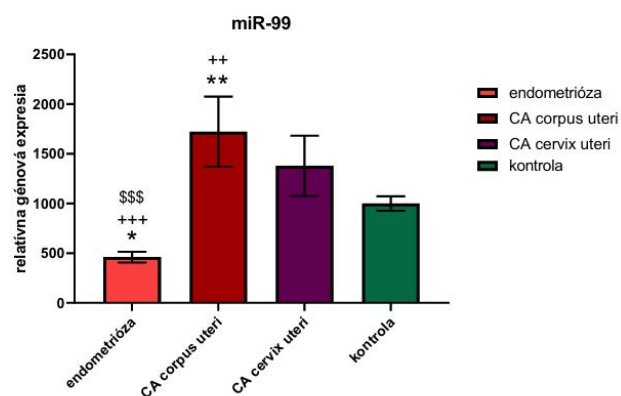
Graf č. 2 Porovnanie zmien expresie miR-17-5p v plazme pacientiek

Graf č.2 poukazuje na výrazne znížené hodnoty relatívnej génovej expresie miR-17-5p v plazme experimentálnej skupiny pacientiek s endometriózou, karcinómom endometria uteru a karcinómom cervixu uteru v porovnaní s kontrolnou skupinou, pri čom najnižšiu hodnotu expresie preukazuje skupina pacientiek s endometriózou. Invazívne prerastanie tkanív endometria mimo uteru so sebou nesie široké spektrum komplikácií čím sú ovplyvňované aj ďalšie biologické procesy. Toto ochorenie môžeme považovať za angiogénne, keďže angiogenéza je dôležitým krokom vo vývoji endometriotických lézií. Základným mediátorom angiogenézy je vaskulárny endotelový rastový faktor A (VEGFA), ktorý má výrazný vplyv na patogenézu endometriózy, pri čom posledné analýzy

preukázali, že jeho hodnota býva v prípade tohto ochorenia zvýšená, čo podporuje proliferáciu, migráciu a invazivitu endometriálnych cystických stromálnych buniek (Lin a kol., 2021). Štúdia, ktorá sa zamerala na overenie vzťahu medzi miR-17-5p a VEGFA luciferázovým reportérovým testom, dokázala, že miR-17-5p je schopná zmierniť rozvoj endometriózy priamym potlačením expresie VEGFA. Štúdia realizovaná v roku 2020 sa okrem plazmy zamerala aj na porovnanie expresie miR-17-5p v endometriálnych cystických stromálnych bunkách a normálnych endometriálnych stromálnych bunkách, pri čom výsledky preukázali rovnako zníženú expresiu miR-17-5p v endometriálnych cystických stromálnych bunkách v porovnaní s normálnymi endometriálnymi bunkami, čo poukazuje na výrazný súvis medzi expresiou miR-17-5p a patogenézou endometriózy. Výsledky týchto analýz poskytujú dostatočne relevantné dôvody na zaradenie miR-17-5p medzi vhodných kandidátov biomarkerového využitia budúcnosti (Pang and Liu, 2020).

V prezentovaných parametroch v tabuľke č. 2 neboli detegované signifikantné zmeny vzťahované ku kontrolnej skupine ani ku experimentálnej skupine s karcinómom corpus uteri. V prípade karcinómu cervix uteri, boli detegované signifikantné zmeny expresie v experimentálnej skupine pacientiek s endometriózou v porovnaní so skupinou pacientiek s potvrdeným karcinómom corpus uteri $p < 0,0001$.

Nasledujúce meranie, ktorého výsledky dokumentuje graf č. 3, preukázalo signifikantne zvýšenú expresiu miR-99 v prípade experimentálnych skupín pacientiek s diagnostikovaným karcinómom corpus a cervixu uteri v porovnaní s kontrolnou skupinou, zatiaľ čo miera expresie v prípade endometriózy bola výrazne down exprimovaná v porovnaní s exprimáciou miR-99 analyzovanej v kontrolnej skupine.



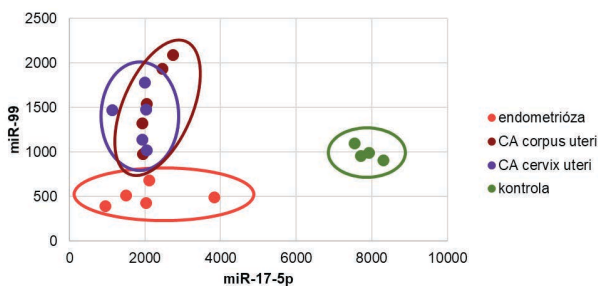
Graf č. 3 Porovnanie zmien expresie miR-99 v plazme pacientiek

MiR-99 sa preukázali ako molekuly zapojené do patogenézy širokej škály nádorových ochorení a viaceré analýzy dokázali ich funkciu ako nádorových supresorov. Výsledky over expresie miR-99 v plazme pacientiek s karcinómom endometria tela matrice, korelujú s viacerými opublikovanými štúdiami, ktoré sa zároveň zhodujú v hypotéze, že kombinácia miR-99 s miR-199b disponuje vyššou diagnostickou hodnotou ako každá miRNA samostatne so senzitivitou 88 % a špecificitou 93 % (Torres a kol., 2012; Yanokura a kol., 2015). Wang a kol., vo svojej štúdií detegovali rovnako zníženú expresiu miR-99 u pacientiek s endometriózou uteru, pri čom vybranou metódou detekcie bolo Solex sekvenovanie. Vzhľadom na to, že rozdielnosť použitých analytických metód môže mať vplyv na výsledok analýz, boli vzorky overené aj metódou RT-PCR, ktorých výsledky korelujú v prípade expresie miR-99 s našimi výsledkami (Wang a kol., 2016).

Analýzu vzájomnej závislosti molekúl miR-99 a miR-17-5p dokumentuje graf č. 4. Nekódujúce RNA molekuly, miR-99 a miR-17-5p, poskytujú podobnú diferenciálnu separáciu v experimentálnych skupinách pacientiek s karcinóm corpus a cervix uteri a odlišnú separáciu komponentov v ortogonálnej transformácii v prípade pacientiek s potvrdenou endometriózou tela matrice.

	Priemer	Signifikancia ku kontrole	P value (*)	Signifikancia ku CA corpus uteri	P value (+)	Signifikancia ku CA cervix	P value
kontrola	999,6			**	0,0025	ns	
endometrióza	459,7	*	0,0121	***	<0,0001	***	0,0003
CA corpus uteri	1723	**	0,0012			ns	
CA cervix uteri	1356	ns		ns			

Tab. 2 Referenčné hodnoty expresie miR-99 v plazme



Graf č. 4 Vzájomná závislosť miR-17-5p a miR-99

Na základe týchto zistení môžeme predpokladať potenciál využitia spomínaných miRNA molekúl v budúcnosti ako prognosticko-diagnostických molekúl. Predkladané výsledky je však nutné overiť na početnejšej vzorke pacientiek s histo-morfologicky potvrdenými patológiami reprodukčných orgánov.

ZÁVER

Nekódujúce RNA molekuly umocňujú svoje významné postavenie v neustále napredujúcej oblasti molekulovej diagnostiky v kooperácii s biomedicínou neúfňajúcimi objavmi týkajúcimi sa ich vlastností, funkcií a zapojenia sa do takmer každého fyziologického, ale aj patologického procesu organizmov. Moderné technológie a metodické postupy umožňujú skúmať potenciál týchto molekúl, ako možných prognosticko-prediktívnych, diagnostických biomarkerov pri profilovaní reprodukčného zdravia obyvateľstva. Mnohé výsledky štúdií a klinických skúšok poukazujú na možnosti budúcej modernej, neinvazívnej diagnostiky a zároveň prispievajú k skvalitneniu lekárskej starostlivosti nielen v oblasti gynekologickej praxe, ale aj reprodukčnej medicíny.

POĎAKOVANIE

Práca bola súčasťou riešenia projektu VEGA 1/0620/19.

LITERATÚRA

- Aljubran, F. and Nothnick, W.B. (2021) „Long non-coding RNAs in endometrial physiology and pathophysiology“, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 525, p. 111190. doi:10.1016/j.mce.2021.111190.
- Cai, N. et al. (2018) Mir-17-5p promotes cervical cancer cell proliferation and metastasis by targeting transforming growth factor- β receptor 2, *European review for medical and pharmacological sciences*. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29687841/>.
- Campos, S.M. (2022) What is the difference between endometrioid and non-endometrioid uterine cancer?: Dana Farber Cancer Institute. Available at: <https://blog.dana-farber.org/insight/2022/10/what-is-the-difference-between-endometrioid-and-non-endometrioid-uterine-cancer/>.
- de Oliveira, J.C. et al. (2019) „Long non-coding RNAs in cancer: Another layer of complexity“, *The Journal of Gene Medicine*, 21(1). doi:10.1002/jgm.3065.
- Donnez, J., García-Solares, J. and Dolmans, M.-M. (2018) „Ovarian endometriosis and Fertility Preservation: A challenge in 2018“, *Minerva Obstetrics and Gynecology*, 70(4). doi:10.23736/s0026-4784.18.04229-6.
- Fang, S. et al. (2016) „Long noncoding RNA-HOTAIR affects chemoresistance by regulating HOXA1 methylation in small cell lung cancer cells“, *Laboratory Investigation*, 96(1), pp. 60–68. doi:10.1038/labinvest.2015.123.
- Golicz, A.A., Bhalla, P.L. and Singh, M.B. (2018) „LncRNAs in plant and animal sexual reproduction“, *Trends in Plant Science*, 23(3), pp. 195–205. doi:10.1016/j.tplants.2017.12.009.
- Guo, C.M., Liu, S.Q. and Sun, M.Z. (2020) „Mir-429 as biomarker for diagnosis, treatment and prognosis of cancers and its potential action mechanisms: A systematic literature review“, *Neoplasma*, 67(02), pp. 215–228. doi:10.4149/neo_2019_190401n282.
- Huang, H., Zhu, Z. and Song, Y. (2019) „Downregulation of lncRNA UCA1 as a diagnostic and prognostic biomarker for ovarian endometriosis“, *Revista da Associação Médica Brasileira*, 65(3), pp. 336–341. doi:10.1590/1806-9282.65.3.336.
- Cheuquemán, C. and Maldonado, R. (2021) „Non-coding RNAs and Chromatin: Key epigenetic factors from spermatogenesis to transgenerational inheritance“, *Biological Research*, 54(1). doi:10.1186/s40659-021-00364-0.
- Jo, H., Shim, K. and Jeoung, D. (2022) „Potential of the mir-200 family as a target for developing anti-cancer therapeutics“, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), p. 5881. doi:10.3390/ijms23115881.
- Konrad, L. et al. (2020) „Epithelial–mesenchymal transition in endometriosis—when does it happen?“, *Journal of Clinical Medicine*, 9(6), p. 1915. doi:10.3390/jcm9061915.
- Kumar, R. et al. (2020) „The expression of p16 and galectin-3 in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and squamous cell carcinoma (SCC) uterine cervix“, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 41(5), pp. 785–790. doi:10.1080/01443615.2020.1803235.
- Lin, C., Zeng, S. and Li, M. (2021) „Mir-424-5p combined with mir-17-5p has high diagnostic efficacy for endometriosis“ [Preprint]. doi:10.21203/rs.3.rs-1116541/v1.

15. Mahdy, H. et al. (2022) Endometrial cancer, StatPearls [Internet]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525981/>.
16. Nothnick, W. (2017) „MicroRNAs and endometriosis: Distinguishing drivers from passengers in disease pathogenesis“, *Seminars in Reproductive Medicine*, 35(02), pp. 173–180. doi:10.1055/s-0037-1599089.
17. Pang, Q.-X. and Liu, Z. (2020) „Mir-17-5p mitigates endometriosis by directly regulating VEGFA“, *Journal of Biosciences*, 45(1). doi:10.1007/s12038-020-00049-y.
18. Qian, Y., Shi, L. and Luo, Z. (2020) „Long non-coding RNAs in cancer: Implications for diagnosis, prognosis, and therapy“, *Frontiers in Medicine*, 7. doi:10.3389/fmed.2020.612393.
19. Restaino, S. et al. (2023) „Management of patients diagnosed with endometrial cancer: Comparison of guidelines“, *Cancers*, 15(4), p. 1091. doi:10.3390/cancers15041091.
20. Sanbonmatsu, K. (2021) „Getting to the bottom of lncrna mechanism: Structure–function relationships“, *Mammalian Genome*, 33(2), pp. 343–353. doi:10.1007/s00335-021-09924-x.
21. Shahbazi, M.N. (2020) „Mechanisms of human embryo development: From cell fate to tissue shape and back“, *Development*, 147(14). doi:10.1242/dev.190629.
22. Shukla, V. et al. (2019) „Enumeration of deregulated miRNAs in liquid and tissue biopsies of cervical cancer“, *Gynecologic Oncology*, 155(1), pp. 135–143. doi:10.1016/j.ygyno.2019.08.012.
23. Smolarz, B., Szyłto, K. and Romanowicz, H. (2021) „Endometriosis: Epidemiology, classification, pathogenesis, treatment and Genetics (Review of Literature)“, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), p. 10554. doi:10.3390/ijms221910554.
24. Tian, Q. et al. (2014) „MicroRNA detection in cervical exfoliated cells as a triage for human papillomavirus–positive women“, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 106(9). doi:10.1093/jnci/dju241.
25. Tornesello, M.L. et al. (2020) „The role of miRNAs, long non-coding RNAs, and circular RNAs in cervical cancer“, *Frontiers in Oncology*, 10. doi:10.3389/fonc.2020.00150.
26. Torres, A. et al. (2012) „Deregulation of mir-100, mir-99a and mir-199b in tissues and plasma coexists with increased expression of mTOR kinase in endometrioid endometrial carcinoma“, *BMC Cancer*, 12(1). doi:10.1186/1471-2407-12-369.
27. Vallone, C. et al. (2018) „Non-coding RNAs and endometrial cancer“, *Genes*, 9(4), p. 187. doi:10.3390/genes9040187.
28. Wang, L. et al. (2016) „Analysis of serum miRNA profile by Solexa sequencing in women with endometriosis“, *Reproductive Sciences*, 23(10), pp. 1359–1370. doi:10.1177/1933719116641761.
29. Yanokura, M. et al. (2015) MicroRNAs in endometrial cancer - EXCLI Journal. Available at: https://www.excli.de/vol14/Banno_02020215_proof.pdf (Accessed: 26 August 2024).
30. Zhang, P. et al. (2019) „Non-coding RNAs and their integrated networks“, *Journal of Integrative Bioinformatics*, 16(3). doi:10.1515/jib-2019-0027.
31. Zhou, Y. et al. (2018) „Long noncoding RNA HOTAIR mediates the estrogen-induced metastasis of endometrial cancer cells via the mir-646/npm1 axis“, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 314(6). doi:10.1152/ajpcell.00222.2017.
32. Zou, M. and Zhang, Q. (2021) „Mir-17-5p accelerates cervical cancer cells migration and invasion via the TIMP2/mmps signaling Cascade“, *Cytotechnology*, 73(4), pp. 619–627. doi:10.1007/s10616-021-00482-3.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 154–158

ANALÝZA MIGRÁCIE T-LYMFOCYTOV POMOCOU PRIETOKOVEJ CYTOMETRIE FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS OF T CELL MIGRATION

Matúš Čoma^{1,2}

¹Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice

²Referát pre biomedicínsky výskum, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a. s., Košice

matus.coma@upjs.sk

SÚHRN

Migrácia T-lymfocytov zohráva kľúčovú úlohu v imunitnom dozore, detekcii nádorových buniek a zápalových ochoreniach. Nedávne pokroky v imunoterapii zlepšili liečbu nádorových ochorení zameraním sa na normalizáciu imunosupresívneho nádorového mikroprostredia. S nádorom asociované fibroblasty, ktoré sú najpočetnejšou bunkovou populáciou v nádorovej stróme, majú kľúčovú úlohu pri podpore progresie nádoru a inhibícii imunitnej odpovede. V tejto štúdii sme skúmali vplyv kondicionovaného média z normálnych fibroblastov a s nádorom asociovaných fibroblastov na migráciu T-lymfocytov pomocou transwell testu. Transwell migračný test meria chemotaxiu buniek cez poréznu membránu, stimulovanú gradientom chemoatraktantu vytvoreným medzi dvoma komorami naplnenými médiami. Kondicionované médiá z oboch typov študovaných fibroblastov preukázali významné chemoatraktantné vlastnosti, pričom SCCF S4 (fibroblasty skvamocelulárneho karcinómu) dosiahlo účinky takmer porovnateľné s prirodzeným chemoatraktantom T-lymfocytov, CCL19 (Chemokine C-C motif ligand 19). Tieto poznatky o modulácii migrácie T-lymfocytov prostredníctvom fibroblastov môžu inšpirovať budúce štúdie skúmajúce inovatívne prístupy na zlepšenie imunoterapie nádorových ochorení.

Kľúčové slová: CCL19; kondicionované médium; imunomagnetická izolácia; transwell platnička; prietoková cytometria

ABSTRACT

T cell migration plays a crucial role in immune surveillance, cancer detection, and inflammatory diseases. Recent advances in immunotherapy have improved cancer treatment by targeting the immunosuppressive tumor microenvironment. Cancer-associated fibroblasts, the most abundant cell population in the tumor stroma, play a key role in promoting tumor progression and inhibiting immune responses. This study examined the effect of conditioned media from normal fibroblasts and cancer-associated fibroblasts on T cell migration using a transwell assay. The transwell migration assay measures the chemotaxis of cells through a porous membrane, driven by a chemoattractant gradient established between two medium-filled compartments. Conditioned media from both normal and cancer-associated fibroblasts exhibited significant chemoattractant properties, with SCCF S4 (squamous cell carcinoma fibroblasts) demonstrating effects nearly comparable to the natural T cell chemoattractant, CCL19 (Chemokine C-C motif ligand 19). These insights into fibroblast-driven modulation of T cell migra-

tion may inspire future studies exploring innovative approaches to enhance immune-based cancer treatments.

Key words: CCL19; conditioned medium; immunomagnetic isolation; transwell plate; flow cytometry

ÚVOD

Bunkový pohyb a jeho regulácia vzbudzujú obrovský záujem obzvlášť v imunológii, o čom svedčí aj veľké množstvo publikovanej literatúry o pohybe T-lymfocytov (Sundqvist, 2020, Fowell and Kim, 2021). Pohyb T-lymfocytov je skúmaný v súvislosti s vyhľadávaním antigénov (Krummel et al., 2016), pri monitorovaní organizmu na prítomnosť infikovaných a nádorových buniek (Zielinski, 2017, Sackstein et al., 2017), ako aj pri patologickej infiltrácii T-lymfocytov v zápalových ochoreniach (Lee and Lee, 2016).

V priebehu rokov pokroky v imunológii podstatne zlepšili stratégiu prevencie a kontroly úniku rakovinových buniek pred imunitným systémom (Candeias and Gaip, 2016). Imunoterapia samotná resp. v kombinácii s konvenčnými typmi liečby, ako je rádioterapia a chemoterapia, dosiahla značný úspech v porovnaní so štandardnou liečbou pri mnohých typoch nádorov (Barbari et al., 2020). Kritickým prvkom modernej imunoterapie je zmena imunosupresívneho prostredia tumorov a reaktivácia dôležitých leukocytových subpopulácií (Tan et al., 2022). Cytotoxické lymfocyty (CD8+) a CD4+ lymfocyty sú kľúčové pri celení na nádory. CD8+ T-lymfocyty rozpoznávajú antigény prezentované antigén-prezentujúcimi bunkami, a môžu tiež identifikovať antigény priamo na povrchu nádorových buniek (Raskov et al., 2021). Na druhej strane CD4+ lymfocyty sú nevyhnutné na aktiváciu CD8+ cytotoxických lymfocytov, pričom nedostatok CD4+ buniek vedie k zlyhaniu protinádorovej imunitnej odpovede (Tay et al., 2021). A práve za zlyhaním protinádorovej imunitnej odpovede stojí nádorové mikroprostredie, pre ktoré je charakteristická imunosupresia (Wang et al., 2023).

Za kľúčovú súčasť nádorového mikroprostredia je považovaná heterogénna populácia buniek nazývaná s nádorom asociované fibroblasty (Mhaidly and Mehta-Grigoriou, 2020). S nádorom asociované fibroblasty zohrávajú dôležitú úlohu pri udržiavaní a remodelácii extracelulárnej matrice v nádorovom mikroprostredí, podporujú progresiu nádoru a inhibujú imunitnú odpoveď proti nádorovým bunkám (Milosevic and Ostman, 2024).

V predloženej štúdii analyzujeme ovplyvnenie migrá-

cie T-lymfocytov použitím kondicionovaného média z normálnych a zo s nádorom asociovaných fibroblastov.

MATERIÁL A METÓDY

Isolácia normálnych a s nádorom asociovaných fibroblastov

Vzorky normálnej kože (ľudské dermálne fibroblasty; normal dermal fibroblasts; HDF) boli získané z Oddelenia estetickej chirurgie, 3. lekárskej fakulty, Karlovej univerzity a Fakultnej nemocnice Kráľovské Vinohrady (Praha, Česká republika). Vzorky skvamocelulárneho karcinómu ústnej dutiny (T3N2M0) (fibroblasty skvamocelulárneho karcinómu; squamous cell carcinoma fibroblasts; SCCF) boli získané z Oddelenia otorinolaryngológie a chirurgie hlavy a krku, 1. lekárskej fakulty (Praha, Česká republika). Fibroblasty boli izolované, kultivované a expandované, ako bolo už predtým popísané (Dvorankova et al., 2019). Fenotypová charakterizácia získaných fibroblastov bola vyhodnotená detekciou vimentínu (+), fibronektínu (+), FAP (+), PDGFR- α/β (+), vysoko molekulárnych keratínov (-), tyrozínázy (-), CD45 (-) a MiTF (-). Bunky boli izolované z tkanivových vzoriek získaných so súhlasom pacientov v súlade s Helsinskou deklaráciou, schválené Etickou komisiou Všeobecnej fakultnej nemocnice a Etickou komisiou Fakultnej nemocnice Kráľovské Vinohrady (obe Praha, Česká republika). Písomný informovaný súhlas bol poskytnutý všetkými pacientmi.

Príprava kondicionovaných médií

Primárne kultúry fibroblastov vo 8. pasáži boli nasaďené do 24-jamkových platní v počte 250 000 bb /1 ml DMEM (Dulbecco's modified eagle medium, Gibco, Grand Island, NY, USA) s 10% FBS (Fetal bovine serum, Biochrom, Berlín, Nemecko) a 1% ATB (penicilín/streptomycín, Biochrom, Berlín, Nemecko) na jamku. Nasledujúci deň bolo kultivačné médium vymenené za 500 μ l čistého RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium, Gibco, Grand Island, NY, USA) bez FBS a ATB. Po 24 h bolo z každej jamky odsatých 400 μ l kondicionovaného média. Získané kondicionované médium bolo šokovo zamrazené pomocou tekutého dusíka a uskladnené na -80°C po dobu 3 mesiacov.

Isolácia PBMC (peripheral blood mononuclear cells):

Do 15-ml centrifugačných skúmaviek s kónickým dnom bolo pridaných 3 ml Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, Burlington, MA, USA) pri izbovej teplote. Následne boli na

hladinu Histopaque-1077 opatrne nanesené 3 ml plnej krvi od zdravého darcu. Po centrifugácii (400×g, 30 min, izbová teplota, bez brzdy) bola horná vrstva opatrne odobratá pomocou Pasteurových pipiet až do vzdialenosti 0,5 cm od nepriehľadného rozhrania, ktoré obsahovalo mononukleárne bunky (prstenec resp. biely zákal). Prstenec obsahujúci PBMC bol opatrne prenesený pomocou Pasteurových pipiet do čistých skúmaviek. Bunky boli premyté pridaním 10 ml PBS (Phosphate buffered saline) a scentrifugované (250×g, 10 min). Izolované bunky bola znova premyté v 5 ml PBS a scentrifugované (250×g, 10 min). Bunkový pelet bol na záver resuspendovaný v 0,5 ml PBS.

Imunomagnetická izolácia T-lymfocytov z PBMC

T-lymfocyty boli izolované pomocou kitu EasySep™ Human T Cell Isolation Kit (STEMCELL, Vancouver, BC, Kanada) podľa odporúčaní výrobcu. PBMC boli rozsuspendované v PBS tak aby ich koncentrácia bola 5×10^7 buniek/ml. Maximálny objem pre jednu izoláciu bol 2 ml. Potom bola vzorka prenesená do skúmavky s objemom 5 ml, vyrobenej z polystyrénu s okrúhlym dnom. Následne bol ku vzorke napipetovaný izolačný koktejl v množstve 50 µl na každý ml vzorky. Vzorka bola dôkladne premiešaná a inkubovaná pri izbovej teplote po dobu 5 minút. Počas inkubácie sme si dôkladne zhomogenizovali RapidSpheres™ rýchlym miešaním po dobu 30 sekúnd. RapidSpheres™ boli pridané do vzorky v množstve 40 µl na každý ml vzorky a vzorka bola dôkladne premiešaná. Následne sme ku vzorke pridal rotok 0,1% FBS v PBS tak, aby sme dosiahli konečný objem 2,5 ml, a vzorka bola jemne premiešaná pipetovaním hore a dole 2-3 krát. Skúmavka bola umiestnená do magnetu (EasySep™ Magnet, STEMCELL, Vancouver, BC, Kanada) a inkubovaná pri izbovej teplote po dobu 3 minút. Do novej skúmavky sme plynulým pohybom vyliali obsah skúmavky umiestnenej v magnetu, čím sme získali obohatenú suspenziu T-lymfocytov. Vyizolované T-lymfocyty boli následne rozsuspendované v 0,1% roztoku FBS v RPMI v koncentrácii 50 000 bb /100 µl. Časť T-lymfocytov bola ofarbená CD45(+), CD3(+), CD4(+) a CD8 (+) a podrobená cytometrickej analýze pre kontrolu čistoty izolácie.

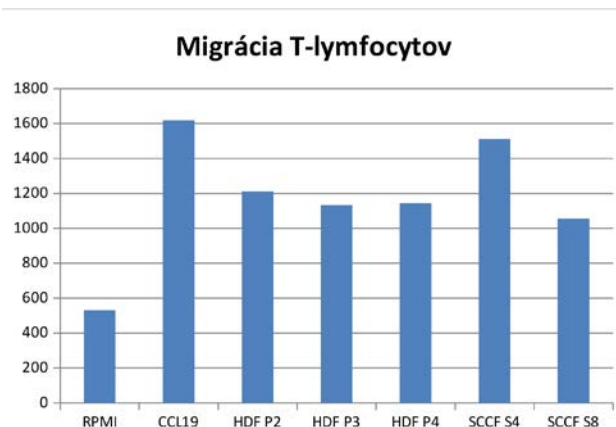
Analýza migrácie T-lymfocytov pomocou prietokovej cytometrie

Do spodnej časti 96 jamkovej transwell platničky (Corning, Corning, NY, USA) bolo postupne napipetovaných

(100 µl): negatívna kontrola – RPMI, pozitívna kontrola RPMI + 0,5 µg/ml CCL19 (Chemokine (C-C motif) ligand 19, BioLegend, San Diego, CA, USA), kondicionané médium získané z HDF (darcovia P2, P3 a P4) a kondicionané médium získané zo SCCF (pacienti S4 a S8). Následne bol na platničku položený inzert s 5 µm poréznou membránou tak, aby sa blízko membrány nevyskytovali žiadne bublinky. Membrána bola ponechaná nasiaknuť niekoľko minút v inkubátore (37°C) aby sa médium zohrialo. Do hornej časti transwell platničky bolo napipetovaných 50 000 T-lymfocytov, ktoré boli resuspendované v 100 µl RPMI + 0,1% FBS. T-lymfocytom bolo umožnené migrovať počas 4 hodín pri 37°C. Po 4 hodinách boli T-lymfocyty v spodnej časti transwell platničky zafixované so 150 µl IC Fix (eBioscience, San Diego, CA, USA). Po zafixovaní bola bunková suspenzia prenesená z jamiek do cytometrických skúmaviek. Množstvo premigrovaných T-lymfocytov bolo merané pomocou prietokového cytometra (BD FACSCanto, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) ako množstvo zachytených lymfocytov pri vysokom prietokovom režime počas 60 sekúnd. Experiment bol vykonaný ako biologický duplikát, každý v troch technických replikátoch. Výsledné absolútne počty premigrovaných T-lymfocytov reprezentujú aritmetický priemer meraní jednotlivých experimentov.

VÝSLEDKY

Ako pozitívnu kontrolu našej štúdie sme použili chemoatraktant T lymfocytov CCL19 v koncentrácií 0,5 µg/ml v RPMI pričom sme pozorovali výraznú migráciu (1619) T-lymfocytov. Ako negatívnu kontrolu sme použili čisté RPMI médium bez FBS a ATB. Počet (531) takto premigrovaných T-lymfocytov reprezentoval množstvo voľne sa pohybujúcich buniek (bez gradientu medzi hornou a spodnou časťou transwell platničky). Kondicionané médiá pripravené z kultúr normálnych fibroblastov (HDF P2, HDF P3 a HDF P4) preukázali výraznú schopnosť priťahovať (1211, 1133 a 1145 v tomto poradí) T-lymfocyty. Migrácia T-lymfocytov ku kondicionámu médiu pripravenému zo SCCF S4 dosiahla takmer úroveň pozitívnej kontroly (1512). Naopak migrácia ku kondicionámu médiu pripravenému zo SCCF S8 bola mierne nižšia (1056) než migrácia k HDF.



Obr. 1 Porovnanie migrácie T-lymfocytov ku kondicionovaným médiám pripraveným z rôznych primárnych kultúr fibroblastov.

DISKUSIA

Táto štúdia sa zameriavala na hodnotenie migrácie T-lymfocytov pomocou transwell platničky na porovnanie účinnosti kondicionovaných médií z rôznych typov fibroblastov. V súlade so svetovou literatúrou (Gowhari Shabgah et al., 2022, Loef et al., 2021) sme preukázali výraznú stimuláciu migrácie T-lymfocytov pomocou CCL19, čo preukazuje správnosť predkladaného modelu. V prípade kondicionovaných médií pripravených z primárnych kultúr normálnych fibroblastov (HDF) sme zaznamenali veľmi podobný vplyv na úroveň migrácie. V porovnaní s negatívnou kontrolou sú všetky hodnoty migrácie v prítomnosti HDF médií výrazne vyššie, čo naznačuje, že nami izolované primárne kultúry HDF fibroblastov produkujú faktory stimulujúce migráciu T-lymfocytov, čo je v súlade so svetovou literatúrou (Lee et al., 2022, Taub et al., 1995). Na druhej strane, kondicionované médiá z primárnych kultúr s nádorom asociovaných fibroblastov preukázali veľmi odlišný vplyv na úroveň migrácie T-lymfocytov, pričom kondicionované médium zo SCCF S4 prekvapivo dosiahlo efekt blízky prirodzenému chemoatraktantu CCL19. Naproti kondicionované médium pripravené zo SCCF S8 malo slabší stimulačný účinok na migráciu než kondicionované médiá z normálnych fibroblastov. Predpokladáme, že pozorované rozdiely medzi účinkom kondicionovaných médií pripravených zo s nádorom asociovaných fibroblastov súvisí s prítomnosťou fenotypovo odlišných subpopulácií fibroblastov v jednotlivých nádoroch (Elyada et al., 2019, Kieffer et al., 2020, Deng et al., 2021, Soliman et al., 2021), z ktorých boli izolované. Navyše, rozdielny fenotyp medzi

SCCF S4 a SCCF S8 bol preukázaný aj našou predošlou štúdiou (Urban et al., 2023). Tieto výsledky môžu mať dôležité implikácie pre pochopenie, akým spôsobom rôzne subpopulácie fibroblastov formujú imunitnú odpoveď s potenciálnym využitím v budúcich terapeutických stratégiách. Predpokladáme, že podrobnejšia analýza obsahu kondicionovaných médií a identifikácia konkrétnych secerovaných chemotaktických faktorov bude kľúčová pre ďalší pokrok v tejto oblasti.

ZÁVER

Naša analýza poskytuje cenné informácie o vplyve normálnych a s nádorom asociovaných fibroblastov na migráciu T-lymfocytov. Zároveň predstavuje vhodný model pre štúdium vplyvu kondicionovaných médií pripravených z rôznych typov buniek na migráciu lymfocytov. Naše výsledky poukazujú na schopnosť rôznych fibroblastov secerovať chemotaktické faktory. Zároveň sme poukázali na rozdielnu schopnosť s nádorom asociovaných fibroblastov ovplyvňovať migráciu a tým rôzne modulovať imunitnú odpoveď. V budúcnosti by bolo užitočné pokračovať v analýze obsahu kondicionovaných médií a preskúmať konkrétne chemotaktické faktory, ktoré sú zodpovedné za pozorované účinky. Taktiež by bolo prínosné preskúmať, ako rôzne typy fibroblastov a ich produkty ovplyvňujú proliferáciu a diferenciáciu lymfocytov, aby sme lepšie pochopili mechanizmy, ktoré sú zapojené do modulácie imunitnej odpovede nádorovým mikroprostredím.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, výskumu, vývoja a mládeže Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied VEGA-1/0436/24.

ZOZNAM LITERATÚRY

- Barbari, C., Fontaine, T., Parajuli, P., Lamichhane, N., Jakubski, S., Lamichhane, P. and Deshmukh, R. R. (2020) 'Immunotherapies and Combination Strategies for Immuno-Oncology', *Int J Mol Sci*, 21(14).
- Candeias, S. M. and Gaipal, U. S. (2016) 'The Immune System in Cancer Prevention, Development and Therapy', *Anticancer Agents Med Chem*, 16(1), pp. 101-7.
- Deng, C. C., Hu, Y. F., Zhu, D. H., Cheng, Q., Gu, J. J., Feng, Q. L., Zhang, L. X., Xu, Y. P., Wang, D., Rong, Z. and Yang, B. (2021) 'Single-cell RNA-seq reveals fibroblast heterogeneity

- and increased mesenchymal fibroblasts in human fibrotic skin diseases', *Nat Commun*, 12(1), pp. 3709.
4. **Dvorankova, B., Lacina, L. and Smetana, K., Jr. (2019)** 'Isolation of Normal Fibroblasts and Their Cancer-Associated Counterparts (CAFs) for Biomedical Research', *Methods Mol Biol*, 1879, pp. 393-406.
 5. **Elyada, E., Bolisetty, M., Laise, P., Flynn, W. F., Courtois, E. T., Burkhart, R. A., Teinor, J. A., Belleau, P., Biffi, G., Lucito, M. S., Sivajothi, S., Armstrong, T. D., Engle, D. D., Yu, K. H., Hao, Y., Wolfgang, C. L., Park, Y., Preall, J., Jaffee, E. M., Califano, A., Robson, P. and Tuveson, D. A. (2019)** 'Cross-Species Single-Cell Analysis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Reveals Antigen-Presenting Cancer-Associated Fibroblasts', *Cancer Discov*, 9(8), pp. 1102-1123.
 6. **Fowell, D. J. and Kim, M. (2021)** 'The spatio-temporal control of effector T cell migration', *Nat Rev Immunol*, 21(9), pp. 582-596.
 7. **Gowhari Shabgah, A., Al-Obaidi, Z. M. J., Sulaiman Rahman, H., Kamal Abdelbasset, W., Suksatan, W., Bokov, D. O., Thangavelu, L., Turki Jalil, A., Jadidi-Niaragh, F., Mohammadi, H., Mashayekhi, K. and Gholizadeh Navashenaq, J. (2022)** 'Does CCL19 act as a double-edged sword in cancer development?', *Clin Exp Immunol*, 207(2), pp. 164-175.
 8. **Kieffer, Y., Hocine, H. R., Gentric, G., Pelon, F., Bernard, C., Bourachot, B., Lameiras, S., Albergante, L., Bonneau, C., Guyard, A., Tarte, K., Zinovyev, A., Baulande, S., Zalcman, G., Vincent-Salomon, A. and Mechta-Grigoriou, F. (2020)** 'Single-Cell Analysis Reveals Fibroblast Clusters Linked to Immunotherapy Resistance in Cancer', *Cancer Discov*, 10(9), pp. 1330-1351.
 9. **Krummel, M. F., Bartumeus, F. and Gerard, A. (2016)** 'T cell migration, search strategies and mechanisms', *Nat Rev Immunol*, 16(3), pp. 193-201.
 10. **Lee, B., Lee, S. H. and Shin, K. (2022)** 'Crosstalk between fibroblasts and T cells in immune networks', *Front Immunol*, 13, pp. 1103823.
 11. **Lee, G. H. and Lee, W. W. (2016)** 'Unusual CD4(+)CD28(-) T Cells and Their Pathogenic Role in Chronic Inflammatory Disorders', *Immune Netw*, 16(6), pp. 322-329.
 12. **Loef, E. J., Sheppard, H. M., Birch, N. P. and Dunbar, P. R. (2021)** 'Live-Cell Microscopy Reveals That Human T Cells Primarily Respond Chemokinetically Within a CCL19 Gradient That Induces Chemotaxis in Dendritic Cells', *Front Immunol*, 12, pp. 628090.
 13. **Mhaidly, R. and Mechta-Grigoriou, F. (2020)** 'Fibroblast heterogeneity in tumor micro-environment: Role in immunosuppression and new therapies', *Semin Immunol*, 48, pp. 101417.
 14. **Milosevic, V. and Ostman, A. (2024)** 'Interactions between cancer-associated fibroblasts and T-cells: functional cross-talk with targeting and biomarker potential', *Ups J Med Sci*, 129.
 15. **Raskov, H., Orhan, A., Christensen, J. P. and Gogenur, I. (2021)** 'Cytotoxic CD8(+) T cells in cancer and cancer immunotherapy', *Br J Cancer*, 124(2), pp. 359-367.
 16. **Sackstein, R., Schatton, T. and Barthel, S. R. (2017)** 'T-lymphocyte homing: an underappreciated yet critical hurdle for successful cancer immunotherapy', *Lab Invest*, 97(6), pp. 669-697.
 17. **Soliman, H., Tung, L. W. and Rossi, F. M. V. (2021)** 'Fibroblast and Myofibroblast Subtypes: Single Cell Sequencing', *Methods Mol Biol*, 2299, pp. 49-84.
 18. **Sundqvist, K. G. (2020)** 'T Cell Motility horizontal line How Is It Regulated?', *Front Immunol*, 11, pp. 588642.
 19. **Tan, S., Day, D., Nicholls, S. J. and Segelov, E. (2022)** 'Immune Checkpoint Inhibitor Therapy in Oncology: Current Uses and Future Directions: JACC: CardioOncology State-of-the-Art Review', *JACC CardioOncol*, 4(5), pp. 579-597.
 20. **Taub, D. D., Key, M. L., Clark, D. and Turcovski-Corrales, S. M. (1995)** 'Chemotaxis of T lymphocytes on extracellular matrix proteins. Analysis of the in vitro method to quantitate chemotaxis of human T cells', *J Immunol Methods*, 184(2), pp. 187-98.
 21. **Tay, R. E., Richardson, E. K. and Toh, H. C. (2021)** 'Revisiting the role of CD4(+) T cells in cancer immunotherapy-new insights into old paradigms', *Cancer Gene Ther*, 28(1-2), pp. 5-17.
 22. **Urban, L., Coma, M., Lacina, L., Szabo, P., Sabova, J., Urban, T., Suca, H., Lukacin, S., Zajicek, R., Smetana, K., Jr. and Gal, P. (2023)** 'Heterogeneous response to TGF-beta1/3 isoforms in fibroblasts of different origins: implications for wound healing and tumorigenesis', *Histochem Cell Biol*, 160(6), pp. 541-554.
 23. **Wang, Q., Shao, X., Zhang, Y., Zhu, M., Wang, F. X. C., Mu, J., Li, J., Yao, H. and Chen, K. (2023)** 'Role of tumor microenvironment in cancer progression and therapeutic strategy', *Cancer Med*, 12(10), pp. 11149-11165.
 24. **Zielinski, C. E. (2017)** 'Human T cell immune surveillance: Phenotypic, functional and migratory heterogeneity for tailored immune responses', *Immunol Lett*, 190, pp. 125-129.

**PREDSTAVUJEME VÁM NOVÝ POHĽAD NA HODNOTENIE
LIPIDOVÉHO PROFILU A ODHADU KARDIOVASKULÁRNEHO RIZIKA**

SMALL DENSE LDL CHOLESTEROL – sdLDL

sdLDL-Cholesterol je podfrakciou lipoproteínu s nízkou hustotou (LDL) s menšou veľkosťou častíc. Všetky LDL častice zaisťujú transport triglyceridov a cholesterolu do tkanív, avšak ich aterogenita závisí od veľkosti. sdLDL-C so svojou malou a denznou veľkosťou prestupuje vnútornou stenou artérií a je náchylnejší na oxidáciu. Keďže sdLDL-C je obzvlášť aterogénny, pacient so zvýšenými hladinami sdLDL-C má 3-násobné zvýšené riziko infarktu myokardu (MI). Zvýšené hladiny sdLDL-C sú spôsobené sedavým životným štýlom, stravou s vysokým obsahom nasýtených tukov, inzulínovou rezistenciou, pre-diabetom a genetickou dispozíciou.

Pre pacientov s rodinnou hyperlipidémiou, diabetom nezávislým od inzulínu, centrálnou obezitou alebo so syndrómom rezistencie na inzulín, zmeranie sdLDL-C umožní získať ucelenejší prehľad o rizikových faktoroch lipidov a napomôže k následnej úprave liečby. Meranie sdLDL je komplexnejším riešením pri zisťovaní kardiovaskulárneho rizika v porovnaní s tradičným testom LDL-Cholesterol a doporučuje sa merať ako suplementárny test k LDL-Cholesterolu.

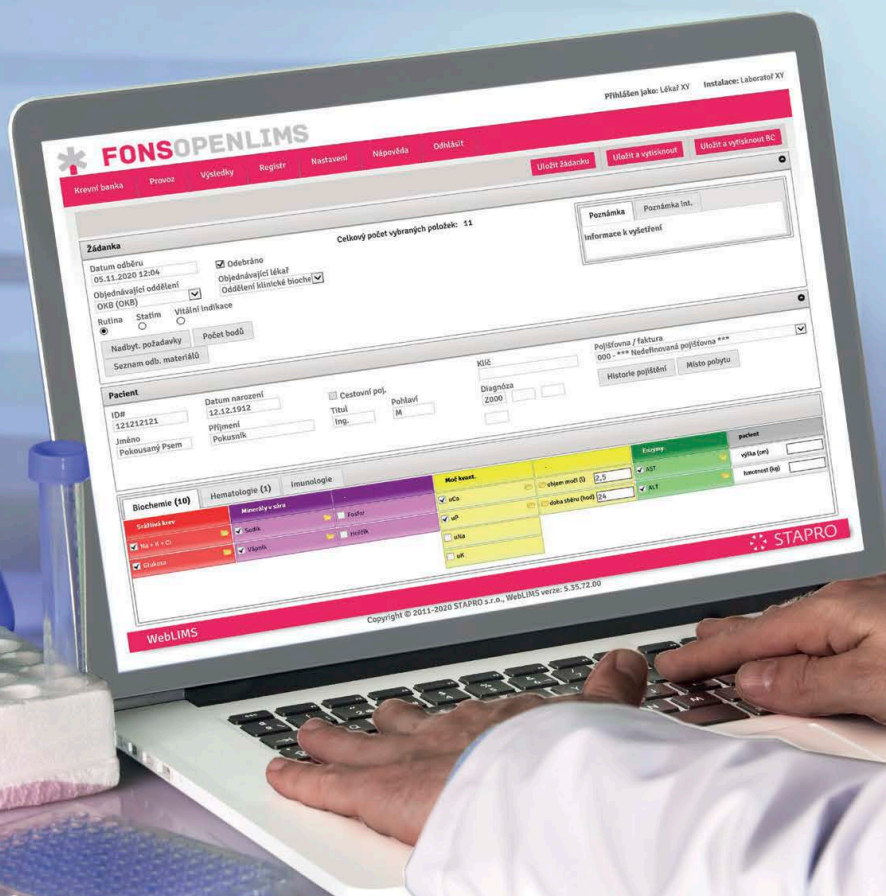
Vlastnosti testu RANDOX sdLDL-C



- Test sdLDL-C od spoločnosti Randox využíva kvantitatívnu metódu clearance, ktorá poskytuje výsledky už za 10 minút, čo pomáha urýchliť diagnostiku pacienta a implementáciu liečby.
- Priamy automatizovaný test, dispozícii sú aplikácie s podrobnými nastaveniami pre použitie Randox sdLDL-C na širokom spektre biochemických analyzátorov.
- SdLDL-C kontrolné materiály a kalibrátory poskytujú kompletný testovací balík.
- Spoločnosť Randox je jedným z mála výrobcov, ktorí ponúkajú sdLDL-C pre automatizované systémy.

Ucelené riešenie pre laboratórny komplement

- Zvýšenie efektivity laboratórnej prevádzky
- Integrácia všetkých laboratórnych odborností v jednom systéme
- Kompletná podpora všetkých laboratórnych procesov
- Splnenie požiadaviek ISO 15189, NCZI, ÚDZS a ŠÚKL
- Zabezpečenie podľa GDPR a Zákona o kybernetickej bezpečnosti
- Prepojenie s najmodernejšími laboratórnymi technológiami
- Riešenie pre reťazce laboratórií a detašované pracoviská
- Dokonalé sledovanie nákladov a nadštandardnej štatistiky
- Flexibilné prispôsobenie prevádzkovým zvyklostiam
- Automatizácia centrálného príjmu včítane skladu žiadaniek
- Zaistenie požadovanej dostupnosti systému a jednoduchá správa IS





Laboratórna Diagnostika, XXIX, 1, 2024: 159–166

VNITŘNÍ PROSTŘEDÍ, TEKUTINOVÁ STRATEGIE A SEPSE „MILIEU INTERIEUR“, FLUID STEWARDSHIP, AND SEPSIS

Antonín Jabor, Janka Franeková

Pracoviště laboratorních metod, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika
3. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika

anja@ikem.cz

SOUHRN

Formou narativního přehledu se autoři zabývají problematikou sepse a septického šoku se zvláštním zaměřením na glykokalyx, revidovanou Starlingovu rovnici, tekutinovou strategii, vztah mezi klinickými projevy orgánové dysfunkce a laboratorními ukazateli, možnosti infuzní terapie a vztah mezi iontovým složením infuzních roztoků a acidobazickou rovnováhou.

Klíčová slova: sepsa; septický šok; glykokalyx; revidovaná Starlingova rovnice; tekutinová strategie; koloidy; krystaloidy

ABSTRACT

In the form of a narrative overview, the authors deal with the issue of sepsis and septic shock with a special focus on the glycocalyx, the revised Starling equation, fluid stewardship, the relationship between clinical manifestations of organ dysfunction and laboratory indicators, the possibilities of infusion therapy and the relationship between the electrolyte composition of infusion solutions and acid-base balance.

Key words: sepsis; septic shock; glycocalyx; revised Starling equation; fluid stewardship; colloids; crystalloids

ÚVOD

Sepsa a septický šok je v intenzivní péči častou komplikací, která má celosvětově stále vysokou úmrtnost. Některé patofyziologické procesy jsou společné i jiným kritickým stavům. Předložený text je pohledem klinických biochemiků na významnou kapitolu intenzivní péče, kde zdánlivě nemá laboratoř takovou roli jako například v odhadu kardiovaskulárního rizika, monitorování diabetiků, při detekci infarktu myokardu a u srdečního selhání. Závažnost sepse by ale měla být důvodem pro pochopení řady patofyziologických souvislostí a pro uplatnění klinicko-biochemické laboratoře v této speciální problematice.

1. Definice sepse

Podle třetího mezinárodního konsensu (panel Sepsis-3) je sepsa definována jako život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou odpovědí hostitele na infekci (Singer, 2016). Orgánovou dysfunkci je možné identifikovat posouzením skóre SOFA, kdy dojde v důsledku infekce ke změně o 2 a více bodů tohoto schématu. Pokud se sepsa definuje jinými slovy, jde o život ohrožující stav, který se objevuje při takové odpovědi organismu na infekci, která poškozuje jeho vlastní tkáň a orgány. Panel Sepsis-3 nedoporučil používání termínu těžká sepsa a také prohlásil koncept SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome, syndrom systémové

zánětlivé odpovědi) za neúčinný (to se stalo předmětem určité následné kritiky).

1.1 Jiná a doplňující kritéria sepse

V porovnání s předchozími definicemi sepse nově vymizela řada původních dílčích diagnostických kritérií, jako například definiční kritéria SIRS: ta jsou splněna při přítomnosti dvou a více známek, kterými jsou teplota $<36\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$, tepová frekvence $>90/\text{min}$, dechová frekvence $>20\text{-min}^{-1}$ nebo $\text{PaCO}_2 <4.3\text{ kPa}$ a hodnoty leukocytů $<4\cdot 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ nebo $>12\cdot 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ nebo více než 10 % nezralých neutrofilů (tyčků). V definici sepse také nově nejsou zahrnuty (kromě leukocytů) ani biomarkery zánětu (ve verzi definice z roku 2001 šlo o CRP a prokalcitonin), ani dílčí ukazatele orgánového poškození.

Naopak panel Sepsis-3 upravil definici septického šoku jako podmnožinu sepse, při které jsou související buněčné a metabolické abnormality natolik vyjádřené, že podstatně zvyšují mortalitu. Septický šok lze identifikovat při perzistující hypotenzii vyžadující vazopresory k udržení středního arteriálního tlaku 65 torr a více a výskyt koncentrace laktátu nad $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ navzdory adekvátní tekutinové resuscitaci. Septický šok je důsledkem nerovnováhy mezi požadavky na oxygenaci tkání, utilizací kyslíku na buněčné úrovni a schopnostmi organismu kyslík tkáni dodat. Hemodynamické parametry se tak stávají jedním z klíčů pro adekvátní perfuzi tkání, dodávku kyslíku a jeho utilizaci.

1.2 Pohled klinických biochemiků

V nové definici sepse je jmenovitě uveden laktát. Ale důraz na orgánovou dysfunkci kromě parametrů, které jsou součástí skóre SOFA (kreatinin, bilirubin, trombocyty, oxygenační index, $\text{P}_a\text{O}_2/\text{FiO}_2$), vede k monitorování cystatinu C, kardiálních markerů, koagulačních faktorů, laktátu, prokalcitoninu a dalších. Existují návrhy na další vyšetření, která by měla doplnit současné prvky systému SOFA, část se jich týká dalších parametrů oxygenace (P_aO_2 , S_pO_2 , S_aO_2 , například v souvislosti s používáním ECMO) a opět je zmíněn laktát (Moreno, 2023).

2. Role glykokalyx

Vrstva glykokalyx na lumenálnímu povrchu cévního endotelu je tvořena glykoproteiny, ukotvenými v membráně endotelových buněk, proteoglykany a glykózaminoglykany. Glykokalyx je tvořena vnější (lumenální) méně hustou vrstvou, která zodpovídá za snadný pohyb erytrocytů v ka-

piláře. Vnitřní vrstva glykokalyx je víc denzní a za fyziologického stavu tvoří hlavní bariéru pro makromolekuly v kapilárním řečišti. Integrita glykokalyx je rozhodující nejen pro kapilární permeabilitu, ale také pro adhezi buněk, pohyb erytrocytů v kapiláře a další procesy. Objem vody v glykokalyx endotelu všech cév je odhadován na přibližně 700 ml, není ale součástí cirkulujícího efektivního objemu plazmy. Pro přesun tekutiny a proteinů z plazmatického prostoru do intersticia jsou s ohledem na funkci glykokalyx rozhodující vztahy mezi glykokalyx, endotelovými buňkami, jejich pevnými spojeními a bazální membránou kapiláry, dále chemické a fyzikální vlastnosti glykokalyx, onkotický tlak v subglykokalyxovém prostoru, hydrostatický tlak v kapiláře, rychlost proudu filtrované tekutiny s vytvořením tzv. chráněné oblasti (protected region) a transportní póry v endotelu pro větší plazmatické proteiny. Přesun tekutin a proteinů z plazmy do intersticia popisuje model Michela a Weinbauma, který kromě poměrů hydrostatických a onkotických tlaků zavázal do fyziologie přestupu tekutin a solutů dynamický prvek – proud ultrafiltrátu. Tento proud se v úzkých místech přerušovaných pevných spojení v mezibuněčné štěrbině zrychluje a odpuzuje proteiny z intersticia. Subglykokalyxový onkotický tlak je hlavní řídicí silou v rámci revidovaného Starlingova modelu a onkotický tlak intersticiální tekutiny nemá přímý vztah k filtraci tekutiny přes kapilární endotel. Popsaný mechanismus se týká především nefenestrováných kapilár.

2.1 Glykokalyx a revidovaná Starlingova rovnice

Revize rovnice je založena na modelu Michela a Weinbauma (Michelův-Weinbaumův filtrační model). Revize modelu předpokládá, že semipermeabilní membránou není endotelová vrstva, ale kapilární glykokalyx. V revidovaném modelu existuje trvalý tok z kapilárního prostoru do intersticia, i při nízkých hodnotách kapilárního tlaku. Tento mechanismus například diskvalifikuje možnosti léčby edémů aplikací přípravků zvyšujících onkotický tlak plazmy.

$$F = [(P_c - P_g) - \sigma(\pi_c - \pi_g)]$$

kde jednotlivé proměnné jsou

- P_c , hydrostatický kapilární tlak
- P_g , subglykokalyxový hydrostatický tlak
- σ , reflektivní koeficient (Stavermanův koeficient)
- π_p , onkotický tlak plazmatických proteinů

- π_g , subglykokalyxový onkotický tlak
- F, suma „sil“ působící přes semipermeabilní membránu

Za fyziologických okolností při intaktní glykokalyxové semipermeabilní membráně dochází k průniku vody a malých lipofobních solutů póry (resp. štěrbinami) mezi endotelovými buňkami. Větší proteiny (především s negativními náboji) touto bariérou neprocházejí, Stavermanův reflektivní koeficient pro ně nabývá hodnotu 1 (proteiny jsou jakoby „odráženy“ intaktní vrstvou glykokalyx). V pórech mezi endotelovými buňkami je proud filtrované tekutiny rychlý a zabraňuje difuzi proteinů z intersticia do plazmatického kompartmentu. Proteiny, které se udržují v subglykokalyxové oblasti (protected region, „chráněná oblast“), vytvářejí subglykokalyxový onkotický tlak (π_g). Podobně vytváří tenká vrstva této subglykokalyxové tekutiny hydrostatický subglykokalyxový tlak (P_g).

2.2 Poškození glykokalyx u sepse

Řada patologických mechanismů může vést k poškození glykokalyx a její funkce. Typickou situací je sepsa a septický šok, ale glykokalyx může degradovat zánět, trauma, hyperglykémie a další vlivy. Poškození se může projevit zvýšením složek glykokalyx v plazmě (především heparan sulfát, chondroitin sulfát, hyaluronan, syndecan-1 a další). Patologické vlivy mají za následek na straně jedné snížení objemu glykokalyx (tzv. compaction - komprese, dochází k odlupování – shedding – glykózaminoglykanů ze struktury glykokalyx) a tím i zvětšení plazmatického objemu, na straně druhé porucha glykokalyx zvyšuje přesun vody z plazmatického kompartmentu do intersticia s rozvojem hypovolémie a edémů. Mezi degradační faktory glykokalyx patří heparanáza-1 (HPSE1, endoglukuronidáza), hyaluronidáza, metalloproteázy (především MMP-7, 9 a 13), kyslíkové radikály, prozánětlivé cytokiny (TNFalfa), nerovnováha v systému angiotenzinů a pravděpodobně také ANP (natriuretický peptid typu A). Další faktory přehledně uvádí Sullivan (Sullivan, 2021).

Degradace glykokalyx se projeví lokálně (aktivace endotelu se všemi důsledky) a systémově (augmentace prozánětlivé situace, koagulopatie a další). Je bohužel málo možností, jak kvalitu glykokalyx ovlivnit (Hogwood, 2023; Iba, 2024). Navrhuje se použití heparinu, nízkomolekulárního heparinu nebo heparinových mimetik (s potlačenou antikoagulační aktivitou, blokují HPSE1).

2.3 Pohled klinických biochemiků

Obecně je znalost revidované Starlingovy rovnice důležitá jak pro pochopení patofyziologie, tak pro využití (resp. omezený význam) aplikace koloidních roztoků nebo albuminu pro udržení intravaskulárního objemu. Výzvou pro klinickou biochemii je stanovení biomarkerů degradace glykokalyx. Mezi ně patří například syndecan-1 (cave: CV_1 je menší než CV_g , takže je nutné opakované měření pro posouzení vývoje) nebo heparansulfát. Význam může mít dokonce tak jednoduché vyšetření, jako je index kapilárního úniku (capillary leak index). Jde o poměr CRP ku sérovému albuminu, který se významně a logicky zvyšuje při kombinaci zánětu a úniku albuminu do intersticia (Saravi, 2023). Zvýšení indexu kapilárního úniku může být přítomno při probíhající infekci, nedostatečné antibiotické terapii, u sepse a septického šoku.

3. Využití tekutinové strategie ROSE u sepse a septického šoku

Strategie tekutinové terapie u sepse a septického šoku je rozdělena do 4 fází (Malbrain, 2018):

- aplikace tekutin pro resuscitaci (R)
- optimalizace přívodu tekutin (O)
- stabilizace (S)
- evakuace (E)

3.1 R: Resuscitace

V první fázi (sepse, septický šok) je důvodem pro tekutinovou terapii symptomatická hypovolémie.

Hypovolémie z jakýchkoli příčin (krvácení, popáleniny, trauma, systémový zánět, operační zátěž, sepsa, profuzní zvracení nebo průjmy, jiné ztráty tekutin, redistribuce tekutin z různých důvodů, vliv farmak, heat shock a další) je provázena kompenzatorní reakcí, která zahrnuje především

- aktivaci sympatiku s uvolněním katecholaminů (vazokonstrikce),
- aktivaci systému renin-angiotenzin-aldosteron, RAAS (retence Na^+ a vody, vazokonstrikce),
- tvorbu vazopresinu (retence vody a vazokonstrikce).

Pokud tyto mechanismy budou selhávat, rozvine se hypovolemický šok se závažnými důsledky na orgánové funkce.

Pro udržení efektivního cirkulujícího objemu je potřebné dodat tekutiny rychle a cíleně s ohledem na stav cirkulace. Podle poslední verze Surviving Sepsis Campaign

(SSC) z roku 2021 (Evans, 2021) je hypoperfuze způsobená sepsí nebo septickým šokem důvodem pro aplikaci nejméně 30 mL·kg⁻¹ i.v. krystaloidů během prvních 3 hodin resuscitace. Efektivitu resuscitace lze posoudit klinicky, ale také pokud možno objektivními postupy. Cílem je zabránit jak nedostatečné tekutinové resuscitaci, tak tekutinovému přetížení. Dodávka tekutin může být provázena aplikací vazopresorů.

Pro hodnocení efektivity tekutinové resuscitace a orgánové perfuze u sepse a septického šoku je k dispozici řada dynamických biomarkerů, které se týkají hlavně oběhových parametrů, z nichž řada se zjistí jak pomocí instrumentálních metod (včetně echokardiografie), tak pomocí jednoduchých postupů u lůžka (odpověď na pasivní zvednutí nohou, capillary refill time). Z laboratorních ukazatelů je v SSC guidelines zmiňováno snížení koncentrace laktátu jako reakce na tekutinovou terapii (Evans, 2021).

3.2 O: Optimalizace

Dochází k retenci tekutin (používá se pojem „ebb“ fáze) a je vztah mezi závažností onemocnění, rizikem orgánových dysfunkcí a pozitivitou tekutinové bilance. Různé příčiny sepse a septického šoku mohou vést k různé akumulaci tekutin. Monitorování musí být zaměřeno na tekutinové přetížení a akumulaci vody v organismu jako celku i orgánově specificky (v plicích nebo v břišní dutině s intra-abdominální hypertenzí).

3.3 S: Stabilizace

Odezněla fáze šoku nebo bezprostředního rizika šoku, pacient je ve steady state, nehrozí rozvoj orgánové dysfunkce.

Hradí se průběžná ztráta tekutin (močí nebo v rámci filtračních technik, gastrointestinálním traktem, insensibilní ztráty) a doplnění (patologických) tekutinových ztrát (drény, převazy). Pokud je to možné, zvažovat do bilance (na straně ztrát) tekutiny ve třetím prostoru. Do příjmu tekutin je potřebné zahrnout všechny zdroje, parenterální, enterální, aplikace léků apod.

Je nutné věnovat pozornost „skrytému“ příjmu tekutin (fluid creep, nosné médium pro léky, proplachování kateétrů apod. – tvoří 33 % příjmu tekutin, další jsou udržovací tekutiny 25 %, výživa 33 %, resuscitační příjem jen 6 %).

3.4 E: Evakuace

Mohou nastat dva scénáře (pojem „flow“ je opakem předchozí fáze „ebb“):

- flow fáze se spontánní eliminací nadbytečných tekutin, které se retinovaly v předchozím období
- no-flow fáze s přetrvávající retencí, s kapilárním únikem tekutin („global increased permeability syndrome“)

Nastává **de-resuscitace**, což je pojem označující „pozdní cílenou eliminaci tekutin (pomocí farmak a ultra-filtrace) a pozdní konzervativní tekutinovou terapii“.

3.5 Pohled klinických biochemiků

Ve fázi R s hypovolémií není mnoho času na monitorování renálních funkcí, které mohou informovat o reakci ledvin (při dosud intaktním tubulárním aparátu) na neefektivní cirkulující objem. Při ideální organizaci a rychlé odpovědi laboratoře lze opakovaně poskytnout minimálně koncentraci Na⁺ v moči, případně s výpočtem frakčních exkrecí iontů. Měření laktátu (v rámci kompletního acidobazického nálezu z arterie a parametrů oxygenace) je v této fázi samozřejmou nutností.

Ve fázi O, případně S, dominuje monitorování biomarkerů orgánové dysfunkce, především se zaměřením na funkci ledvin (biomarkery akutního poškození ledvin, AKI), plic (parametry oxygenace), myokardu (troponiny, natriuretické peptidy), jater (bilirubin, koagulace), monitorují se rovněž biomarkery zánětu v rámci multimarkerového sledování. Opomíjeným postupem je bilancování tekutin a iontů (znalost všech příjmů na straně jedné a všech ztrát na straně druhé), ačkoli v těchto fázích dochází k největší kumulaci tekutin s rizikem tekutinového přetížení.

Ve fázi E je jednou z příležitostí laboratoře přispět k rozpoznání situace, kdy se riziko tekutinového přetížení mění v riziko hypoperfuze. Jsou-li funkční ledviny, přichází v úvahu monitorování tubulárních funkcí (změna poměru Na⁺/K⁺ v moči ve smyslu aktivace RAAS). Rozvoj AKI může nastat v kterékoli fázi a samotné monitorování diurézy a kreatininu (pro klasifikaci v systému AKIN) není dostačující. Je potřebné, aby laboratoř nabídla vhodné biomarkery pro identifikaci stadia 1S (bez „klasických“ známek funkčních změn, ale s pozitivitou biomarkerů poškození).

Pro všechny uvedené situace by mělo platit, že laboratorní vyšetření charakterizující vnitřní prostředí organismu jsou poskytnuta v logickém komplexu (plazma, moč, acidobazická rovnováha a další) a pokud možno současně. Útržkovitě ordinovaná vyšetření ztrácejí svou vypovídací hodnotu. Tento princip se týká i níže uvedených poznámek k monitorování dalších stavů.

4. Tekutinové přetížení

Prakticky ve všech fázích, ale především po fázi resuscitace, je nutné posuzovat riziko rozvoje tekutinového přetížení (lze používat vhodnější pojem akumulace tekutin, fluid accumulation, zcela nesprávný pojem je intravasikulární hypervolémie). Tekutinové přetížení nastává při překročení hranice 10 % indexu vypočteného jako poměr kumulativní bilance tekutin v litrech a bazální hmotnosti pacienta v kg (*100, v procentech).

4.1 Klinické známky tekutinového přetížení

Mezi klinické známky tekutinového přetížení patří hyperhydratace (overhydration), postupné zvyšování tělesné hmotnosti, pozitivní kumulativní bilance tekutin (mohou se uplatnit bioimpedanční metody), které mají klinické důsledky na orgánové systémy. Může být hypovolémie, normovolémie nebo hypervolémie, může být přítomen intersticiální edém nebo edém není přítomen (s nebo bez syndromu globálně zvýšené permeability) a vždy je zhoršená prognóza (uplatňuje se dále vliv věku, komorbidit, fáze onemocnění).

Důsledky tekutinového přetížení (Malbrain 2014; Malbrain, 2018; Malbrain, 2020; Malbrain 2022; Hawkins, 2020) se z hlediska orgánových dysfunkcí mohou projevit na respiračním aparátu, jaterních funkcích, gastrointestinálním traktu a viscerálním kompartmentu, abdominální stěně, ledvinách, centrálním nervovém systému a kardiovaskulárním systému.

4.2 Pohled klinických biochemiků

Mezi laboratorní známky tekutinového přetížení (je způsobené nejvíce používanými krystaloidy) patří vliv hemodiluce a orgánové důsledky hypervolémie. Hemodiluce se projevuje jako dynamicky se snižující hemoglobin, albumin, celkový protein, rozvoj hyponatrémie a hypoosmolality (s ohledem na složení použitých krystaloidů) a acidémie z diluční acidózy. Změny koncentrace proteinů je třeba posuzovat v krátkých intervalech (4-6 hodin po větších objemech infundovaných roztoků). Tekutinové přetížení s hypervolémií se projevuje zvýšením BNP nebo NT-proBNP z volumové zátěže myokardu, změnami poměru Na^+/K^+ v moči ve smyslu inhibice RAAS, zvýšenou diurézou se sníženou osmolalitou moče (je-li zachována diluční schopnost ledviny), snížením PaO_2 a zvýšením PaCO_2 při akumulaci tekutiny v plicním parenchymu a plicních kapilárách v rámci ARDS, zvýšením jaterních enzymů (při

městnání v játrech). Hypervolémie se může projevit sníženou clearancí laktátu a zvýšením jeho koncentrace v plazmě.

5. Tekutinová strategie a typ infuzních roztoků

Trvalá diskuse o použití koloidů vs. krystaloidů není ukončena ani s výsledky posledních studií. Díky revidované Starlingově rovnici je možnost „nasávání“ tekutin z intersticia do plazmatického kompartmentu zvýšením onkotického tlaku prakticky vyloučena, ale přece jen je řada situací, kdy má použití koloidních roztoků určité benefity.

5.1 Koloidy

Koloidy mají v cirkulaci delší poločas než krystaloidy a intravasikulární „expanzi“ (volume-sparing effect) mají asi o 40 % vyšší než krystaloidy (dřívější úvaha o trojnásobně vyšší volumexpanzi koloidů padla díky revidované Starlingově rovnici). Použití HES a želatinových derivátů je v současné době u pacientů se sepsí a v septickém šoku kontrindikováno, problémem je nefrotoxicita, riziko rozvoje AKI i vyšší mortalita (SSC, 2021). Zbývá proto především použití albuminu a plazmy (Finfer, 2018).

Úvaha o použití albuminu musí být podložena znalostí iontového složení a osmolality roztoku a musí respektovat klinické souvislosti. Samotná hypoalbuminémie není důvodem pro paušální aplikaci albuminu, podobně jako není důvodem pro podání albuminu snaha o dosažení volumové expanze nebo reabsorpci tekutiny z intersticia (Finfer, 2018). Otázku aplikace albuminu u cirhózy řeší recentní guidelines ICTM (International Collaboration for Transfusion Medicine; Callum, 2024). Pro většinu ostatních situací, včetně pacientů v kritických stavech, může být použit krystaloid, protože (s výjimkou sepse, ARDS a popáleninového traumatu) nebyl prokázán rozdíl mezi krystaloidy a albuminem z hlediska mortality.

Podání plazmy působí na intravasikulární objem asi 4-6 hodin, u semisyntetických koloidů je to asi 1-4 hodiny. Po podání koloidů klesá GFR, pravděpodobně opět změnou poměrů mezi proměnnými ve Starlingově rovnici (Finfer, 2018).

5.2 Krystaloidy

Použití krystaloidů je v guidelines SSC doporučeno jako první volba tekutiny pro resuscitaci u pacientů se sepsí nebo septickým šokem. Z hlediska typu jsou vhodnější balancované krystaloidy než fyziologický roztok (Evans, 2021).

Úvaha o použití fyziologického roztoku musí být podložena znalostí acidobazické situace, chloridémie (lépe hodnoty korigovaných chloridů) a renálních funkcí. Fyziologický roztok je výhodný v situaci, kdy je třeba korigovat metabolickou alkalózu. Jinak je tento roztok pro resuscitaci hypovolemických pacientů první volbou. Jedno z rizik použití fyziologického roztoku je vznik plíživého tekutinového přetížení (fluid creep), protože je používán jako nosné vehikulum pro léky. Někdy je tento postup zbytečný, protože situací, kdy je nutné použít fyziologický roztok jako nosné medium, není mnoho a lze použít roztoky glukózy. Situací, kdy je nutné při aplikaci léku použít fyziologický roztok, může být překvapivě málo, příklady uvádí Van Regenmortel (Van Regenmortel, 2021). Podobně je možné snížit přívod NaCl při racionální strategii pro udržovací terapii (jde o tzv. maintenance fluids).

U balancovaných krystaloidů (někdy se používá pojem pufované, buffered, roztoky) je nadbytek chloridového aniontu nahrazen metabolizovatelným aniontem, jde zejména o:

- acetát (vhodný u postižení jater, je metabolizován extrahepatálně; pufovací potenciál přeměny na hydrogenkarbonát je vyšší než u laktátu; není vhodný jako součást roztoků pro hemodialýzu – vede k hypotenzi, dysfunkci myokardu a metabolickým změnám)
- laktát (nelze použít u jaterního selhání)
- glukonát (částečně metabolizován v játrech, eliminován močí, nižší potenciál přeměny na hydrogenkarbonát)
- malát

Hydrogenkarbonát (bikarbonát) může být součástí roztoků pouze ve skleněných nádobách.

Na velkých studiích (například Australsko-Novozélandská studie s 5 037 pacienty z 53 ICU) nebyl prokázán rozdíl mezi oběma typy roztoků (balancované vs. fyziologický roztok) z hlediska 90denní mortality, použití náhrady funkce ledvin (RRT, renal replacement therapy), změny koncentrace kreatininu nebo nežádoucích účinků (Finfer, 2022). V systematickém přehledu a metaanalýze (Hammond, 2022) bylo konstatováno, že použití balancovaných krystaloidů (v porovnání s fyziologickým roztokem) vedlo spíše k redukci mortality (bez velké statistické váhy) s lepším efektem balancovaných roztoků u septických pacientů. Naopak u pacientů s traumatickým postižením mozku převládal benefit použití fyziologického roztoku.

Společným problémem všech podobných studií je obtížná generalizace výsledků dosažených u heterogenních populací. Pacienti v rameni s balancovanými roztoky často dostávají fyziologický roztok jako medium pro léky nebo pro udržování průchodnosti linek, mohou mít odlišný acidobazický nálezh, přítomnost komorbidit, tekutiny se mohou podávat v rámci resuscitace nebo se evidují všechny podané tekutiny, mortalita může být hodnocena u pacientů pobývajících odlišnou dobu na jednotce intenzivní péče a na standardním oddělení a podobně. Autoři se většinou přiklánějí k benefitu použití balancovaných roztoků a nutnosti individualizace přístupů.

5.3 Pohled klinických biochemiků

Monitorování je logicky zaměřeno na renální funkce, koncentrace iontů v séru a moči a měření osmolality séra a moči. Hypoosmolální roztoky mohou zhoršit riziko edému mozku u poranění hlavy. Také znalost funkce jater (posouzení dynamiky koncentrace bilirubinu, jehož monitorování je součástí SOFA systému) může být vodítkem pro volbu roztoku z hlediska možnosti metabolizace organického aniontu u balancovaných roztoků. Hlavním problémem ale zůstává nadměrný přívod chloridového aniontu prostřednictvím fyziologického roztoku. Za prokázáný lze považovat negativní vliv hyperchlorémie na ledviny i outcome pacientů. Příčiny jsou komplexní: acidobazická porucha, porucha funkce ledvin (s vlivem na mortalitu), dysbalance vody a iontů, porucha funkce gastrointestinálního traktu, porucha myokardu (změny kontraktility, snížení odpovědi na inotropní látky) a řada dalších důsledků.

Je proto překvapivé, jak bývá chloridový anion opomíjeným vyšetřením. Hypochloridémie je jako projev kompenzačního úsilí ledvin při respirační acidóze například v rámci chronické obstrukční plicní choroby (CHOPN) typickým nálezem, ale například při současné existenci hypoalbuminémie (s hypoalbuminemickou metabolickou alkalózou) nemusí být koncentrace chloridů v plazmě u CHOPN snížena. Naproti tomu má hyperchloridémie řadu výše uvedených negativních konsekvencí.

6. Infuzní roztoky a acidobazická rovnováha

Stewartův přístup k interpretaci acidobazické rovnováhy je založen na teorii elektroneutality a tří hlavních, tzv. nezávisle proměnných. Těmi jsou: pCO_2 , diference silných iontů (strong ion difference, SID) a suma slabých netěka-

vých kyselin (A_{tot} , reprezentovaná počtem nábojů fosfátů a nábojů molekuly albuminu).

6.1 Aplikace Stewartova přístupu v infuzní terapii

Zajímavou aplikací Stewartova přístupu (hodnocení SID roztoků in vitro a in vivo) je infuzní terapie (Lorente, 2023; Kilic, 2020). Podle této teorie platí, že nízká hodnota SID v roztoku může vést k acidifikaci organismu a naopak vysoká hodnota SID v roztoku může organismus alkalizovat. Vliv podání roztoku může být dále diluční: hypoosmolální roztok povede ke změně sumy slabých netěkavých kyselin (A_{tot} s mírným rozvojem hypoalbuminecké alkalózy) a k poklesu SID (s rozvojem diluční acidózy). U koncentrovaných (hyperosmolálních) roztoků je změna opačná. Čím větší objem roztoku je infundován, tím více může být ovlivněna především SID plazmy. Dále, čím větší je rozdíl mezi SID roztoku a SID organismu, tím vyšší je vliv roztoku na acidobazický stav. Část běžně používaných krystaloidů má SID blízke nule (typicky „fyziologický“ roztok) a jejich aplikace bude acidifikovat. Naopak má-li roztok SID blízke hodnotě SID plazmy, bude jeho vliv na acidobazickou rovnováhu z hlediska ovlivnění SID plazmy nevýznamný. SID infuzních roztoků může být jiný in vitro a in vivo, po zmetabolizování organického aniontu, který je v rámci elektroneutality nahrazen hydrogenukarbonátem. Různé organické anionty mohou mít různý alkalizující potenciál, jak je uvedeno výše.

6.2 Pohled klinických biochemiků

Protože v oblasti infuzní terapie se pojem SID roztoků (především in vivo, po zmetabolizování organického aniontu balancovaného roztoku) běžně používá, je logické, aby se i interpretace acidobazických poruch pacienta opírala o přístup Stewart a Fencl. V praxi je někdy obtížné sladit odběry tak, aby byly v jednom časovém okamžiku k dispozici jak ionty (Na^+ , K^+ , Cl^-), tak parametry slabých netěkavých kyselin (s výpočtem nábojů albuminátu a fosfátů), společně s hodnotou pH a krevních plynů, ale jde opět o organizační záležitost.

7. Stručné shrnutí problémů tekutinové strategie

Předložená tématica je samozřejmě doménou intenzivistů. Jednoznačné doporučení přívodu tekutin během prvních 24 hodin resuscitace u pacientů se sepsí a septickým šokem neexistuje, nejsou zhodnoceny výhody a nevýhody jak restriktivní, tak liberální tekutinové strate-

gie. Doporučení SSC 2021 (Evans, 2021) dokonce zmiňuje nejistotu použití jedné ze zmíněných strategií u pacientů, u nichž jsou po počáteční resuscitaci přítomny známky hypoperfúze a volumové deplece. Úsilí intenzivistů je soustředěno na to, aby nedošlo k akumulaci tekutin větší, než je potřeba v resuscitační fázi šoku a byla zřejmá odpověď na podaný objem. Pokud není patrná odpověď organismu na tekutiny, je potřebné včas omezit přívod tekutin. Klinický biochemik v tomto případě zodpovídá za organizaci spolupráce, dává k dispozici parametry umožňující posoudit rozvoj hypovolémie s orgánovou hypoperfúzí a naopak parametry použitelné pro hodnocení možnosti tekutinového přetížení. Obtížný úkol představuje například de-resuscitace, která nesmí být ani rychlá, ani dlouhého trvání ani příliš agresivní. Vždy je potřebné komplexní monitorování všech dostupných ukazatelů

Klinický biochemik by měl být partnerem i pro řízení infuzní terapie, protože podávané tekutiny musejí být zváženy z hlediska typu (krystaloidy vs. koloidy vs. plazma), iontového složení (balancované vs. nebalancované, vliv na ABR podle hodnoty SID in vivo), způsobu podání (bolus vs. kontinuální), rychlosti aplikace, rizika plíživého přetížení tekutinami používaných jako nosné medium pro léky (fluid creep). V rámci týmové spolupráce může být vzdělaný klinický biochemik platným partnerem klinických kolegů.

LITERATURA

1. Awad, S., Allison, S.P. and Lobo, D.N. (2008) 'The history of 0.9% saline', *Clinical Nutrition* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2008.01.008>.
2. Callum, J. et al. (2024) 'Use of Intravenous Albumin', *CHEST* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2024.02.049>.
3. Evans, L. et al. (2021) 'Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021', *Intensive Care Medicine* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06506-y>.
4. Finfer, S. et al. (2022) 'Balanced Multielectrolyte Solution versus Saline in Critically Ill Adults', *New England Journal of Medicine* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa2114464>.
5. Hammond, N.E. et al. (2022) 'Balanced Crystalloids versus Saline in Critically Ill Adults — A Systematic Review with Meta-Analysis', *NEJM Evidence* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1056/evidoa2100010>.

6. **Hawkins, W.A. et al. (2020)** 'Fluid Stewardship During Critical Illness: A Call to Action', *Journal of Pharmacy Practice* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1177/0897190019853979>.
7. **Hogwood, J., Gray, E. and Mulloy, B. (2023)** 'Heparin, Heparan Sulphate and Sepsis: Potential New Options for Treatment', *Pharmaceuticals* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.3390/ph16020271>.
8. **Iba, T. et al. (2024)** 'Managing sepsis and septic shock in an endothelial glycocalyx-friendly way: from the viewpoint of surviving sepsis campaign guidelines', *Annals of Intensive Care*, 14(1), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1186/S13613-024-01301-6/FIGURES/4>.
9. **Malbrain, M.L.N.G. et al. (2014)** 'Fluid overload, de-resuscitation, and outcomes in critically ill or injured patients: A systematic review with suggestions for clinical practice', *Anaesthesiology Intensive Therapy* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.5603/AIT.2014.0060>.
10. **Malbrain, M.L.N.G. et al. (2020)** 'Intravenous fluid therapy in the perioperative and critical care setting: Executive summary of the International Fluid Academy (IFA)', *Annals of Intensive Care* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13613-020-00679-3>.
11. **Malbrain, M.L.N.G., Martin, G. and Ostermann, M. (2022)** 'Everything you need to know about deresuscitation', *Intensive Care Medicine* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00134-022-06761-7>.
12. **Malbrain, M.L.N.G. et al. (2018)** 'Principles of fluid management and stewardship in septic shock: it is time to consider the four D's and the four phases of fluid therapy', *Annals of Intensive Care* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13613-018-0402-x>.
13. **Moreno, R. et al. (2023)** 'The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score: has the time come for an update?', *Critical Care* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13054-022-04290-9>.
14. **Saravi, B. et al. (2023)** 'Capillary leak and endothelial permeability in critically ill patients: a current overview', *Intensive Care Medicine Experimental* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40635-023-00582-8>.
15. **Singer, M. et al. (2016)** 'The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)', *JAMA - Journal of the American Medical Association* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>.
16. **Sullivan, R.C. et al. (2021)** 'Endothelial glycocalyx degradation during sepsis: Causes and consequences', *Matrix Biology Plus* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2021.100094>.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 167–170

NOVÝ KONCEPT PRÁCE NUTRIČNÉHO TERAPEUTA V SYSTÉME ZDRAVOTNEJ STAROSTLIVOSTI NEW WORK CONCEPT OF NUTRITIONAL THERAPIST IN THE HEALTH CARE SYSTEM

Vladimír Heriban

Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky

vladimir.heriban@health.gov.sk

SÚHRN

Súčasná prax zdravotnej starostlivosti je okrem iného charakteristická aj tým, že veľké množstvo pacientov čerpajúcich túto starostlivosť najrôznejšieho druhu má či už ako primárnu alebo sekundárnu diagnózu nejakú formu metabolického znevýhodnenia alebo komplikácie liečby svojej primárnej diagnózy. V lôžkovej zdravotnej starostlivosti čelíme závažným komplikáciám v liečbe z dôvodu častej malnutrície pacientov, v ambulantnej najmä nízkej efektívnosti a účinnosti využitia zdravotníckych pomôcok z dôvodu neadekvátnej edukácie pacientov. Ošetrojúci lekári v nemocniciach ani ambulantní špecialisti však nemajú dostatok času ani odborných vedomostí na to, aby pacientom nastavovali adekvátny stravovací režim, resp. v potrebnom rozsahu pacientov edukovali. Preto vyvstáva akútna potreba pokrytia tejto činnosti na profesionálnej úrovni špecializovanými zdravotníckymi pracovníkmi – nutričnými terapeutmi, ktorí majú na túto činnosť potrebné vzdelanie aj skúsenosti. Tento stav sa Ministerstvo zdravotníctva rozhodlo riešiť systémovo – etablovaním zdravotníckeho povolania „nutričný terapeut“ do systému zdravotnej starostlivosti hradenej z verejného zdravotného poistenia. Predkladaný článok popisuje spôsob, akým chce MZ SR tento cieľ dosiahnuť.

Kľúčové slová: malnutricia; nutričný terapeut; zdravotnícke pomôcky; edukácia pacientov

ABSTRACT

The present health care is being characterized also by the serious problem of a lot of patients taking different types of health care suffering with some metabolic disorder as a primary or secondary diagnosis of metabolic disorders. In the cases of hospitalized patients we are facing serious health care complications caused by frequent malnutrition or a therapy complication due to the inability of doctors to set up the food composition, in the cases of outpatients due to very low effectiveness and efficiency of medical devices. The reason is in inadequate patient education. Neither hospital nor ambulance doctors have enough time and specialized education for setting the necessary nutritional regime or patient education. That's the reason for an acute need of the activity of specialized health care professionals – nutritional specialists with dedicated education and experience. The Ministry of Health has decided to establish a nutritional specialist as the health care provider paid by the Health Insurance Companies. The plan of the Ministry of Health to achieve this goal is a subject of this article.

Key words: malnutrition; nutritional therapist; medical devices; patient education

ÚVOD

Jednou zo základných podmienok pre financovanie zdravotnej starostlivosti je zákonná podmienka účelnosti, efektívnosti a hospodárnosti vynakladania prostriedkov verejného zdravotného poistenia (zákon č. 581/2004 Z. z. o zdravotných poisťovniach, dohľade nad zdravotnou starostlivosťou a o zmene a doplnení niektorých zákonov, § 15 ods. (1) písm. e)). V podmienkach komplexnej špecializovanej zdravotnej starostlivosti (lôžkovej aj ambulantnej) je možné splniť túto podmienku iba v prípade, že si svoju nezastupiteľnú úlohu splnia všetky články zdravotnej starostlivosti vo vzájomnej súčinnosti a nadväznosti: lekár s náležitou diagnostikou a terapiou, ďalšie podporné zdravotnícke povolania zabezpečujúce pacientovi adekvátny rehabilitačný či iný liečebný režim, životný štýl a spôsob stravovania. V prípadoch, v ktorých sú pre daný stav a jeho kompenzáciu k dispozícii aj účinné zdravotnícke pomôcky, je potrebné ich adekvátne použitie. Očakávaný terapeutický výsledok sa však dostaví jedine v prípade, že všetky tieto zložky pracujú v aktívnej súčinnosti a spolupráci s edukovaným a adherentným pacientom.

Jedným z veľmi závažných, aj keď nie veľmi viditeľných problémov v súčasnej praxi zdravotnej starostlivosti na Slovensku je malnutrícia – stav nedostatočnej výživy až podvýživy pacientov, ku ktorej dochádza ako následok ich zdravotného stavu alebo ako nežiaduci vedľajší účinok zvolenej formy terapie, ktorá často nemá alternatívu. Tento stav komplikuje a sťažuje účinnú liečbu širokého spektra chorôb, resp. pacientov vrátane tých najkomplikovanejších – polytraumatických. Problém malnutrície sa týka prakticky všetkých vekových skupín pacientov. Pre dominantnú časť lekárov-špecialistov je malnutrícia závažnou komplikáciou zdravotného stavu ich pacientov, na riešenie ktorej nie sú odborne dostatočne pripravení a nemajú ani k dispozícii najnovšie poznatky pre jej zvládanie v podmienkach toho ktorého pacienta. Jeho liečba sa tak stáva menej účinná a efektívna, predlžuje sa, predražuje sa a čo je najhoršie: Liečebný výsledok sa tak dostaví oveľa neskôr, často v menšej miere, ak sa vôbec dosiahne.

Základnou príčinou tohto stavu je dlhodobá skutočnosť, že v lôžkových zdravotníckych zariadeniach de facto nie sú k dispozícii špecialisti vzdelaní v otázkach riadenej výživy pacientov s rôznymi klinickými diagnózami a zdravotnými stavmi, ktorí by sa malnutričným pacientom mohli a mali individuálne venovať. K dispozícii sú iba diétne sestry so vzdelaním orientovaným všeobecne, aj tých

je však málo a svoju prácu sústreďujú predovšetkým na zostavovanie nemocničných jedálnych lístkov. Pritom naše zdravotnícke školstvo každoročne produkuje desiatky absolventov v odbore „nutričný terapeut“, ktorí sú na riešenie malnutričných pacientov na individuálnej báze špeciálne vzdelaní a dokázali by ich v spolupráci s lekármi efektívne riešiť. Tí si však v praxi dnes spravidla hľadajú iný spôsob svojej profesionálnej seberealizácie, pretože ich zdravotnícke výkony ako nutričných terapeutov nie sú hrazené z verejného zdravotného poistenia. Preto je ich profesionálna seberealizácia do značnej miery obmedzená. V tomto je zrejme aj hlavná prekážka plnohodnotného uplatnenia sa nutričných terapeutov v klinickej aj ambulantnej praxi. Ak by však mali možnosť naplno v praxi rozvinúť svoj potenciál, pretože ich výkony by hradili zdravotné poisťovne, liečba veľkého počtu pacientov najrôznejších diagnóz by bola nepochybne účinnejšia, efektívnejšia, rýchlejšia a aj finančne menej nákladná. Nehovoriac o jej kvalite a bezpečnosti. Preto sme sa na Ministerstve zdravotníctva (ďalej len „MZ SR“) rozhodli otvoriť projekt, na konci ktorého by malo byť zdravotnícke povolanie nutričný terapeut systémovou súčasťou zdravotnej starostlivosti hrazenej z verejného zdravotného poistenia.

Základný cieľ – nutričný terapeut v hradenej zdravotnej starostlivosti

Východisková predstava MZ SR vidí nutričného terapeuta ako iného zdravotníckeho pracovníka, ktorý má v praxi zdravotnej starostlivosti podobné postavenie ako napr. ortopedický technik alebo fyzioterapeut – na základe preskripcie lekára realizuje svoje konkrétne výkony danému pacientovi, ktoré sú priamo jemu hrazené z verejného zdravotného poistenia. Je zrejmé, že na takéto postavenie nutričného terapeuta je potrebné zabezpečiť jeho adekvátne miesto v legislatíve, ale aj samotnej zdravotnej starostlivosti či povedomí laickej verejnosti.

Aké má byť teda uplatnenie nutričného terapeuta po novom? Vidíme ho v troch základných segmentoch:

- A. Lôžková zdravotná starostlivosť;
 - B. ambulantná zdravotná starostlivosť;
 - C. samostatná činnosť pri pacientovi.
- A. Nutričný terapeut by mal byť súčasťou personálu každého lôžkového zdravotníckeho zariadenia s počtom lôžok vyšším, ako bude dohodnuté s odbornou verejnosťou a zdravotnými poisťovňami. V takej pozícii bude zárukou, že aj komplikované prípady budú mať

zabezpečenú špecializovanú nutričnú starostlivosť priamo na lôžku a táto starostlivosť bude aj realizovaná v spolupráci s prípravou stravy či pri príprave pacienta na prepustenie z lôžkovej zdravotnej starostlivosti. Nutričný terapeut bude konať v úzkej spolupráci s príslušným lôžkovým oddelením, jeho primárom, ošetrojúcim lekárom pacienta a cez nich v prípade možnosti aj s diétnou sestrou. Bude mať aj preventívny aspekt.

B. Ambulancie

- a. klinickej a metabolickej výživy vedené lekármi-špecialistami budú mať možnosť či už ako súčasť svojej ambulantnej jednotky alebo externe spolupracovať s nutričným terapeutom, ktorá bude spočívať v edukácii a navrhovaní stravovacieho režimu;
- b. dialyzačné, diabetologické a ďalšie odborné ambulancie i ambulancie všeobecných lekárov pre deti a pre dospelých pracujúce s pacientmi s akokoľvek primárnou či sekundárnou diagnózou metabolického znevýhodnenia budú mať k dispozícii špecialistu – nutričného terapeuta, ktorý za odborného lekára zabezpečí edukáciu pacienta a prípadné ďalšie úkony podľa pokynov lekára (napr. spustenie zdravotníckej pomôcky, edukáciu na jej používanie, vysvetlenie obsahu jej záznamov a pod.). Tým sa uvoľní kapacita odborného lekára na priamu medicínu.

C. Nutričný špecialista bude môcť svoju činnosť vykonávať aj samostatne návštevým spôsobom. Formou návštev pacientov s potrebou nutričnej edukácie, poradenstva a realizácie odborných odporúčaní lekára sa bude podieľať na efektívite lekárom stanovenej terapie, bude môcť robiť rozborov vplyvu stravy na stav nutrie alebo kompenzácie pacienta, analýzu a vysvetlenie údajov z monitoringu pomocou zdravotníckej pomôcky a pod.

Nutričný terapeut, ktorého výkony budú hradené z verejného zdravotného poistenia, bude teda určitou formou vysoko odbornej medicínskej asistencie lekára ošetrojúceho pacienta s malnutríciou alebo metabolickým znevýhodnením či komplikáciou primárnej diagnózy, vykonávateľom odbornej edukácie, vyhodnocovateľom dosahovaných výsledkov a odborníkom poskytujúcim lekárovi odbornú spätnú väzbu o stave pacienta a účinkoch či výsledkoch lekárom stanovenej liečby.

Pre takéto činnosti musia byť splnené viaceré základné, legislatívne a iné predpoklady:

- a. Právnym predpisom adekvátnej úrovne jasne stanovené kvalifikačné predpoklady: Typ a rozsah vzdelania a prípadná prax. V praxi máme absolventov/ky rôznych študijných odborov na úrovni strednej aj vysokej školy, pregraduálneho aj postgraduálneho vzdelávania. Nie všetky však dokážu pracovať samostatne v rozsahu, ktorý sa očakáva od nutričného terapeuta v zmysle projektu. Zámerom je sprístupniť zdravotníckemu povolaniu nutričným terapeutom s II. stupňom vysokoškolského vzdelania v príslušnom odbore;
- b. musí byť jednoznačne definované, aké výkony bude nutričný terapeut vykonávať ako realizáciu priamych pokynov lekára v lekárskej správe pacienta a ktoré výkony môže nutričný terapeut robiť samostatne na svoju zodpovednosť (vyhodnocovanie plnenia kritérií liečby zadané lekárom pre daného pacienta; spätná väzba lekárovi o priebehu liečby, kontrola správnosti používania zdravotníckych pomôcok, poradenstvo pri riešení problémov, ...);
- c. celá škála výkonov nutričného terapeuta musí byť zaradená do Zoznamu zdravotníckych výkonov MZ SR;
- d. nevyhnutnou súčasťou ich definície bude musieť byť aj určenie nákladových cien každého zdravotníckeho výkonu formou Registračného listu zdravotníckeho výkonu;
- e. ďalším zámerom je umožniť nutričnému terapeutovi na základe odporúčenia lekára-špecialistu predpisovať určitý okruh zdravotníckych pomôcok a tak odbremeniť ambulantnú činnosť lekára (najmä pri stálom používaní určitých zdravotníckych pomôcok);
- f. záverečnou, ale rovnako nevyhnutnou bude dohoda so zdravotnými poisťovňami o zazmluvňovaní daných výkonov vybraným nutričným terapeutom.

Kroky Ministerstva zdravotníctva pre dosiahnutie cieľa

MZ SR si pre dosiahnutie príslušného cieľa vytýčilo postupnosť nasledovných krokov:

- a. ako prvé sformovalo odbornú pracovnú skupinu z radov lekárov-špecialistov na klinickú výživu, hlavného odborníka pre odbor nutričný terapeut, nutričných terapeutov z praxe, pedagogických pracovníkov podieľajúcich sa na vysokoškolskom vzdelávaní nových nutričných terapeutov a ďalších relevantných odborníkov z praxe;
- b. na pracovnom stretnutí si táto OPS vytýčila tri základné ciele svojej práce:

- zosumarizovať vecný návrh úprav zákonov a nižších právnych predpisov potrebných pre vytvorenie adekvátneho legislatívneho prostredia, ktorý zaručí nový rozsah kompetencií a zodpovedností nutričného terapeuta v klinickej a ambulantnej praxi;
 - tvorbu novej koncepcie odboru „nutričný terapeut“ vytvárajúcej všetky potrebné podmienky pre prácu nutričného terapeuta ako zdravotníckeho povolania hrađeného z verejného zdravotného poistenia vrátane definovania jeho priameho napojenia na lekára-špecialistu, ktoré bude výkonným orgánom realizujúcim jeho pokyny tak, aby bol príslušný lekár-špecialista odbremený od opakovaných rutinných činností nevyžadujúcich lekársku kvalifikáciu;
 - zostavenie kompletného zoznamu zdravotníckych výkonov zdravotníckeho povolania nutričný terapeut vrátane návrhu ich registračných listov ako podkladu pre ich adekvátne nacenenie.
V súčasnosti OPS finalizuje svoj prvý návrh na legislatívne úpravy a začína pracovať na novelizácii koncepcie odboru. Po vytvorení príslušných dokumentov je reálne očakávať najmä v oblasti legislatívnych úprav aj nevyhnutné vnútrorezortné pripomienkovacie konanie na MZ SR;
- c. po skompletizovaní východiskových podkladov a ich odsúhlasení bude OPS pokračovať rokovaniami so Sekciou zdravia MZ SR, na ktorých bude prerokovaná celá škála návrhov OPS z hľadiska ich implementácie do legislatívneho a úhradového systému (potrebné vyhlášky, odborné usmernenia príp. iné nevyhnutné kroky);
- d. ďalším krokom v realizácii tohto projektu bude rokovanie MZ SR a OPS so zdravotnými poisťovňami s cieľom dohodnúť realizovateľný rozsah zámeru etablovania zdravotníckeho povolania nutričný terapeut do zdravotného systému hrađeného z verejného zdravotného poistenia;
- e. po dosiahnutí dohody všetkých zainteresovaných strán bude už nasledovať implementačná fáza celého projektu.

ZÁVER

MZ SR si je vedomé, že prípadná realizácia predmetného projektu bude mať vplyv na rozpočet zdravotných poisťovní, ktorý je už dnes dosť napätý. Vychádza však z hlasov odbornej verejnosti z praxe, podľa ktorej práve nedostatočná špecializovaná zdravotná starostlivosť o početný okruh lôžkových aj ambulantných pacientov trpiacich poruchami výživy alebo takýmito dôsledkami liečby je príčinou mimoriadne vysokých aditívnych nákladov zdravotných poisťovní na zdravotnú starostlivosť, ktoré by sa dali významne znížiť práve špecializovanou starostlivosťou o malnutričných a metabolicky znevýhodnených pacientov. MZ SR preto zastáva názor, že náklady na činnosť nutričných terapeutov v praxi sa v krátkej dobe do systému začnú vracat' cez výrazne znížené náklady na liečbu často závažných, dlhodobých a nákladovo veľmi náročných zdravotných komplikácií. „Vedľajším“ efektom bude bezpečnosť pacienta a kvalita jeho života, často aj jeho predĺženie v prijateľnej kvalite. A to je motivácia, s ktorou MZ SR do tohto projektu vstupuje.

Použité skratky:

MZ SR/Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky
OPS/odborná pracovná skupina

KONFLIKT ZÁUJMOV:

Autor nemá žiadny potenciálny konflikt záujmov v súvislosti s týmto článkom.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 171–179

BIOCHEMICKÉ MARKERY METABOLIZMU A VÝŽIVY KRITICKY CHORÝCH PACIENTOV

BIOCHEMICAL MARKERS OF METABOLISM AND NUTRITION OF CRITICALLY ILL PATIENTS

Peter Chlebo¹, Ingrid Garajová¹, Mária Servátková¹, Zuzana Chlebová², Gabriela Vaverková²,
Silvia Vinklerová², Daniel Magula²

¹Oddelenie anestéziológie a intenzívnej medicíny, Špecializovaná nemocnica, sv. Svorada, Zobor, n.o., Nitra

²Oddelenie klinickej biochémie, Špecializovaná nemocnica, sv. Svorada, Zobor, n.o., Nitra

peter.chlebo@hotmail.com

SÚHRN

Kriticky chorý pacient je výrazne odlišný od bežného pacienta s patofyziologicky zmeneným metabolizmom. Liečba kriticky chorého pacienta je veľmi náročná a špecifická a jej neoddeliteľnou súčasťou je i nutričná podpora. Aby bola táto liečba účinná, musí byť adekvátna čo sa týka energetického príjmu a druhu živín, optimálne načasovaná a musí kopírovať aktuálny klinický stav pacienta. V tomto prehľade sme sa zamerali na vysvetlenie zmien a patofyziológie metabolizmu kriticky chorého pacienta a charakteristiku a prehľad možných biomarkerov, ktoré by mali kopírovať aktuálny klinický stav kriticky chorého pacienta a mali by pomôcť zlepšiť diagnostiku a účinnosť terapie. Taktiež sme sa snažili poukázať i na niektoré úskalia týkajúce sa problematiky biomarkerov metabolizmu a výživy.

Kľúčové slová: kritický chorý pacient; výživa; metabolizmus; biomarkery výživy a metabolizmu

ABSTRACT

A critically ill patient is significantly different from an ordinary patient with a pathophysiologically altered metabolism. The treatment of a critically ill patient is very demanding and specific, and nutritional support is an integral part of it. In order for this treatment to be

effective, it must be adequate in terms of energy intake and type of nutrients, optimally timed and must copy the current clinical condition of the patient. In this review, we focused on the explanation of the changes and pathophysiology of the metabolism of the critically ill patient and the characterization and overview of possible biomarkers that should copy the current clinical state of the critically ill patient and should help improve diagnosis and the effectiveness of therapy. We also tried to point out some pitfalls related to the issue of biomarkers of metabolism and nutrition.

Key words: critically ill patient; nutrition; metabolism; biomarkers of nutrition and metabolism

ÚVOD

Cieľom nutričnej podpory je poskytnúť substráty potrebné na uspokojenie bioenergetických potrieb pacienta a podporiť čistú syntézu makromolekúl potrebných na zachovanie svalovej hmoty, funkcie orgánov a imunitu. V súčasnosti publikované štúdie odhalili všeobecne prítomnú podvýživu kriticky chorých pacientov a jej súvislosť s nepriaznivými klinickými výsledkami a prognózou pacientov. Natíska sa tu myšlienka, že optimalizácia dodávania výživy by mala zlepšiť klinické výsledky kriticky chorých pacientov. Je preto prekvapujúce, že existuje viacero veľ-

kých randomizovaných kontrolovaných štúdií, ktoré ne-
preukázali klinický prínos obnovenia alebo maximalizácie
príjmu živín. To môže byť čiastočne spôsobené tým, že
máme k dispozícii stále prítomné nedostatočné spektrum
biochemických a biologických markerov identifikujúcich
pacientov, ktorí s najväčšou pravdepodobnosťou nielen
môžu, ale i budú mať prospech z nutričných intervencií,
a ktoré monitorujú účinky podpory výživy. Musíme si klásť
otázku, čo je príčinou týchto zistení. Ak chceme získať od-
povede na tieto otázky, musíme v prvom rade charakte-
rizovať patofyziologický status kriticky chorého pacienta
a jeho odpovede na stresory, pričom pod stresormi rozu-
mieme všetky vonkajšie i vnútorné podnety, ktoré vyvolali
patologický, resp. kritický stav pacienta.

Patofyziológia kriticky chorého pacienta

Pochopenie a vedomosti metabolickej reakcie (od-
povede) na stresory vyvolávajúce kritické ochorenie sa
za posledné obdobie dramaticky zmenilo. Darwin síce
vo svojej evolučnej teórii predpokladal, že „*to nie je ten
najsilnejší alebo najinteligentnejší, ktorý prežije, ale ten,
kto sa najviac dokáže prispôbiť zmenám*“ (Jeevanandam
a kol., 1992; Van den Berghe a kol., 1998). Na tieto po-
znatky z hľadiska metabolizmu a samotnej reakcie na stres
nadväzuje tzv. princíp homeostázy, ktorý popísal Claude
Bernard. Tvrdil, že stálosť vnútorného prostredia kriticky
chorých je hlavnou podmienkou prežitia a podstatou je to,
aby homeostáza bola obnovená čo najrýchlejšie, lebo iba
to umožňuje prežitie organizmu. Mechanizmy zabezpeču-
júce udržiavanie homeostázy, vitálnych funkcií a v koneč-
nom dôsledku prežitie definoval Hans Selye, ktorý opísal
reakciu „*bojuj alebo uteč*“, ktorá charakterizuje nešpecifickú
reakciu na širokú škálu podnetov.

Počas evolúcie sa u ľudí vyvinuli účinné obranné me-
chanizmy umožňujúce prežitie organizmu. Metabolická
reakcia na stres je jednou z najdôležitejších súčastí adap-
tívnej reakcie na prežitie kriticky chorého pacienta. Počas
evolúcie je dobre zachovaných niekoľko mechanizmov,
vrátane stimulácie sympatického nervového systému,
uvoľňovania hormónov hypofýzy, periférnej rezistencie
na účinky týchto a iných anabolických faktorov, ktoré sa
spúšťajú na zvýšenie zásobovania energiou substrátov pre
životne dôležité tkanivá. Cesty tvorby energie sú zmene-
né a využívajú sa alternatívne substráty v dôsledku straty
kontroly energetického substrátu podľa ich dostupnosti.
Klinické dôsledky metabolickej odpovede na stres zahŕňa-

jú sekvenčné zmeny vo výdaji energie, stresovú hypergly-
kémiu, zmeny v telesnom zložení a psychické a behavio-
rálne problémy. Strata svalových bielkovín a ich funkcie
je najmarkantnejším a hlavným dlhodobým dôsledkom
stresového metabolizmu.

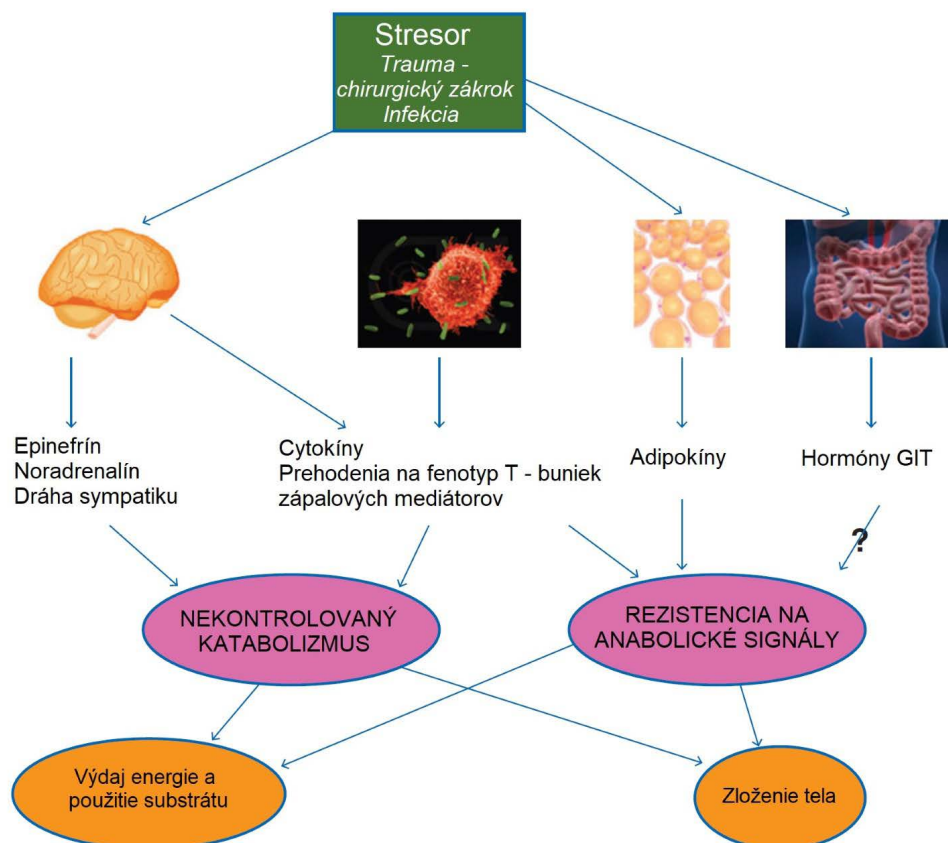
Reakcia organizmu na stresory však nie je jednoduchá
i keď je vo svojej podstate stále konštantná. Táto odpoveď
prebieha vo viacerých etapách v závislosti od času. Tieto
fázy popísal David Cuthbertson a zároveň ich pomenoval
ako fáza odlivu, fáza toku a tretia chronická fáza predchá-
dzajúca zotaveniu, bola navrhnutá iba nedávno a je prav-
depodobne relevantná pouhá časť fázy, s ktorou sa často
stretávame v intenzívnej starostlivosti. Mechanizmy tých-
to postupných adaptívnych zmien sa sformulovali do tzv.
všeobecnej teórie metabolickej reakcie na stres. Samotná
metabolická odpoveď na stres zahŕňa neuroendokrinné
a zápalové, resp. imunitné zložky. Najnovšie výskumy však
naznačujú, že aj hormóny uvoľňované z tukového tkani-
va a z gastrointestinálneho traktu môžu hrať rovnako dôle-
žitú úlohu. Metabolická odpoveď sa začne spúšťať pár
sekúnd až minút po ataku, resp. pôsobení stresora, a to
neuroendokrinnou zložkou z oblasti blízkosti hypotalamu,
paraventriculárneho jadra a *locus coeruleus*. Po zistení
stresora dochádza k signalizácii do centrálného nervové-
ho systému (CNS), ktorý okamžite spustí odozvu vedúcu
k aktivácii sympatického nervového systému, osi hypo-
talamus-hypofýza, následne potom k zápalovým a imu-
nitným zmenám a nakoniec i k behaviorálnym zmenám.
Spustenie osi hypotalamicko-pituitárneho systému pred-
stavujúceho vylučovanie adrenokortikotropného hormó-
nu (ACTH), hormónu stimulujúceho štítnu žľazu (TSH), ras-
tového hormónu (GH), folikuly stimulujúceho hormónu
(FSH) a luteinizačného hormónu (LH) sa uskutoční v prie-
behu hodín po ataku, zápalové a imunitné reakcie vyu-
žívajúce ako mediátor rôzne druhy cytokínov sa spúšťajú
v priebehu dní a behaviorálna reakcia sa spúšťa v priebe-
hu týždňov. Reakcia na stresové faktory môže byť veľmi
rôznorodá, napr. poranenie periférneho tkaniva vyvolané
traumou, ktorá aktivuje aferentné nervy, spúšťa chemore-
ceptory signalizujúce hypoxémiu alebo hyperkapniu, ak-
tivácia baroreceptorov je spôsobená hypovolémiou a zá-
palové mediátory aktivujú činnosť mikroglyálnych buniek
mozgu. Sympatický nervový systém sa podieľa na rýchlej
kontrole väčšiny vnútorných orgánov prostredníctvom
adrenergických receptorov. Z postganglionového neurónu
ako odpoveď stimulácie jeho nikotínových receptorov

acetylcholínom dochádza k uvoľneniu norepinefrínu. Aktivácia osi hypotalamus-hypofýza má za následok uvoľnenie viacerých hormónov (ACTH, TSH, GH, FSH a LH). Tieto hormonálne zmeny postupne veľmi výrazne ovplyvňujú energetický, bielkovinový a tukový metabolizmus. V súčasnej dobe sa ako potencionálni aktivátori metabolických zmien súvisiacich so sepsou definujú leptín, rezistín a adiponektín, ktoré sú uvoľňované z rôznych typov buniek tukového tkaniva (Koch a kol., 2009; Marques a kol., 2013; Hillenbrand a kol., 2012; Fantuzzi, 2009). Takisto významnú úlohu môžu zohrávať aj hormóny uvoľňované črevom. Najnovšie údaje naznačujú, že cirkulujúce hladiny grelínu väčšinou poklesli, zatiaľ čo hladiny cholecystokinínu a peptidu YY sa zvyšujú. Tieto zmeny súviseli s anorexiou ako spoločnou vlastnosťou adaptácie správania sa na stres (Nematy a kol., 2006; Nematy a kol., 2007).

Zápalová zložka je čiastočne regulovaná na úrovni CNS prostredníctvom cytokínov a zápalových mediátorov. Imunitná odpoveď zahŕňa, ale aj špecifickú imunitnú odpoveď, pričom táto je sprostredkovaná ako bunkami, tak aj humorálnymi zložkami vrátane uvoľňovania protilátok a cytokínov. Tieto cytokíny, ako napr. faktor nekrózy nádorov, interleukín 1 a interleukín 6 hrajú kľúčovú úlohu v metabolických zmenách spojených so sepsou a spôsobujú stratu telesnej hmotnosti, proteolýzu a lipolýzu. Spúšťajú aj anorexiu na úrovni hypotalamu. Nekontrolovaný oxidačný stres definovaný nerovnováhou medzi tvorbou reaktívnych druhov kyslíka (ROS) a antioxidantmi podmienený cytokínmi a hypoxiou tiež zohráva veľmi dôležitú úlohu. Metabolickými následkami metabolickej reakcie na stres je vznik nekontrolovaného katabolizmu a vývoj rezistencie voči anabolickým signálom vrátane inzulínu s cieľom obnoviť hierarchiu dodávok energetických substrátov a uprednostniť životne dôležité tkanivá a orgány pred orgánmi závislými od inzulínu ako sú hlavne svaly a tukové tkanivo. Veľkosť inzulínovej rezistencie koreluje so závažnosťou stavu a samotná inzulínová rezistencia je výsledkom defektov v postreceptorovej inzulínovej signalizácii dráh a z down-regulácie transportéra glukózy (GLUT-4) v kostrovom a tukovom tkanive (Lena a kol., 2011; Bio- loa kol., 2002; Soeters a Soeters, 2012; Marik a Bellomo, 2013; Dungan a kol., 2009).

Klinické dôsledky metabolickej odpovede na stres zahŕňajú široké spektrum aspektov, a to od zmien v rýchlosti metabolizmu, využitia makroživín ako zdroja energie, stresovú hyperglykémiiu, stratu svalovej hmoty až po zmeny

v telesnom zložení a správaní. Počas skorej fázy po ataku je energetický výdaj zvyčajne nižší ako pred zranením, ale v neskorších fázach sa zvyšuje na hodnoty vyššie ako pred úrazom. Skutočný energetický výdaj počas kritického ochorenia je mimoriadne ťažké predpovedať, pretože ho ovplyvňujú viaceré fyziologické a patofyziologické poruchy, ale aj terapeutické zásahy (Fraipont a Preiser, 2013). Počas kritického ochorenia sa metabolizmus makroživín mení na niekoľkých úrovniach, vrátane trávenia a absorpcie živín, intracelulárneho intermediálneho metabolizmu a oxidácií substrátov. Z celkového pohľadu je oxidácia uhlíkových substrátov zvýšená oproti oxidácii lipidov a proteínov, a to hlavne počas skorej fázy ochorenia (Tappy a kol., 1998). V neskorších fázach ochorenia dochádza k zníženému využitiu glukózy a naopak, objavuje sa zvýšený obrat tukov a nastáva strata svalovej a viscerálnej proteínovej hmoty. Záporná dusíková bilancia poukazuje na zvýšený rozklad bielkovín oproti ich syntéze, klesá využitie bielkovín, produkcia močoviny sa zvyšuje a zoslabuje sa lipogenéza. Glukóza je preferenčný energetický substrát kriticky chorého pacienta. Metabolizmus sacharidov u kriticky chorého pacienta zahŕňa rýchle využitie zásoby glykogénu, po ktorom nasleduje zvýšenie hladiny endogénnej produkcie glukózy z laktátu, glycerolu a alanínu v pečeni, obličkách a čreve. Zvýšený obrat glukózy vedie k typickej stresovej hyperglykémii. Dochádza i k zmene metabolizmu laktátu počas metabolickej stresovej reakcie. Coriho cyklus umožňuje poskytovať laktát ako veľmi efektívny zdroj energie počas stresových podmienok. Počas skorej fázy kritického ochorenia je použitie lipidov ako energetického substrátu relatívne menej zvýšené ako sacharidov, pretože vyžaduje veľké množstvo kyslíka a plne funkčné mitochondrie, avšak po ataku v dôsledku najmä hypoxie tkanív je mitochondriálna dysfunkcia bežná. Okrem toho endogénne triacylglyceroly uložené v tukovom tkanive a exogénne triacylglyceroly uvoľňované z chylomikrónov a iných lipoproteínov sú intenzívne hydrolyzované, aby sa uvoľnili voľné mastné kyseliny (FFA) a glycerol do krvi, a to bez ohľadu na množstvo poskytnutých exogénnych lipidov (Iapichino a kol., 2006; Agwunobi a kol., 2000; Krogh-Madsen a kol., 2008). Počas akútnej fázy sa zvyšuje aj produkcia lipidových peroxidov, čo pravdepodobne prispieva k orgánovým poškodeniam v dôsledku nerovnováhy medzi zvýšenou lipolýzou a využitím voľných mastných kyselín. Oxidácia FFA sa môže v periférnych tkanivách zvýšiť, zatiaľ čo v pečeni sa premieňajú na ketóny alebo sú reesterifikované



Obr. 1 Rôzne úrovne metabolickej odpovede na stres.

Po zachytení stresora (zelený obdĺžnik) sa aktivujú systémy/orgány. Mediátory sa pri tejto aktivácii uvoľnia a zvýšia katabolizmus a vyvolajú rezistenciu voči anabolickým faktorom (ružové ovály), čo vedie k zmenám energetického výdaja (EE, energy expenditure), v type použitých substrátov a v zložení tela (oranžové ovály).

(Zdroj: Preiser a kol., 2014)

na triacylglyceroly (TAG). Hladiny FFA v plazme sú typické pre kriticky chorých pacientov počas prvých dní. Syntéza cholesterolu a jeho obrat je narušený.

Pri strese je významne zvýšený rozpad bielkovín, ktorý značne prevyšuje rýchlosť jeho syntézy, a to vplyvom hormónov a zápalových mediátorov. Väčšina intracelulárnych proteínov je degradovaná prostredníctvom aktivácie ubiquitín-proteazómovej dráhy (Klaude a kol., 2007; Hasselgren, 2000). Stresový metabolizmus je charakterizovaný nadmernou aktiváciou tejto dráhy, čo spôsobuje nadmernú degradáciu bielkovín a úbytok svalov. Amino-kyseliny uvoľnené počas degradácie bielkovín budú buď opätovne použité neoglukogénnymi orgánmi alebo budú oxidované, čím budú zvyšovať hladinu močoviny a amónneho kationu ako odpadových produktov. Štúdie sledujúce zloženie telesnej stavby kriticky chorých pacientov ukázali, že každý deň sa môže strácať až 5 % čistej telesnej hmoty (Hill a Jonathan, 1992; Pichard a kol., 2004). V dôsledku toho sa kostrové svaly rýchlo vyčerpajú, čo sa prejaví svalovou slabosťou (Herridge a kol., 2011; Lecker, 2006; Fridrich, 2006). Toto je jeden z najničivejších dô-

sledkov metabolickej reakcie na stres a svalová slabosť môže pretrvávať aj značný čas po prepustení z nemocnice (Codere-Maruyama a kol., 2016). Strata svalovej funkcie a objemu svalstva, proximálnej slabosti a únavy sú najčastejšími dlhodobými ťažkosťami pacientov, čo môže predlžovať umelú pľúcnu ventiláciu. Ak sa zameriame na zmeny v zložení telesnej stavby kriticky chorých pacientov zisťujeme straty svalovej hmoty a relatívne zachovanie tukového tkaniva (Denstaedt a kol., 2018; Angus a Van der Poll, 2013). V dôsledku toho je hmotnosť telesných buniek znížená, zatiaľ čo extracelulárna tekutina je zvýšená. Nedávno boli identifikované aj funkčné a morfológické zmeny tukového tkaniva, ktoré možno zhrnúť ako konzervácia tukovej hmoty so zvýšeným počtom malých adipocytov a zvýšenej infiltrácie tukového tkaniva makrofágmi. Funkčne majú tieto zmeny za následok zvýšené ukladanie lipidov (Ware, 2017). Všetky tieto uvedené patofyziologické mechanizmy majú výrazný vplyv na klinický stav, terapiu a prognózu pacientov. Základné a charakteristické patofyziologické mechanizmy sú v stručnosti zhrnuté v obrázku č. 1.

Markery metabolizmu a výživy kriticky chorých pacientov

Výživa a rôzne parciálne nutričné intervencie sú neoddeliteľnou súčasťou liečby kriticky chorého pacienta. Kriticky chorý pacient je veľmi vulnérabilný a akékoľvek posuny v homeostáze môžu byť pre neho fatálne. Takéto posuny môže spôsobiť aj neadekvátna nutričná podpora. Aby sme predišli komplikáciám z nesprávne aplikovanej nutričnej podpory, potrebujeme dokonale poznať metabolický a nutričný status kriticky chorého pacienta v aktuálnom čase. Na ich určenie sú využívané rôzne markery. Tieto markery môžu byť rozdelené do skupín podľa viacerých hľadísk. Najčastejšie a najdlhšie využívanými sú štandardné biochemické markery krvného séra, ktoré sú v súčasnosti rozšírené o niektoré špecifické biochemické markery, ktoré nie sú pri bežnom biochemickom skríningu štandardne využívané. Okrem týchto biochemických markerov sa v poslednej dobe stále viac využívajú aj biomarkery a rôzne klinické hodnotiace a prognostické systémy (napr. APACHE II, APACHE III a SOFA). Na hodnotenie nutričného statusu kriticky chorých pacientov sa v súčasnosti využíva aj množstvo nutričných parametrov, indirektná kalorimetria, nutričné indexy a analýzy telesnej stavby (najmä na princípe bioelektrickej impedancie).

Vymenovať a charakterizovať jednotlivé biomarkery v tomto krátkom článku nie je možné a bolo by to i veľmi zložité. Už od 70-tich rokov 20. storočia sa datujú snahy o určenie rýchlych, na stanovenie jednoduchých a nenáročných a pritom vysoko validných biomarkerov. Ako príklad by sme chceli uviesť „Protokol pre monitorovanie výživy“, ktorý publikoval Shenkin v roku 1979:

Možný protokol kriticky chorých pacientov – minimálne kritériá monitoringu:

1. Klinické merania - meranie veľkosti kožnej riasy na tricepse a obvod svalu v strede ramena
týždenne
 - kožné testy na vyvolanie reakcie na antigény - každé 1 - 3 týždne.
2. analýza krvi - sérová močovina a elektrolyty, glukóza - denne
 - sérový albumín, transferín, prealbumín, pečeneňové testy, vápnik, fosfát, horčík a zinok - dvakrát týždenne
 - krvné ketóny - týždenne
 - plazmatické aminokyseliny - týždenne

- plazmatické vit A, C, E, folát červených krviniek, transketoláza, glutatiónereduktáza a transamináza - týždenne.

3. analýza moču - elektrolyty, močovina (alebo celkový N), kreatinín, glukóza, ketóny, Ca, P, Mg, Zn (kreatín, 3-metylhistidín) - najprv denne, ak je stabilný, potom dvakrát týždenne.

V súčasnej dobe používame ďaleko širšiu paletu biomarkerov, ale základ stále tvoria klasické vyšetrenia krvi, krvného séra a moču, ktoré sú ale doplnené o novšie špecifické biomarkery. Mnohé z parametrov uvedených vyššie ešte stále používame v monitoringu kriticky chorých pacientov, avšak ich váha a interpretácia sú už iné. Napriek tomu sú stále nepostrádateľné ako poznatky charakterizujúce aktuálny stav kriticky chorých pacientov a ako východiská pre diagnostické závery a terapeutické riešenia.

Medzi biomarkery, ktorých používanie u kriticky chorých pacientov v poslednej dobe stúpa, môžeme zaradiť hlavne zápalové biomarkery. V súčasnosti najviac využívanými sú C reaktívny proteín (CRP), Prokalcitonín (PCT), α -1-kyslý glykoproteín (orosomukoid), presepsín, feritín, cytokíny, Interleukín 6 (IL 6).

Prokalcitonín (PCT) je bielkovina tvorená 116 aminokyselinami. Fyziologicky ho produkujú C bunky štítnej žľazy ako prekurzor hormónu kalcitonín. Avšak najmä pri generalizovaných bakteriálnych infekciách ho začnú produkovať aj ďalšie bunky, hlavne neuroendokrinné bunky pľúc, čreva, ale i bunky parenchymatóznych orgánov a pri sepe prakticky všetky tkanivá a typy buniek. Koncentrácia tejto bielkoviny potom v plazme prudko stúpa. PCT uvoľnený pri sepe nie je konvertovaný na kalcitonín. Presný fyziologický význam prokalcitonínu nie je ešte ani zďaleka objasnený, predpokladá sa, že sa podieľa na regulácii zápalu a má analgetické účinky. Počas rozpadu prokalcitonínu je 1 deň a po imunitnej stimulácii vzrastá jeho sérová koncentrácia už v priebehu 2–3 hodín asi dvadsaťnásobne. Zvýšenie hladín možno pozorovať len pri generalizovaných bakteriálnych, mykotických a protozoárných infekciách, neobjavuje sa pri vírusových infekciách. S menej výrazným vzostupom sa môžeme stretnúť pri polytraumách, popáleninách a po rozsiahlych brušných operáciách.

Presepsín je fragment glykoproteínu CD14 a vzniká ako výsledok zápalovej reakcie spôsobenej infekciou. Glykoproteín CD14 je exprimovaný na povrchu membrány

monocytov, makrofágov, granulocytov, kde slúži ako receptor komplexov LPS a LPS viažucich proteínov (LPBP). Je lokalizovaný v blízkosti toll-like receptora 4 (TLR4). Naviazaním LPBP komplexu na CD14 sa aktivuje TLR4 – špecifická prozápalová kaskáda, a tým sa spúšťa zápalová reakcia hostiteľa proti infekčnému agens. Komplex LPS-LPBP-CD14 je uvoľňovaný do cirkulácie a vplyvom plazmatických proteáz štiepený na subtyp sCD14-ST-presepsín. Presepsín slúži na diagnostiku a prognózu sepsy a posúdenie miery závažnosti septických stavov (Soták, 2022).

Hladina **ferritínu**, bielkoviny produkovanej v takmer všetkých ľudských tkanivách, v krvnom sére odráža predovšetkým tkanivovú zásobu železa. Jeho hodnota klesá skôr, než narastie hladina transferínu. Príčin jeho zvýšenej hladiny je mnoho, najčastejšie je to zápal prakticky akejkolvek etiológie, ale i mnoho iných ochorení, preto ferritín nie je vhodným ukazovateľom zápalu. Má však relatívne podstatný význam pri určovaní prognózy SARS-CoV-2. Pri vzostupe hladiny nad $1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ je prognóza pacienta zlá (Soták, 2022).

Cytokíny sú univerzálne mediátory zápalu produkované stimulovanými imunokompetentnými aj inými bunkami, najmä aktivovaným endotelom. Ako včasné spúšťače a regulátory zápalovej odpovede sa podieľajú na iniciácii syntézy ďalších rutinne používaných zápalových markerov (PCT, CRP). Pre svoju univerzálnosť však nedokážu dostatočne odlíšiť systémový a lokálny zápal, prípadne infekčný a neinfekčný pôvod zápalu. Laboratórnu diagnostiku cytokínov obmedzuje najmä ich krátky biologický polčas (Soták, 2022).

IL-6 je cytokín so širokým spektrom funkcií, ktorý vykazuje aktivitu v B-bunkách, T-bunkách, krvotvorných kmeňových bunkách, hepatocytoch a mozgových bunkách. Produkcia IL-6 je vyvolaná náhle pri akútnych zápalových reakciách spojených so zranením, úrazom, stresom, infekciou, neopláziou a ďalšími závažnými stavmi. IL-6 je u dospelých užitočný pri hodnotení závažnosti SIRS, sepsy a septického šoku, ako aj pri odlíšení nesterilnej a sterilnej nekrózy pri nekrotizujúcej pankreatitíde (Soták, 2022).

Biomarkery sa používajú v rôznych klinických prostrediach a zmenili diagnostiku a liečbu bežných ochorení. Pri kriticky chorých pacientoch sa však získavajú veľmi ťažko a pomaly, a to hlavne v dôsledku toho, že najčastejšími príčinami kritického ochorenia ako je napr. sepsa, syndróm akútnej respiračnej tiesne (ARDS) sú skôr heterogénne klinické syndrómy než homogénne chorobné stavy s dob-

re definovanou patogenézou. Okrem toho v súčasnosti existujú aj praktické obmedzenia merania biomarkerov v reálnom čase na jednotkách critical care a jednotkách intenzívnej starostlivosti (JIS). Vo všeobecnosti pri kritických ochoreniach biomarkery spadajú v podstate do troch kategórií.

Prvú kategóriu tvoria biomarkery zamerané na identifikáciu patogénnych mediátorov, čo je dôležitá snaha pochopiť mechanizmy poškodenia u chorých pacientov. Takto napr. boli identifikované potenciálne nové terapeutické ciele ako sú prozápalové dráhy pri sepse, pri ARDS a imunomodulácia pri neskorších štádiách sepsy (Mehta a kol., 2012; Mehta a kol., 2015; Hoffer a Bistran, 2012).

Druhú skupinu tvorili biomarkery, ktoré môžu doplniť súčasné klinické definície pre diagnostiku klinických syndrómov ako je sepsa alebo ARDS.

Tretia skupina biomarkerov slúži na účely určenia prognózy, najmä mortality (napr. 28-dňová úmrtnosť hospitalizovaných pacientov). Tu boli najviac testované najmä dva biomarkery - plazmatický interleukín 8 (IL-8) a rozpustný receptor-1 tumor necrosis faktoru (TNF- α), ktoré poskytovali optimálnu prognózu bez nadmerného vybavenia a boli zhruba ekvivalentné systému APACHE III pre prognózu.

Biomarkery môžu taktiež predpovedať veľkosť, kinetiku a heterogenitu metabolizmu a reakciu na podporu výživy, čím je možné získať kľúč na riešenie otázok týkajúcich sa dávky, načasovania a druhu použitých nutričných substrátov pri podpore výživy. Takisto by mohli vysvetliť aj odlišnú reakciu jednotlivých pacientov na nutričné intervencie, ktoré sa môžu líšiť v rozsahu a načasovaní (Wernerman a kol., 2019). Biomarkery by mohli pomôcť aj pri selekcii pacientov s vysokým rizikom nepriaznivého klinického výsledku od pacientov s nižším rizikom, a tým aj stanoviť najväčšiu pravdepodobnosť úspechu nutričnej podpory a vyselektovať pacientov, ktorí budú mať z adekvátnej nutričnej podpory prospech. Biomarkery možno definovať ako merateľné indikátory biologického procesu, patologického stavu alebo farmakologickej odpovede na terapeutické intervencie. Prognostické biomarkery reflektujú a zohľadňujú individuálny risk outcome pacientov a end pointy záujmu. Biomarkery môžu zohľadňovať aj individuálnu odpoveď pacientov na intervencie a zároveň korelovať s klinickými end pointami reflektujúce pacientov „well-being“ alebo prežívanie. Taktiež ich možno použiť ako prognostické alebo potenciálne nástroje na výber

alebo analýzu jednotlivých postupov maximalizujúcich úspešnosť liečby. V poslednej dobe sa biomarkery začínajú používať aj na subtypizáciu a klasifikáciu pacientov líšiacich sa patobiologickými mechanizmami. Biomarkery súvisia aj s nástrojmi na stratifikáciu rizika na začiatku ochorenia. Vysoké riziko pri použití NUTRIC skóre kriticky chorých je prognostický nástroj vyvinutý Heylandom et al. (Heyland a kol., 2011; Rahman a kol., 2016). Odvodené parametre vrátane zápalových cytokínov ako je interleukín 6 (IL-6) súvisia s komorbiditou a závažnosťou ochorenia a môžu byť teda použité u pacientov, u ktorých je väčšia pravdepodobnosť prežitia. Z biomarkerov, ktoré odrážajú celotelovú absorpciu živín a metabolické reakcie najmarkantnejšie je určenie miery syntézy a rozkladu bielkovín (Millward, 1998). Na rozdiel od celotelovej bilancie bielkovín výpočet dusíkovej bilancie odhaduje čistý rozdiel medzi syntézou a rozpadom bielkovín ((Millward, 2012; Hoffer, 2016). Ďalšie predpokladané biomarkery výživového stavu dostupnosti substrátov a charakter metabolizmu zahŕňajú albumín, prealbumín, retinol viažúci proteín, transtyretrín a transferín. Ich hladiny však môžu byť akútne zmenené výživovými zásahmi, a preto spoľahlivo nepredpovedajú klinické výsledky.

Kriticky chorí pacienti s dysfunkciou orgánov sú katabolickí pri prijatí na JIS. To vyplýva z prítomných patofyziologických faktorov (napr. systémový zápal, stresové hormóny), ako aj obmedzenia prísunu živín. Ako už bolo popísané, metabolické adaptácie na kritické ochorenie, bunkové adaptácie k obmedzeniu živín, môžu prísť rýchlo a sú sprostredkované proteínmi, ktoré snímajú hladiny anabolických substrátov alebo bunkovej energie. Významnú úlohu tu hrajú rôzne proteín kinázy, ktoré môžu ovplyvňovať dostupnosť živín alebo energie (napr. aminokyselín) s bunkovými adaptáciami na obmedzenie živín (napr. autofágia), génovú expresiu a epigenetické mechanizmy. Výskum týchto skutočností môže viesť k vývoju nových biomarkerov. Z akých dôvodov toto usudzujeme?

Po prvé: tkanivá sa líšia v reakciách na metabolický stres a ich reakcie na dostupnosť živín sa pravdepodobne bude meniť. Napríklad hlboký katabolizmus bielkovín a atrofia potrebná na mobilizáciu aminokyselín z kostrového svalstva by mohla byť adaptačným mechanizmom na podporu potrebnú na ďalšie základné funkcie (napr. imunitu) počas ťažkého ochorenia.

Po druhé: dysregulovaný bunkový metabolizmus pozorovaný počas kritického ochorenia, môže podkopať vyu-

žitie dostupných živín na tvorbu ATP alebo syntézu bielkovín a predčasné dodávanie živín môže inhibovať adaptívne reakcie.

Po tretie: genetické a epigenetické variácie v mechanizmoch, ktoré sprostredkujú energiu a dostupnosť substrátu, snímanie a metabolické reakcie, môže zodpovedať za medzisubjektovú variabilitu a nakoniec môžu vyvolať obmedzenie živín alebo systémový zápal epigenetickými reakciami vedúcimi k trvalým zmenám v metabolizme, ktorý nemôže byť okamžite prekonaný podporou výživy. Detailné profilovanie týchto zmien u pacientov v priebehu času budú dôležitými náhľadmi na rozsah a heterogenitu odpovedí, na dostupnosť živín, ako aj na optimálne načasovanie začatia alebo pozastavenia podpory výživy. Časovo citlivé faktory zahŕňajú anabolickú rezistenciu, diverzitu mikrobiómov, dysfunkciu orgánov a endokrinné systémové stresové reakcie. Niekoľko znakov intracelulárneho metabolického snímania cesty (napr. mTOR) ich robia potenciálne užitočnými ako biomarkery (Preiser a kol., 2014).

Existuje hypotéza odporujúca odôvodneniu nutričnej podpory spočívajúca v tom, že zvrátenie katabolizmu by mohlo zmierniť zápal alebo môže podporovať regeneráciu tkanív, ktoré obe sú spojené so zlyhávaním orgánov a úmrtnosťou. Málo sa ale vie o tom, ako exogénna výživa ovplyvňuje poranenie alebo opraví tkanivá počas kritického ochorenia, ale naopak, biomarkery systémového zápalu a poškodenia orgánov boli však dobre charakterizované (Denstaedt a kol., 2018). Tieto zahŕňajú markery oxidačného a nitrózového stresu, aktiváciu komplementu, prozápalové cytokíny a orgánové dysfunkcie, ako je napr. anaeróbný metabolizmus a bunková smrť. Nádejnými sa ukazuje stanovovanie IL-6 a TNF- α . Zvýšené plazmatické hladiny IL-6 boli spojené s prínosom nutričnej intervencie u kriticky chorých pacientov, ale jeho potenciálne využitie ako nástroja monitorovania alebo stratifikácie neboli úplne preskúmané. V praxi je taktiež popri IL-6 využívané tiež stanovovanie prokalcitonínu, ktoré však nedokázali poskytnúť dostatočnú prognostickú klasifikáciu. Súčasná technológia dokáže odhaliť sekvencie všetkých génov u jednotlivých subjektov a na základe toho potom stanoviť endotypy, čo súvisí s pravdepodobnosťou metabolickej odpovede na podporu výživy. Avšak aj keď môžu genómové varianty prispieť k pochopeniu náchylnosti k terapii alebo určaniu prognózy, sú statické a nemôžu odrážať tkanivovo špecifické zmeny alebo terapeutické odozvy. Napriek

tomu sa objavili kandidáti na biomarkery z genomických analýz v iných doménach kritických chorôb. Napríklad genetické varianty korelovali s väčším znížením rizika úmrtnosti pripisované k aktivácii proteínu C (Man a kol., 2013).

ZÁVER

Liečba kriticky chorého pacienta je veľmi náročná. Jej súčasťou je aj nutričná intervencia. Úspešnou však bude iba vtedy, ak budeme vedieť čo najviac údajov o aktuálnom stave pacienta. Získavanie týchto údajov je však veľmi náročné, pretože klinický stav pacienta sa môže veľmi rýchlo a dramaticky meniť, a to vyžaduje okamžitý, ale adekvátny terapeutický zásah. Ten bude úspešný iba vtedy, ak budeme mať veľmi citlivé a validné ukazovatele klinického stavu, teda biomarkery. Biomarkery, ich citlivosť a špecifita hrajú a v budúcnosti budú hrať jednu z najdôležitejších úloh v úspešnosti liečby. Preto výskum, hľadanie a uvádzanie nových biomarkerov do klinickej praxe a zdokonaľovanie a zlepšovanie využitia existujúcich biomarkerov bude do budúcnosti kľúčovou úlohou v starostlivosti o kriticky chorého pacienta.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. **Agwunobi AO, Reid C, Maycock P, Little RA et al. (2000)** "Insulin resistance and substrate utilization in human endotoxemia", *J Clin Endocrinol Metab*, 85, p. 3770–8
2. **Angus DC a Van der Poll T. (2013)** "Severe sepsis and septic shock", *N Engl J Med*. 369, p. 840–51
3. **Bioło G, Grimble G, Preiser JC, et al. (2002)** "European Society of Intensive Care Medicine Working Group on Nutrition and Metabolism. Position paper of the ESICM Working Group on Nutrition and Metabolism. Metabolic basis of nutrition in intensive care unit patients: ten critical questions". *Intensive Care Med*, 28, p. 1512–20
4. **Codere-Maruyama T, Schricker T, Shum-Tim et al. (2016)** "Hyperinsulinemic-normoglycemic clamp administered together with amino acids induces anabolism after cardiac surgery", *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 311:R, p.1085–92.
5. **Denstaedt SJ, Singer BH a Standiford TJ. (2018)** "Sepsis and nosocomial infection: patient characteristics, mechanisms, and modulation", *Front Immunol.*, 9, p.2446.
6. **Dungan KM, Braithwaite SS a Preiser JC. (2009)** "Stress hyperglycaemia", *Lancet*, 37, p.1798–80
7. **Fantuzzi G. (2009)** "Adiponectin and inflammation", *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 296, p. E397.
8. **Fraipont V a Preiser JC. (2013)** "Energy estimation and measurement in critically ill patients", *J Parenter Enteral Nutr* 2013; 37: 705–13
9. **Friedrich O.** Critical illness myopathy: what is happening? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 9, p.403–9
10. **Hasselgren PO. (2000)** "Catabolic response to stress and injury: implications for regulation", *World J Surg*, 24, p.1452–9
11. **Herridge MS, Tansey CM, Matte A, et al. (2011)** "Functional disability 5 years after acute respiratory distress syndrome", *N Engl J Med*, 364, p.1293–304
12. **Heyland DK, Dhaliwal R, Jiang X et al. (2011)** "Identifying critically ill patients who benefit the most from nutrition therapy: the development and initial validation of a novel risk assessment tool", *Crit Care*, 15, p.R268
13. **Hillenbrand A, Weiss M, Knippschild U et al. (2012)** "Sepsis-induced adipokine change with regard to insulin resistance", *Int J Inflam*, 2012, p. 972368
14. **Hill GL a Jonathan E. (1992)** "Rhoads lecture. Body composition research: implications for the practice of clinical nutrition", *J Parenter Enteral Nutr*, 16, p. 197–218
15. **Hoffer LJ a Bistrrian BR. (2012)** "Appropriate protein provision in critical illness: a systematic and narrative review", *Am J Clin Nutr.*, 96, p.91–600.
16. **Hoffer LJ.** Human protein and amino acid requirements. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2016;40:460–74.
17. **Iapichino G, Radrizzani D a Armani et al. (2006)** "Metabolic treatment of critically ill patients: energy balance and substrate disposal", *Minerva Anestesiol*, 72, p.533–41
18. **Jeevanandam M, Shamos RF a Petersen SR. (1992)** "Substrate efficacy in early nutrition support of critically ill multiple trauma victims.", *J Parenter Enteral Nutr*, 16, p.511–520
19. **Klaude M, Fredriksson K, Tjander I, et al. (2007)** "Proteasome proteolytic activity in skeletal muscle is increased in patients with sepsis", *Clin Sci (Lond)*, 112, p. 499–506
20. **Koch A, Gressner OA, Sanson E, et al. (2009)** "Serum resistin levels in critically ill patients are associated with inflammation, organ dysfunction and metabolism and may predict survival of non-septic patients", *Crit Care*, 13, p. R95
21. **Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Akerstrom T et al. (2008)** "Effect of short-term intralipid infusion on the immune response during low-dose endotoxemia in humans", *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 294, p. E371–9
22. **Lecker SH. (2006)** "Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states", *J Am Soc Nephrol*, 17, p. 1807–19

23. **Lena D, Kalfon P, Preiser JC et al. (2011)** "Glycemic control in the intensive care unit and during the postoperative period", *Anesthesiology*, 114, p. 438–44
24. **Man M, Close SL, Shaw AD et al. (2013)** "Beyond single-marker analyses: mining whole genome scans for insights into treatment responses in severe sepsis", *Pharmacogenomics J.*, 13, p. 218–26.
25. **Marik PE a Bellomo R. (2013)** "Stress hyperglycemia: an essential survival response", *Crit Care*, 17, p. 305
26. **Marques MB, Langouche L. En et al. (2013)** "Docrine, metabolic, and morphologic alterations of adipose tissue during critical illness", *Crit Care Med*, 41, p. 317–25
27. **Mehata NM, Bechard LJ, Cahill N, et al. (2012)** "Nutritional practices and their relationship to clinical outcomes in critically ill children--an international multicenter cohort study", *Crit Care Med.*, 40, p. 2204–11.
28. **Mehata NM, Bechard LJ, Zurakowski D, et al. (2015)** "Adequate enteral protein intake is inversely associated with 60-d mortality in critically ill children: a multicenter, prospective, cohort study" *Am J Clin Nutr.* 102, p. 199–206.
29. **Millward DJ. (1998)** "Metabolic demands for amino acids and the human dietary requirement: Millward and Rivers (1988) revisited", *J Nutr.*, 128, p. 2563S–76S.
30. **Millward DJ. (2012)** "Identifying recommended dietary allowances for protein and amino acids: a critique of the 2007 WHO/FAO/UNU report", *Br J Nutr.*, 108, (Suppl 2), p. S3–21.
31. **Nematy M, O'Flynn JE, Wandrag L, et al. (2006)** "Changes in appetite related gut hormones in intensive care unit patients: a pilot cohort study", *Crit Care*, 10, p. R10
32. **Nematy M, Brynes AE, Hornick PI, et al. (2007)** "Postprandial ghrelin suppression is exaggerated following major surgery; implications for nutritional recovery", *Nutr Metab (Lond)*, 4, p. 20
33. **Pichard C, Kyle UG, Morabia A, et al. (2004)** "Nutritional assessment: lean body mass depletion at hospital admission is associated with an increased length of stay", *Am J Clin Nutr*, 79, p. 613–8
34. **Preiser JC. (2012)** "Oxidative stress", *J Parenter Enteral Nutr*, 36, p. 147–54
35. **Preiser JC, Ichai C, Orban JC, et al. (2014)** "Metabolic response to the stress of critical illness", *Br J Anaesth.*, 113, p. 945–54.
36. **Rahman A, Hasan RM, Agarwala R, et al. (2016)** "Identifying critically-ill patients who will benefit most from nutritional therapy: further validation of the "modified NUTRIC" nutritional risk assessment tool", *Clin Nutr.*, 35, p. 158–62.
37. **Shenkin A. (1979)** "Monitoring the Nutritional Status of Critically HI Patients", *Intens. Care Med.*, 5, p. 165-170
38. **Soeters MR a Soeters PB. (2012)** "The evolutionary benefit of insulin resistance", *Clin Nutr*, 31, p. 1002–7
39. **Soták Š. (2022)** "Zápalové markery v klinické praxi", *Vnitř Lék*, 68 (7), p.E11-E16, doi.org/10.36290/vnl.2022.100
40. **Tappy L, Schwarz JM, Schneiter P, et al. (1998)** "Effects of isoenergetic glucose-based or lipid-based parenteral nutrition on glucose metabolism, de novo lipogenesis, and respiratory gas exchanges in critically ill patients", *Crit Care Med*, 26, p. 860–7
41. **Van den Berghe G, de Zegher F a Bouillon R.(1998)** "Clinical review 95: acute and prolonged critical illness as different neuroendocrine paradigms", *J Clin Endocrinol Metab*, 83, p.1827–34
42. **Ware LB.(2017)** "Biomarkers in critical illness: new insights and challenges for the future", *Am J Respir Crit Care Med.*, 196, p. 944–5
43. **Wernerman J, Christopher KB, Annane D et al. (2019)** "Metabolic support in the critically ill: a consensus of 19", *Crit Care*, 23, p.318, doi:10.1186/s13054-019-2597-0



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 180–186

OD OBEZITY K RAKOVINE – CESTY, MECHANIZMY, RIZIKÁ FROM OBESITY TO CANCER - PATHWAYS, MECHANISMS, RISKS

Peter Minárik^{1,2,3}, Daniela Mináriková^{1,4},

¹Inštitút pre prevenciu a intervenciu, Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava
²Oddelenie gastroenterológie a II. rádiologická klinika LF UK a OÚSA, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

³Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

⁴Katedra organizácie a riadenia farmácie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

peterminarik57@gmail.com

SÚHRN

V porovnaní s ľuďmi so zdravou hmotnosťou sú ľudia s preobezitou alebo obezitou vystavení väčšiemu riziku chronických chorôb vrátane viacerých zhubných nádorov. Obezita sa pokladá za presvedčivo potvrdenú príčinu minimálne 13 zhubných nádorov. Obezita zvyšuje riziko špecifického úmrtia na zhubné nádory, ako aj úmrtia zo všetkých príčin. Obezita podporuje rast nádorov prostredníctvom viacerých patologických mechanizmov. Ak sú pacienti s obezitou postihnutí zhubným nádorom, potom pri porovnaní s onkologickým pacientmi, ktorí majú normálnu telesnú hmotnosť, majú častejšie horšiu odpoveď na štandardnú onkologickú liečbu, vyššiu pravdepodobnosť vzniku nádorových metastáz a častejšie aj horšiu prognózu. Obezita ovplyvňuje všetky známe vlastnosti a etapy karcinogenézy. Medzi významné celulórne a metabolické faktory karcinogenézy sa pokladajú aj adipocyty. Osobitný význam pri podpore karcinogenézy majú tzv. adipocyty podporujúce karcinogenézu, ktoré vznikajú z bielych adipocytov. Dysfunkčné tukové tkanivo u ľudí s obezitou podporuje viacerými mechanizmami tvorbu nádorových metastáz. Vedecké dôkazy potvrdzujú, že čím väčšiu nadmernú telesnú hmotnosť majú ľudia počas dospelosti, tým vyššie je u nich riziko rozvoja niektorých druhov zhubných nádorov. Výnimkou je jedine premenopauzálny karcinóm prsníka, kde je rizi-

ko vzniku tohto nádoru u žien s obezitou vo všeobecnosti nižšie. Naopak, dôkazy takisto potvrdzujú, že čím viac ženy počas dospelosti priberú na telesnej hmotnosti, tým je u nich riziko postmenopauzálného karcinómu prsníka vyššie. Obezita sa spája so zvýšeným rizikom celkovej úmrtnosti i špecifickej nádorovej úmrtnosti. Poruchy v systémovej metabolizme a zápalové procesy a signály vedúce k tumorigenéze pri obezite sú predmetom rozsiahleho vedeckého výskumu.

Kľúčové slová: hmotnosť; tuk; adipocyty; obezita; rakovina; zhubné nádory; karcinogenéza; metastázy

ABSTRACT

Compared to people of a healthy weight, people who are preobese or obese are at greater risk of chronic diseases, including several malignancies. Obesity is considered to be a convincingly confirmed cause of at least 13 malignant tumors. Obesity increases the risk of cancer-specific death as well as death from all causes. Obesity promotes tumor growth through multiple pathological mechanisms. If obese patients are affected by a malignant tumor, then when compared to oncological patients who have a normal body weight, they often have a worse response to standard oncological treatment, and a higher probability of developing tumor metas-

tases, and often a worse prognosis. Obesity affects all known properties and stages of carcinogenesis. Adipocytes are also considered important cellular and metabolic factors in carcinogenesis. Of particular importance in promoting carcinogenesis are the so-called cancer associated adipocytes that arise from white adipocytes. Dysfunctional adipose tissue in people with obesity supports the formation of tumor metastases through several mechanisms. Scientific evidence confirms that the more excess body weight people have during adulthood, the higher their risk of developing certain types of malignant tumors. The only exception is premenopausal breast cancer, where the risk of developing this tumor is generally lower in obese women. Conversely, evidence also confirms that the more weight women gain during adulthood, the higher their risk of postmenopausal breast cancer. Obesity is associated with an increased risk of total mortality and cancer-specific mortality. Disturbances in systemic metabolism and inflammatory processes and signals leading to tumorigenesis in obesity are the subject of extensive scientific research.

Key words: weight; fat; adipocytes; obesity; cancer; malignant tumors; carcinogenesis; metastases

ÚVOD

V porovnaní s ľuďmi so zdravou hmotnosťou sú ľudia s preobezitou alebo obezitou vystavení väčšiemu riziku mnohých chronických chorôb vrátane cukrovky, vysokého krvného tlaku, kardiovaskulárnych ochorení, mozgovej mŕtvice, ako aj zvýšenému riziku úmrtia zo všetkých príčin. Obezita sa navyše pokladá za presvedčivo potvrdenú príčinu minimálne 13 zhubných nádorov (Berrington de Gonzalez a kol., 2010, National Institute of Health. National Cancer Institute, 2022). Dostupné dáta o asociácii medzi obezitou a rizikom vzniku zhubných nádorov pochádzajú z veľkých kohortových observačných epidemiologických štúdií. Mnohé údaje z observačných štúdií však nedokážu jednoznačne potvrdiť kauzálny vzťah obezity ku konkrétnym zhubným nádorom. Je to spôsobené tým, že jedinci s obezitou alebo preobezitou (nadváhou) sa od štíhlych ľudí môžu líšiť aj iným spôsobom, než je množstvo ich telesného tuku. Je možné, že aj iné odlišnosti než telesný tuk, môžu byť u ľudí s obezitou zdrojom zvýšeného rizika rakoviny. Napriek tomu možno konštatovať, že všetky renomované onkologické spoločnosti a agentúry

(International Agency for Research on Cancer, World Cancer Research Fund, National Cancer Institute, American Institute of Cancer Research, American Cancer Society, a ďalšie) dospeli k záveru, že existuje dostatok konzistentných dôkazov o tom, že vyššie množstvo telesného tuku je spojené so zvýšeným rizikom viacerých druhov zhubných nádorov. Navyše pacienti, ktorí v čase diagnostikovania zhubného nádoru majú vyšší BMI, alebo pacienti, ktorí už prekonalí jedno onkologické ochorenie, majú vyššie riziko, že v budúcnosti u nich vznikne iný, s predchádzajúcim nádorom nesúvisiaci zhubný nádor (Feigelson a kol., 2021, Sung a kol., 2020).

Množstvo a distribúcia telesného tuku

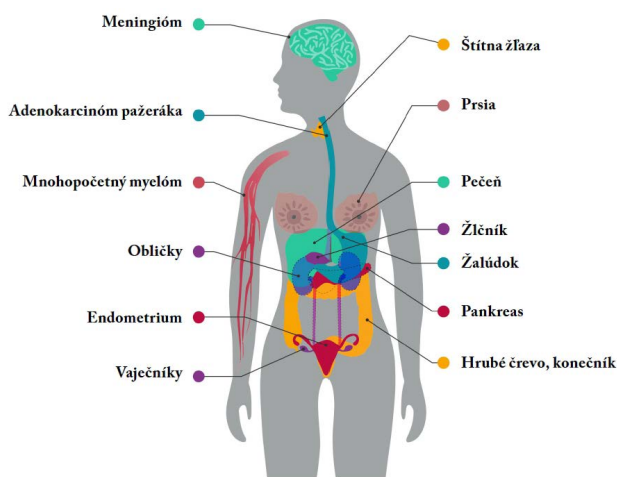
Tuk nie je v organizme rozložený rovnomerne. Hromadí sa predovšetkým v podkoží v oblasti ramien, brucha, bokov, stehien a v gluteálnej oblasti. Môže sa však hromadiť aj intraabdominálne alebo viscerálne a môže sa ukladať tiež v iných orgánoch, akými sú napríklad pečeň alebo kostrové svaly. Zásoby tuku možno preto rozdeliť na "periférne" alebo "centrálne" (vnútrobrušné). Pri hodnotení závažnosti adipozity sa nemá posudzovať len celkové množstvo telesného tuku, ale aj jeho regionálna distribúcia, ako aj to, či sa vyskytuje aj vo vnútri špecifických orgánov (napr. v pečeni, pečenožná steatóza). K informáciám o rozložení telesného tuku a závažnosti adipozity prispievajú údaje o náraste telesnej hmotnosti, takisto aj vybrané antropometrické merania, predovšetkým obvod pásu, pomer obvodu pásu a obvodu bokov, pomer obvodu pásu k telesnej výške. Merania, ako je prírastok hmotnosti dospelých, obvod pásu, obvod bokov a pomer pásu a bokov prispievajú k informáciám o rozložení tukového tkaniva. Experti Svetového fondu pre výskum rakoviny na základe početných vedeckých argumentov došli k záveru, že:

A) existujú presvedčivé dôkazy o tom, že nadhmotnosť (preobezita) alebo obezita počas dospelosti zvyšujú riziko rakoviny úst, hltana a hrtana; pažeráka (adenokarcinóm); žalúdka (kardia); pankreasu; žlčníka; pečene; prsníka (u žien po menopauze); vaječníkov; endometria; prostaty (pokročilý karcinóm prostaty) a obličiek.

B) väčší prírastok telesnej hmotnosti počas dospelosti zvyšuje u žien riziko postmenopauzálného karcinómu prsníka;

C) nadhmotnosť (preobezita) alebo obezita v dospelosti pred menopauzou znižuje riziko karcinómu prsníka pred menopauzou;

D) nadhmotnosť alebo obezita vo veku 18 až 30 rokov znižuje u žien riziko rakoviny premenopauzálneho aj postmenopauzálneho karcinómu prsníka (World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research, 2018). Nižšie riziko karcinómu prsníka u mladých žien s nadváhou alebo obezitou v porovnaní so štíhlymi ženami je vzácnym úkazom paradoxného vplyvu obezity v onkológii. Hoci na vyjadrenie miery obezity sa bežne používa Body Mass Index (BMI), je dobre známe, že tento parameter nevyjadruje najpresnejšie kardio-metabolické a nádorové riziká obezity. Na hodnotenie miery zdravotných rizík by sa preto mal uprednostniť obvod pásu, pretože lepšie koreluje s brušnou (viscerálnou) obezitou a ukazovateľmi „nezdravého“ metabolizmu, medzi ktoré okrem nádorových rizík patria predovšetkým poruchy metabolizmu lipidov, poruchy metabolizmu glukózy (vrátane diabetu) a artériovej hypertenzie. Takisto sa podarilo potvrdiť aj fakt, že nadmerný obvod pásu pri abdominálnej obezite zvyšuje aj výskyt a úmrtnosť viacerých druhov zhubných nádorov, a to predovšetkým karcinómu prsníka u žien po menopauze a kolorektálneho karcinómu. Rizikový vzťah obezity k rakovine môže mať aj opačný kurz: viacero klinických štúdií potvrdilo, že ak sa u ľudí s obezitou udržateľne zníži telesná hmotnosť, či už v dôsledku konzervatívnych liečebných metód (redukčná diéta, fyzická aktivita, psychologický koučing, antiobezitická) alebo operačných zákrokov (bariatrické výkony), riziko vzniku zhubných nádorov sa u nich znižuje.

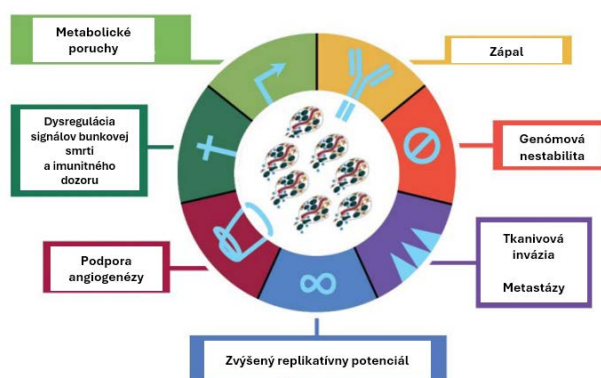


Obr. 1. 13 zhubných nádorov, spojených s nadhmotnosťou a obezitou. Zdroj: NIH, 2022; Minárik a Mináriková, 2023.

Cesty a mechanizmy karcinogénneho vplyvu obezity

Obezita podporuje rast nádorov prostredníctvom viacerých patologických mechanizmov, medzi ktoré patria predovšetkým • metabolické poruchy, • nerovnováha hormonálnych faktorov, • nerovnováha rastových faktorov, • chronická inflamácia. Ak sú pacienti s obezitou postihnutí zhubným nádorom, potom pri porovnaní s onkologickým pacientmi, ktorí majú normálnu telesnú hmotnosť, majú častejšie horšiu odpoveď na štandardnú onkologickú liečbu, vyššiu pravdepodobnosť vzniku nádorových metastáz a častejšie aj horšiu prognózu (O'Flanagan a kol., 2017).

Obezita ovplyvňuje všetky známe vlastnosti a etapy karcinogenézy: • preprogramuje energetický metabolizmus, • potenciuje proliferatívnu signalizáciu, • spôsobuje chronickú inflamáciu, • zintenzívňuje genómovú nestabilitu, • posilňuje replikatívnu nesmrteľnosť buniek, • potenciuje neoangiogézu, • aktivuje procesy invázie a tvorby metastáz, • zvyšuje odolnosť voči: rastovým supresorom, induktorom bunkovej smrti (apoptózy) a imunoregulátorom (Hanahan a kol., 2011).



Obrázok 2: Obezita ovplyvňuje všetky známe vlastnosti a etapy karcinogenézy

Voľne spracované podľa: Hanahan, D. a kol. 2011

Medzi významné celulórne metabolické faktory karcinogenézy sa pokladajú aj adipocyty (tukové bunky). Histologicky sa rozlišujú tri hlavné typy adipocytov:

• **BIELE ADIPOCYTY**, ktoré tvoria > 95 % tukovej hmoty. Biele adipocyty za istých okolností, napríklad pri nadmernej akumulácii triacylglycerolov, produkujú vo zvýšenej miere metabolické faktory, ktoré sa asociujú s nádorovými chorobami, napr. leptín, rezistín, IGF-1 (inzulínu podobný rastový faktor-1), TNF- α (tumor necrosis faktor-alfa), IL-6 (interleukín-6), ako aj voľné mastné kyseliny, a naopak,

OBEZITA, NÁRAST TELESNEJ HMOTNOSTI A RIZIKO ZHUBNÝCH NÁDOROV					
Hodnotenie WCRF/AICR		Faktory znižujúce riziko		Faktory zvyšujúce riziko	
		Expozícia	Typ nádoru	Expozícia	Typ nádoru
SILNÉ DŮKAZY	Presvedčivé			Obezita u dospelých	Pažerák Pankreas Pečeň Kolorektum Prsník (po menopauze) Endometrium Oblčky
				Nárast hmotnosti v dospelosti	Prsník (po menopauze)
	Pravdepodobné	Obezita v dospelosti	Prsník (pred menopauzou)	Obezita v dospelosti	Ústna dutina, farynx, larynx Žalúdok (kardia) Žľčník Vaječníky Prostata (pokročilý karcinóm)
		Obezita u mladých dospelých	Prsník (pred menopauzou) Prsník (po menopauze)		
OBMEDZENÉ DŮKAZY	Obmedzené s náznakom			Obezita v dospelosti	Cervix (BMI ≥ 29 kg/m ²)
SILNÉ DŮKAZY	Zásadný vplyv na riziko je nepravdepodobný	Neboli identifikované			

Tab. 1. Obezita a nárast telesnej hmotnosti vo vzťahu k riziku zhubných nádorov, Voľne spracované podľa: WCRF/AICR, 2018

znižujú produkciu proteínového hormónu adiponektínu, ktorý okrem toho, že zvyšuje inzulínovú senzitivitu, má aj protizápalové, kardioprotektívne a antikancerogénne vlastnosti.

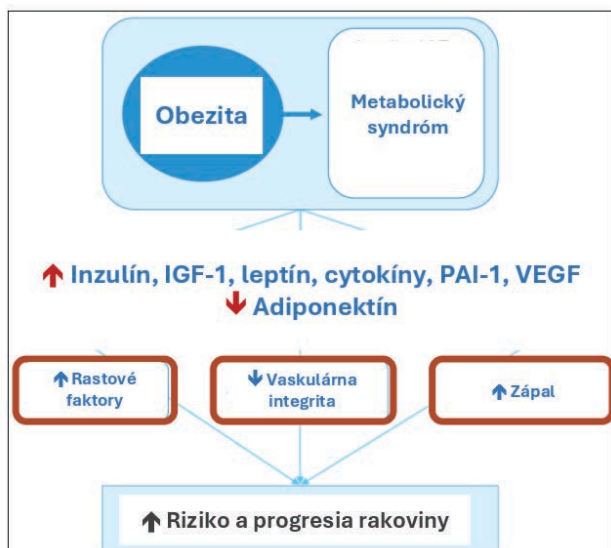
- **HNEDÉ ADIPOCYTY**, ktoré tvoria 1–2 % tukovej hmoty. Hnedé adipocyty produkujú sekretóm, ktorý zahŕňa viacerých faktorov, ktoré podporujú termogénu, zvyšujú energetický výdaj, potláčajú inflamáciu a normalizujú inzulínovú senzitivitu. Okrem mnohých iných látok sem patrí už vyššie spomínaný adiponektín.

- **BĚŽOVÉ ADIPOCYTY**, ktoré sa ťažko kvantifikujú, pretože sú rozptýlené pod kožou v blízkosti chrčtice a kľúčnej kosti a u dospelých sa nedajú odobrať ako celok.

Adipocyty sú typom stromálnych buniek a nachádzajú sa aj v rôznych tkanivách, ktoré zohrávajú aktívnu úlohu v oblasti mikroprostredia nádorov. Z bieleho tukového tkaniva môže vzniknúť viacerých druhov adipocytov. Hlavným bunkovým typom, ktoré vznikajú z bielych adipocytov, sú tzv. zrelé adipocyty. Zrelé adipocyty sa vyznačujú tým, že majú okrúhly tvar, obsahujú iba malý počet mitochondrií,

vylučujú rôzne druhy adipocytokínov a obsahujú len jednu veľkú tukovú kvapku. Z bielych adipocytov však môžu vzniknúť aj adipocyty podporujúce karcinogénu (cancer-associated adipocytes). Tieto vznikajú z bielych adipocytov pri nádorovej progresii a predstavujú malígnu fenotyp adipocytov. Adipocyty podporujúce karcinogénu okrem iných procesov vytvárajú aj fibroblasty, ktoré metabolizujú svoje lipidy na glycerol a voľné mastné kyseliny. Tieto adipocyty podporujú karcinogénu tým, že vylučujú v nádorovom mikroprostredí exogénne mastné kyseliny, poskytujú pre nádorové bunky dostatočné množstvo energie. Navyše vedú k metabolickému preprogramovaniu rakovinových buniek. Adipocyty podporujúce karcinogénu významne ovplyvňujú nielen rast samotných nádorov, ale aj proces tvory metastáz, a to prostredníctvom viacerých mechanizmov, vrátane parakrinnej, juxtakrinnej a endokrinnej signalizácie, vylučovania viacerých metabolitov a metabolického preprogramovania. Tento účinok je najväčší pri nádoroch, ktoré sú úzko s adipocytmi spojené, medzi ktoré patria karcinóm prsníka, kolorektálny

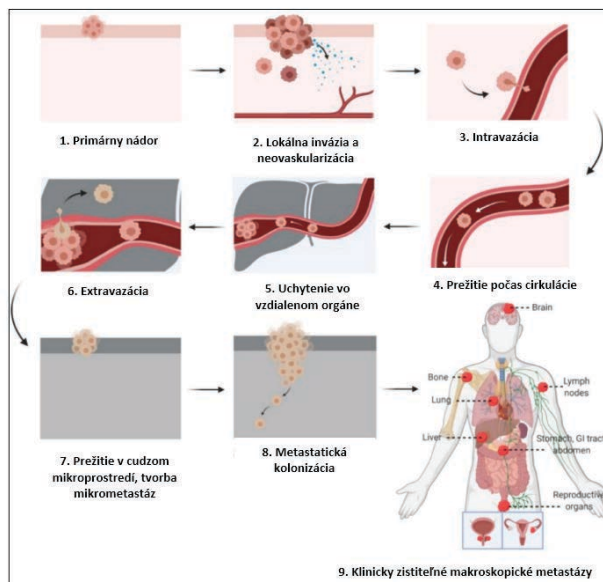
karcinóm a karcinóm ovárií. Preto cieleňé ovplyvňovanie adipocytov podporujúcich karcinogénu a metabolizmu lipidov môže byť budúcnosti potenciálnym príspevkom pri liečbe rakoviny (Huihui a kol., 2021).



Obrázok 3: Vybrané molekulárne a metabolické mechanizmy vzájomného vzťahu medzi obezitou a rakovinou
Voľne spracované podľa: O'Flanagan a kol., 2017
Poznámky: IGF-1 (inzulínu podobný rastový faktor-1), PAI-1 (inhibitor aktivátora plazminogénu-1), VEGF (vaskulárny endotelový rastový faktor)

Obezita a nádorové metastázy

Dysfunkčné tukové tkanivo u ľudí s obezitou podporuje metastatický proces. Na to, aby nádorové bunky prežili, musia komunikovať so svojím prostredím. Nadmerné zásoby dysfunkčného tukového tkaniva prostredníctvom viacerých metabolických signálnych dráh podporujú prežitie metastatických nádorových buniek, čo umožňuje tvorbu sekundárnych nádorov na vzdialených miestach. Onkologickí pacienti s obezitou majú preto oproti pacientom s normálnou telesnou hmotnosťou v dôsledku zrýchleného šírenia nádoru častejšie horšiu prognózu. Zabránenie komunikácii nádorových buniek s tukovým tkanivom by preto v budúcnosti mohlo viesť k novým liečebným postupom zameraným na zastavenie takéhoto šírenia a tvorby nádorových metastáz. V súčasnosti sa hľadajú nové druhy terapie a zásahy do životného štýlu v snahe zabrániť komunikácii medzi rakovinovými bunkami a tukovým tkanivom (Annett a kol., 2020).



Obrázok 4: Kľúčové etapy metastatickej kaskády
Voľne spracované podľa: Annett, 2020

Od obezity k rakovine: prehľad rizík

Vedecké dôkazy potvrdzujú, že čím väčšiu nadmernú telesnú hmotnosť majú ľudia počas dospelosti, tým vyššie je u nich riziko rozvoja niektorých druhov zhubných nádorov. Výnimkou je jedine premenopauzálny karcinóm prsníka, kde je riziko vzniku tohto nádoru u žien s obezitou vo všeobecnosti nižšie. Naopak dôkazy takisto potvrdzujú, že čím viac ženy počas dospelosti priberú na telesnej hmotnosti, tým je u nich riziko postmenopauzálného karcinómu prsníka vyššie. V nasledujúcej časti uvádzame základný prehľad rizík pre tie zhubné nádory, u ktorých je potvrdený dôkazný vzťah k obezite (World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research, 2018). Vo významnej väčšine uvedených prípadov sa relatívne riziko nižšie uvedených nádorov s nárastom BMI viac alebo menej zvyšuje (Pati a kol., 2023).

Table 2. Gender-specific summary of cancer risk for each 5 kg per m² increase in BMI for major cancers with strong evidence of relationship with obesity.

Type of Cancer	Number of Cohorts	Relative Risk (95% Confidence Interval)	
		Women	Men
Endometrial cancer [4]	19	1.59 (1.50–1.68)	NA
Gallbladder cancer [4]	4	1.59 (1.02–2.47)	1.09 (0.99–1.21)
Esophageal adenocarcinoma [4]	5	1.51 (1.31–1.74)	1.52 (1.33–1.74)
Kidney cancer [4]	12	1.34 (1.25–1.43)	1.24 (1.15–1.34)
Postmenopausal breast cancer [4]	34	1.12 (1.08–1.16)	NA
Hepatocellular cancer [19]	9	1.12 (1.03–1.22)	1.19 (1.09–1.29)
Pancreatic adenocarcinoma [23]	23	1.10 (1.04–1.16)	1.13 (1.04–1.22)
Colon cancer [4]	29	1.09 (1.05–1.13)	1.24 (1.20–1.28)
Ovarian cancer [77]	34	1.06 (1.00–1.12)	NA
Stomach cancer [4]	8	1.04 (0.90–1.20)	0.97 (0.88–1.06)
Rectal cancer [4]	29	1.02 (1.00–1.05)	1.09 (1.06–1.12)
Later stage prostate cancer [73]	23	NA	1.08 (1.04–1.12)

NA = not available.

Obrázok 5: Prehľad rizika rakoviny pre každé zvýšenie BMI o 5 kg/m² pre zhubné nádory so silným dôkazným vzťahom s obezitou: v závislosti od pohlavia

Prevzaté z: Pati, S., a kol., 2023

PEČEŇ – ŽLČNÍK – PANKREAS / KOLOREKTUM – ŽALÚDOK (KARDIA) – ENDOMETRIUM

Figure 5.11: CUP non-linear dose-response association of body mass index and the risk of liver cancer

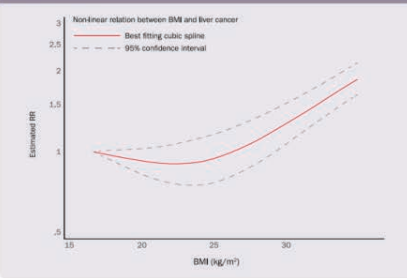


Figure 5.34: CUP non-linear dose-response association of body mass index and the risk of gallbladder cancer

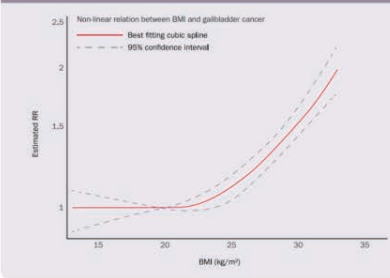


Figure 5.6: CUP non-linear dose-response association of body mass index and the risk of pancreatic cancer incidence

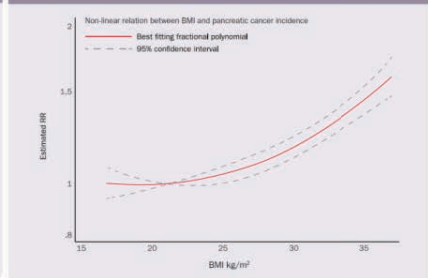


Figure 5.13: CUP non-linear dose-response association of body mass index and the risk of colorectal cancer

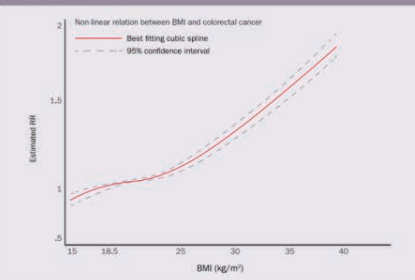


Figure 5.32: CUP non-linear dose-response association of body mass index and the risk of cardia stomach cancer

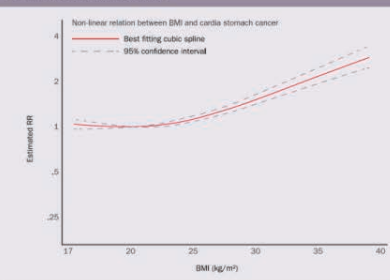


Figure 5.22 CUP non-linear dose-response association of body mass index and the risk of endometrial cancer

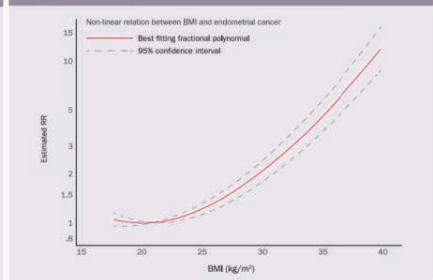
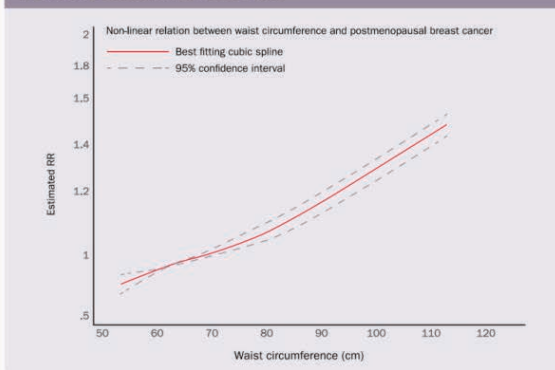


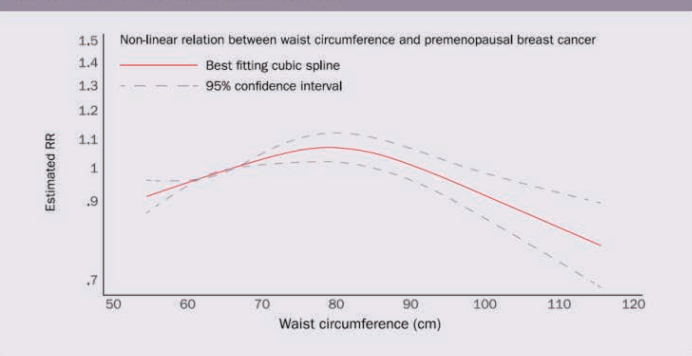
Figure 5.18: CUP non-linear dose-response association of waist circumference and the risk of postmenopausal breast cancer



PREMENOPAUZÁLNY KARCINÓM PRSNÍKA



Figure 5.42: CUP non-linear dose-response association of waist circumference and the risk of premenopausal breast cancer¹



POSTMENOPAUZÁLNY KARCINÓM PRSNÍKA

Obrázok 6 a 7: Nelineárny vzťah medzi obvodom pása (karcinóm prsníka) alebo BMI (ostatné nádory) so zhubnými nádormi, ktoré majú silný dôkazný vzťah k obezite

Prevzaté z: World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Continuous Update Project Expert Report 2018. Body fatness and weight gain and the risk of cancer. dietandcancerreport.org

Obezita sa spája so zvýšeným rizikom celkovej úmrtnosti i špecifickej nádorovej úmrtnosti. Systematický prehľad a metaanalýza 230 kohortových štúdií, zahŕňajúcich 6,3 milióna pacientov so zhubnými nádormi ukázala, že

nadváha (preobezita) a obezita sa spája so zvýšeným rizikom úmrtnosti. Štúdia potvrdila, že obezita sa spája so zvýšenou celkovou a špecifickou nádorovou úmrtnosťou. Obezita sa v priemere spája so 14 % zvýšeným rizikom

celkovej úmrtnosti (pomer rizika [HR] pre celkové prežitie 1,14; 95 % CI, 1,09–1,19; $p < 0,001$). Obezita sa takisto spája so 17 % zvýšeným rizikom špecifickej nádorovej úmrtnosti (HR pre prežitie špecifické pre rakovinu, 1,17; 95 % CI, 1,12–1,23; $p < 0,001$). Navyše sa obezita sa spája s 13 % zvýšeným rizikom nádorovej recidívy (HR pre recidívu, 1,13; 95 % CI, 1,07–1,19; $p < 0,001$) (Petrelli a kol., 2021, Aune a kol., 2016).

ZÁVER

Výskyt obezity medzi dospelými a dospievajúcimi je na Slovensku na vzostupe a v súčasnosti je vyšší ako priemer EÚ. Onkologickí pacienti s obezitou majú v porovnaní s onkologickými pacientmi s normálnou telesnou hmotnosťou častejšie horšiu prognózu, sú odolnejší voči chemoterapii a náchylnejší na vznik vzdialených metastáz. Základom pre kauzálnu väzbu medzi obezitou a zhubnými nádormi je viacero metabolických a hormonálnych mechanizmov. Obezita ovplyvňuje každú charakteristickú vlastnosť a každú vývojovú etapu nádorového ochorenia. Poruchy v systémovej metabolizme a zápalové procesy a signály vedúce k tumorigenéze pri obezite sú predmetom rozsiahleho vedeckého výskumu.

Použité skratky:

- AICR / American Institute for Cancer Research
- BMI / Body Mass Index
- WCRF / World Cancer Research Fund

KONFLIKT ZÁUJMOV

Autori nemajú žiaden potenciálny konflikt záujmov v súvislosti s týmto článkom.

LITERATÚRA

1. Annett, S., Moore, G., Robson, T., et al. (2020) "Obesity and Cancer Metastasis: Molecular and Translational Perspectives", *Cancers*, 12, 3798; Dostupné na: doi:10.3390/cancers12123798.
2. Aune, D., Sen, A., Prasad, M., et al. (2016) "BMI and all cause mortality: Systematic review and non-linear dose-response meta-analysis of 230 cohort studies with 3.74 million deaths among 30.3 million participants", *BMJ*, 353, i2156.
3. Berrington de Gonzalez, A., Hartge, P., Cerhan, JR., et al. (2010) "Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults", *New England Journal of Medicine*, 363(23): p. 2211–2119.
4. Feigelson, HS., Bodelon, C., Powers, JD., et al. (2021) "Body mass index and risk of second cancer among women with breast cancer", *Journal of the National Cancer Institute*, 113(9): p. 1156–1160.
5. Hanahan, D., Weinberg, RA. (2011) "Hallmarks of cancer: the next generation", *Cell*, 144(5): p. 646–74. Dostupné na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>. PMID:21376230.
6. Huihui, Y., Songbing, H. (2021) "Multi-faceted role of cancer-associated adipocytes in the tumor microenvironment (Review)", *Molecular Medicine Reports*, 24: 866. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8554381/pdf/mmr-24-06-12506.pdf>.
7. Minárik, P., Mináriková, D. (2023) "Protirakovinová diéta. Strava a pohyb pri prevencii a liečbe", Bratislava: Dr. Josef Raabe Slovensko, s.r.o., ISBN 978-80-8140-833-5.
8. National Institute of Health. National Cancer Research Institute. Division of Cancer Control & Population Sciences (2022) "Obesity and Cancer". Washington DC, USA: NIH, NCI. Dostupné na: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/obesity/obesity-fact-sheet>.
9. O'Flanagan, CH., Bowers, LW., Allott, EH., Hursting SD. (2017) "Molecular and metabolic mechanisms underlying the obesity–cancer link", In book: *Energy balance and obesity* (pp.112 - 121) Chapter: 12. 2017. International Agency for Research on Cancer. Editors: Isabelle Romieu, Laure Dossus, Walter Willett.
10. Pati, S., Irfan, W., Jameel, A., et al. (2023) "Obesity and Cancer: A Current Overview of Epidemiology, Pathogenesis, Outcomes, and Management", *Cancers*, 15, 485. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/cancers15020485>.
11. Petrelli, F., Cortellini, A., Indini, A., et al. (2021) "Association of Obesity With Survival Outcomes in Patients With Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis", *JAMA Netw. Open*, 4, e213520.
12. Sung, H., Hyun, N., Leach, CR., et al. (2020) "Association of first primary cancer with risk of subsequent primary cancer among survivors of adult-onset cancers in the United States", *JAMA*, 324(24): p. 2521–2535.
13. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2018) "Continuous Update Project Expert Report 2018. Body fatness and weight gain and the risk of cancer", Washington DC (USA): WCRF/AICR, ISBN 978-1-912259-26-7. Dostupné na: www.dietandcancerreport.org.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 187–206

POCT. TESTOVANIE PRI PACIENTOVI
II. STRATÉGIA IMPLEMENTÁCIE POC TESTOVANIA V ZDRAVOTNÍCKYCH
ZARIADENIACH
POINT-OF-CARE TESTING.
II. STRATEGY FOR IMPLEMENTING POC TESTING IN HEALTHCARE FACILITIES

Ján Balla

Slovenská spoločnosť klinickej biochémie

jan.balla.sr@gmail.com

SÚHRN

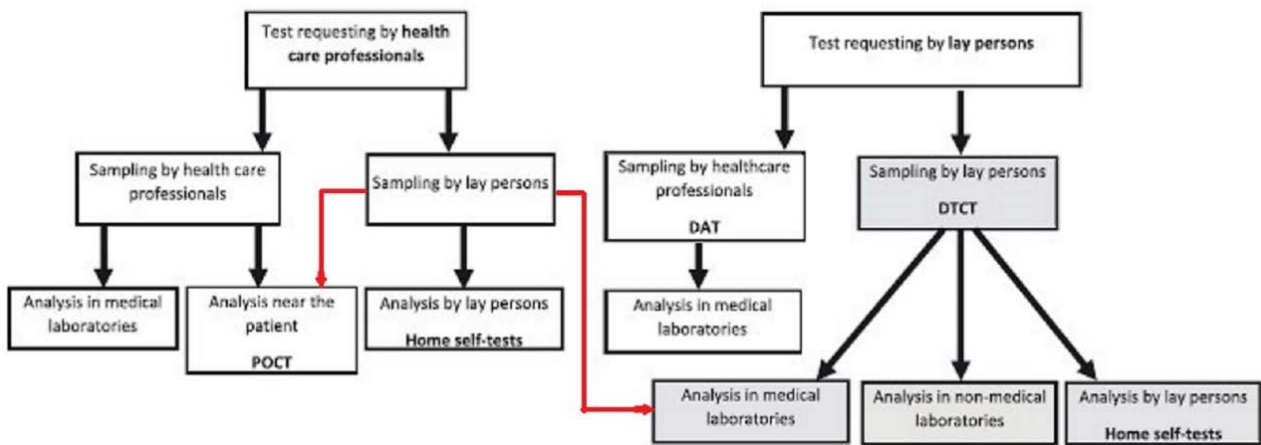
V posledných dvoch desaťročiach prešla laboratórna medicína významnými zmenami. Medicínske laboratóriá čelili procesom reorganizácie a konsolidácie a naštartovala sa alternatíva laboratórneho testovania priamo pri pacientovi alebo v jeho blízkosti (POCT). Pokroky v decentralizovanej laboratórnej diagnostike podnietili moderné sofistikované prístroje, pokrokové technológie, natívne vzorky bez chemickej úpravy a transportu do laboratória a možnosť testovať priamo ošetrojúcim nelaboratórnym personálom. Výhody testovania pri pacientovi (POCT) priniesli so sebou zároveň aj potenciálne riziká, pretože rýchlosť testovania išla na úkor jeho spoľahlivosti. Odstránenie nevýhod testovania na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti potrebuje namiesto trhových vzťahov usmernenie, reguláciu a aplikáciu systémového prístupu. Implementačný proces POCT si na všetkých úrovniach decentralizovanej diagnostiky vyžaduje premyslenú politiku, legislatívu, organizáciu a vzdelávanie.

Kľúčové slová: diagnostický test; testovanie pri pacientovi; implementácia POCT v nemocnici, implementácia POCT mimo nemocnice; zabezpečenie kvality; vzdelávanie

ABSTRACT

Over the last twenty years, there have been significant changes in laboratory medicine. Medical laboratories have undergone reorganization and consolidation, and point-of-care testing (POCT) has become an alternative for testing directly at or near the patient. Advances in decentralized laboratory diagnostics have been driven by modern sophisticated instruments, advanced technologies, and the ability to test directly without sample pretreatment and transport to the laboratory. While point-of-care testing offers advantages such as speed and accessibility, it also comes with potential risks as the speed of testing may compromise quality and reliability. Proper guidance, regulation, and a systems approach are needed to address these issues rather than relying solely on market relations. Implementing POCT requires thoughtful policy, legislation, organization, and education at all levels of decentralized diagnostics.

Key Words: diagnostic test; near-patient testing; POCT implementation inside the hospital, POCT implementation outside the hospital; quality assurance; training



Obrázok 1. Diagnostické testovanie podľa Orth et al. (2022) (upravené autorom článku).

ÚVOD

Diagnostický test je akýkoľvek typ lekárskej skúšky (testu) vykonávanej na diagnostiku stavu, choroby alebo ochorenia ľudí, ktorí vykazujú klinické príznaky alebo symptómy možného ochorenia. Diagnostické testy môžu byť invazívne a neinvazívne. Invazívne môžu zahŕňať prenikanie cez kožu alebo vstup do tela, zatiaľ čo neinvazívne sa zaoberajú bez prepichnutia kože alebo vstupu do tela. Diagnostickým testom je biopsia (vzorka tkaniva odobratá na histologické alebo cytologické vyšetrenie), kolonoskopia (zavedenie kolonoskopu do konečníka a hrubého čreva až po dolný koniec tenkého čreva), CT (skenovanie na princípe využívania ionizujúceho žiarenia), MR (rádiologická metóda v silnom magnetickom poli), audiometria (test sluchu v odhlučnenej audiometrickej kabínke), sonografia (zobrazovacia technika založená na použití ultrazvuku), laboratórny test (analýza telových tekutín fyzikálno-chemickými, imunochemickými, mikrobiologickými, rádioizotopovými, molekulárne biologickými a inými metódami).

Laboratórne diagnostické testovanie sa skladá z 3 základných fáz: preanalytickej, analytickej a postanalytickej. Preanalytická fáza zahŕňa výber a požiadavku testu lekárom/ zdravotníckym pracovníkom alebo laikom, odber biologického materiálu a jeho transport do klinického laboratória. Analytickú fázu predstavuje manipulácia a spracovanie vzorky a následná transformácia (úprava) vzorky do formy vhodnej na analýzu pomocou vybranej fyzikálno-analytickej metódy, ktorou sa deteguje alebo kvantitatívne stanovuje množstvo alebo koncentrácia vyšetrovanej zložky (analytu). Väčšinou ide o automatizovaný proces merania bez zásadného vplyvu ľudského

faktora. Postanalytickú fázu testovania predstavuje hlásenie výsledku a interpretácia zistení. Na ich základe sa rozhoduje o ďalších opatreniach v diagnostike, kontrole ochorenia alebo jeho liečby.

Diagnostické testovanie sa dnes vykonáva na rôznych miestach. Na základe toho, kto test žiada, vykonáva a interpretuje, je možné diagnostické testovanie klasifikovať do niekoľkých skupín.

Laboratórne testovanie požaduje lekár, vykonáva laboratórny profesionál v zdravotníckom laboratóriu, interpretáciu výsledku vykoná a ďalšie smerovanie určuje lekár. Výsledok testu sa uvádza v zdravotnej dokumentácii pacienta.

Testovanie s priamym prístupom (DAT) je všeobecne definované ako laboratórne testovanie ľudských vzoriek iniciované spotrebiteľom a nie lekárom. Je známe tiež ako testovanie autorizované pacientom. Spotrebiteľ si sám objedná testy v laboratóriu, ktoré sám zaplatí (samoplatca). V Amerike a viacerých krajinách Európy je DAT široko ponúkané verejnosti. V niektorých krajinách je však regulované národnou legislatívou. Niektoré európske štáty DAT nepovoľujú, laboratórne testy vykoná laboratórium pacientovi iba vtedy, ak pacient do laboratória donesie žiadanku a vzorku na vyšetrenie od lekára. Na Slovensku je DAT povolený a s lokálnymi špecifikami ho ponúkajú rovnako privátne ako aj štátne laboratória. DAT si objednáva jednotlivec (samoplatca) s alebo bez predchádzajúcej konzultácie s lekárom alebo žiadanky lekára o testovanie. Vo väčšine prípadov si samoplatca v SR môže sám doplniť žiadanku od lekára o ďalšie vyšetrenia alebo si vystaví žiadanku na laboratórne testy úplne sám. V záujme pacienta niektoré slovenské laboratória obmedzujú paletu DAT

tam, kde je zvýšený potenciál výskytu predanalytických alebo postanalytických chýb, ktorých by sa pacient mohol dopustiť (Prieskum autora, zdroje si prajú zostať v anonymite, 2024).

Rozvoj nových pokročilých technológií a konštrukčná miniaturizácia prístrojov viedla v poslednom období k nebyvalému rozvoju diagnostického testovania nielen zdravotníckymi pracovníkmi a nielen v zdravotníckych zariadeniach, ale aj doma samotestovaním. **Priame testovanie spotrebiteľom** (pacientom) (Direct to Consumer Testing, DTCT) expanduje v súčasnosti nesmierne rýchlo. Testy ordinuje (autorizuje) sám spotrebiteľ (laik), vykonáva ich samotestovaním laik doma a výsledky si podľa inštrukcií výrobcu testu interpretuje sám. Výsledky testov, ktoré autorizuje spotrebiteľ (pacient), sa nezapisujú do zdravotnej dokumentácie. Do tejto skupiny možno klasifikovať DTCT, DTC, PST a OTC testy (Balla, 2024). Samotesty vykonané priamo spotrebiteľmi (DTCT) môžu byť použité vhodne alebo nevhodne. Najvhodnejším scenárom použitia DTCT je, keď si spotrebiteľ s jasnými príznakmi alebo rizikovými faktormi vyberie správny, vysokokvalitný DTCT test. Testy bez indikácie lekára sú užitočné (dobré) vtedy, ak je pravdepodobnosť správneho použitia vysoká. Testy, ktoré sú vyvinuté pre laboratórne použitie, ale predávajú sa na iný účel, ako sú určené (napr. DTCT), môžu byť zneužitú. Testy, ktoré nemajú vedeckú podstatu a predávajú sa priamo spotrebiteľom (OTC), ktorí ich vykonávajú bez usmernenia lekárom, sú rizikové a môžu byť dokonca škodlivé (Orth, 2022).

Point-of-Care Testing (POCT) požaduje lekár, poisťovňa alebo iná zdravotnícka inštitúcia, test vykonáva kvalifikovaný zdravotnícky pracovník, ale obvykle bez laboratórneho vzdelania, interpretáciu výsledku a ďalšie rozhodovanie vykonáva lekár alebo iný zdravotnícky pracovník. Výsledok testu sa zapisuje do zdravotnej dokumentácie pacienta. Do tejto kategórie testovania sa okrem POCT radia aj *Near Patient Testing (NPT)* a *Bed Side Testing (BST)*.

Testovanie na mieste zdravotnej starostlivosti (POCT) čoraz viac nahrádza konvenčné klinické laboratórium. Trh s POC testovaním rastie ročným tempom 9%, čo vo finančnom vyjadrení predstavuje ročne desiatky miliárd Eur (Nichols, 2022). Výsledky POC testov sú rýchlejšie dostupné, urýchľujú rozhodovanie a umožňujú poskytnutie okamžitej zdravotnej starostlivosti. Aj keď zatiaľ neexistuje žiadna norma na hodnotenie týchto výhod, uprednostnenie doby obratu pri implementácii POCT zvädza k jej nad-

hodnocovaniu a na druhej strane k podceneniu kvality, ktorá je v najvyššom záujme pacientov (Wiencek, 2016), Price, 2018). Keďže rozšírenie decentralizovanej diagnostiky je celosvetovým trendom, musí implementácia POCT v akomkoľvek prostredí zdravotnej starostlivosti akceptovať organizačné výzvy a nevyhnutné regulačné opatrenia (Kost, 2014; Khan, 2021). POC testovanie sa stalo dôležitou súčasťou zdravotnej starostlivosti v širokom spektre služieb od jednotiek intenzívnej starostlivosti, urgentných príjmov, kvalifikovaných ošetrovateľských zariadení, ambulancií, lekárskeho ordinácií, lekární, mobilných záchranných služieb, ošetrovateľskej domácej starostlivosti, domovov seniorov, komunitnej starostlivosti a sociálnej práce s osobami so zdravotným postihnutím. Prvoradým cieľom implementačného programu testovania na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti je zabezpečiť vysokú kvalitu POC testovania a bezpečnosť pacientov (Meier, 2010). Napriek obrovskému množstvu publikovaných prác neexistuje univerzálny model POCT implementácie. V závislosti od miesta testovania sú odporúčané dva implementačné systémy: **POCT v nemocnici a POCT mimo nemocnice**.

1. MANAŽMENT IMPLEMENTÁCIE POCT

Súčasnú zdravotníctvo, ktoré je preťažené a hľadá nové cesty ako pacientovi sprístupniť lepšiu zdravotnú starostlivosť, siaha aj po efektívnejšom spôsobe diagnostického testovania mimo centrálného laboratória. Testovanie na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti (POCT) znamená menej ľudí zapojených do testu a z toho plynúcich menej chýb s tým spojených. Prechod centrálného laboratórneho testovania na formu POCT nemusí byť ale v každej situácii prínosom. Všeobecne sú výhody POCT vnímané podľa princípu „čím rýchlejšie, tým lepšie“. Rýchlosť však podmieňuje kvalitu a kvalita podmieňuje medicínsky manažment. To je znak opatrnosti, aby sa nový trend diagnostického testovania nestal módnym fetišom, ktorý všetko zázračne vylieči. **Najprv je potrebné vyhodnotiť súčasný stav a porovnať ho so stavom, ktorý nastane, ak sa implementuje POCT.** V literatúre síce existuje množstvo POCT riešení, ale predstava jedného autora sa v závislosti od legislatívy, regulačných požiadaviek a reality miestnych podmienok líši od predstavy druhého. Preto je pred implementáciou potrebné venovať pozornosť dôkladnej analýze vlastného stavu, aby ste si vopred čo najlepšie ujasnili, čo presne vystihuje vaše potreby. Implementá-

cia POCT musí byť podložená zlepšenou starostlivosťou o pacienta. Vo väčšine prípadov tento aspekt nekoreluje s miniaturizáciou a už vonkoncom nie s trhovou cenou zariadení, ktorá býva často prioritovaná pri výbere POCT. Najdôležitejším faktorom v procese implementácie POCT je identifikácia klinických potrieb. Vo výberovom konaní by nemala dominovať len základná cena zariadení a spotrebného materiálu, ale mala by sa zohľadniť spoľahlivosť analytickej zložky, automatizovaná technológia, redukcia manuálnej činnosti, kvalita výsledkov, IT konektivita a minimalizácia obmedzení (Balla, 2016).

Úspešná implementácia POCT musí splniť mnohé výzvy (Khan A-H, 2019). Medzi základné požiadavky patrí kompatibilita preanalytických, analytických a postanalytických procesov POCT s laboratórnym testovaním. Musí sa brať na zreteľ rôznorodosť klinického prostredia, typy užívateľov a rôzne technológie. Miniaturizácia je síce veľkou výhodou mobility, no na druhej strane kladie väčšie nároky na personál a jeho technickú spôsobilosť. Kľúčovou otázkou v praxi je spôsob odberu vzoriek, ich aplikácia pri testovaní a vykonanie testu. Vzhľadom na to, že test vykonáva nelaboratórny personál, rozhodujúcu rolu na dosiahnutie kvality hrá automatizácia pri odbere vzorky, príprave a vykonaní testu. Čím viac laboratórneho testovania sa presúva k pacientovi, tým viac rastie počet operátorov, ktorých je potrebné vyškoliť, vzdelávať, viesť a monitorovať ich kompetencie (Yenice, 2021). Pracovníci, ktorí vykonávajú POC testovanie, sa nazývajú POCT operátori. Operátori POCT sú zodpovední za prípravu pacienta na testovanie, odber vzoriek, vykonávanie kontroly kvality a testovanie pacienta, zdokumentovanie výsledkov kontroly kvality a testov pacienta, dokončenie bežnej údržby prístroja, čistenie a dezinfekciu, označenie reagentov dátumom otvorenia a expirácie. Operátori POCT sú zdravotníckymi pracovníkmi v rôznych klinických odboroch a majú rôzne vzdelanie (napr. zdravotné sestry, respirační terapeuti, anesteziológovia, perfuzionisti, záchranári, iní poskytovatelia) a zvyčajne nemajú vzdelanie v laboratórnej medicíne. Neustále a systémové vzdelávanie operátorov POCT a komplexný školiaci program musí preto zahŕňať testovacie metódy, riadenie kvality a analytické zručnosti pre presné testovanie v rôznych zariadeniach a podmienkach. Aby operátori POCT zostali v obraze s technologickým pokrokom a vyvíjajúcimi sa laboratórnymi normami (štandardami), vyžaduje sa pravidelné hodnotenia kompetencií po školení. Potrebné pravidelné tes-

tovanie odbornej spôsobilosti a hodnotenia výkonu spolu s využívaním platforiem digitálneho vzdelávania zvyšuje kvalitu testovania na mieste starostlivosti. V súlade s regulačnými požiadavkami sa takto zaistiť nielen vysoká úroveň testovania, ale aj bezpečnosť pacienta.

Na POCT sa doteraz vzťahovali dve ISO normy. Norma ISO 22870 pre POC testovanie podporované medicínskymi laboratóriami a ISO/TS 22583, dokument s usmerneniami pre POCT služby poskytované bez podpory medicínskych laboratórií. V decembri 2022 bola vydaná 4.verzia normy ISO 15189, ktorej jednou z hlavných zmien bolo zahrnutie požiadaviek týkajúcich sa testovania v mieste starostlivosti (POCT). Norma zdôrazňuje dôležitosť identifikácie a manažmentu rizík, podporuje neustále zlepšovanie a do centra pozornosti stavia pacienta. Táto norma nahradí v decembri 2025 normu ISO 22870. Implementácia metód POCT v nemocnici nie je len vecou rokovanií medzi klinickými pracoviskami a centrálnym laboratóriom. Z dlhodobého hľadiska sa uspokojivé riešenia môžu objaviť len vtedy, keď sa na rozhodovaní a riešení vzniknutých problémov a konfliktov zúčastnia aj všetci účastníci procesu POCT. Aby bolo možné organizovať POCT ako kliniky racionálne a ekonomicky rozumné, ako aj v súlade so zákonnými predpismi upravujúcimi zabezpečenie kvality, odporúča sa vytvoriť komisiu POCT na čele s koordinátorom POCT. Spomedzi rozsiahlych úloh je koordinátor POCT zodpovedný najmä za priestorové požiadavky, výber zariadení, analýzu, porovnávanie metód, spracovanie údajov o výsledkoch a školenie a kvalifikáciu operátorov POCT.

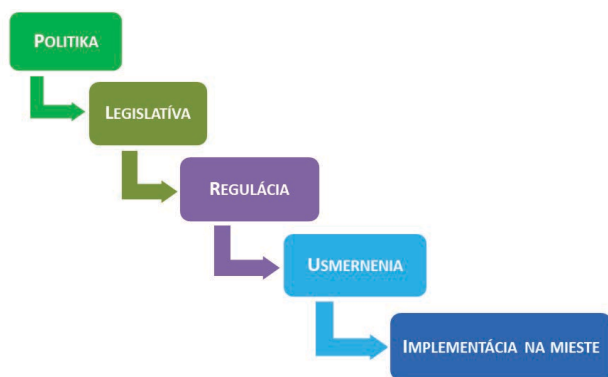
2. ZÁKLADNÉ PREMISY IMPLEMENTÁCIE

Proces úspešnej implementácie POCT v zdravotnej starostlivosti SR nie je len o transpozícii zahraničných poznatkov v realizačnej praxi. Je to strategický projekt, ktorý si vyžaduje medziodborovú spoluprácu všetkých zainteresovaných strán. Predstavujú ich rôzne kategórie: odborné spoločnosti, združenia a spolky ambulantných lekárov, laboratórnych špecialistov (predovšetkým klinickej biochémie, hematológie, mikrobiológie a neskôr aj ďalších) a regulačné orgány (MZ SR, ŠÚKL, ZP, ÚDZS). Každá zainteresovaná strana má svoje predstavy, očakávania a záujmy, ktoré je potrebné vopred identifikovať a odbúraním bariér dosiahnuť ich vyváženosť v oblasti potrieb a dostupných zdrojov. Primerané zapojenie účastníkov procesu má viesť nevyhnutne k zladeniu ich čiastkových cieľov. Spolupráca medzi odbornými spoločnosťami a združeniami, regulač-

nými orgánmi, dodávateľmi POCT zariadení a samotnými užívateľmi POCT bude hrať kľúčovú úlohu pri dosahovaní pozitívnych zmien v udržateľnosti. Vzhľadom na dosiaľ neexistujúce systémové opatrenia a absentujúcu inštitucionálnu integráciu, ale veľký technologický pokrok a pokročilé trhové záujmy, je nevyhnutná svižnosť, spätná väzba a zodpovednosť zainteresovaných strán. Globálnym cieľom implementácie musí byť spoľahlivé, kvalitné a bezpečné fungovanie testovania pri pacientovi. Prvoradým cieľom je vždy zabezpečiť kvalitu POCT testov, ktorá je v najlepšom záujme pacientov.

Päť kľúčových pilierov, na ktorých stojí úspešná implementácia POCT:

- a) Politika
- b) Legislatíva
- c) Regulácia
- d) Usmernenia
- e) Implementácia na mieste



Obrázok 2. Implementačná architektúra POCT

a) **Politika POCT** je cieľavedomá činnosť vlády a ostatných zainteresovaných strán v oblasti zlepšenia zdravotnej starostlivosti. Hlavným subjektom je štát, ktorý určuje chápanie, obsah, ciele a zásady osvedčených postupov. Podporuje bezpečnosť, spoľahlivosť a vhodnosť zariadení a postupov a dodržiavanie jednotných štandardov na všetkých miestach poskytovania zdravotnej starostlivosti. Na politike POCT sa podieľajú aj ďalšie subjekty, ktoré pôsobia v sektore zdravotníctva (zdravotné poisťovne, profesijné komory, odborné spoločnosti, združenia, asociácie, spolky zdravotníckych pracovníkov, ŠÚKL, a ďalšie). Cieľom politiky POCT je zabezpečiť, aby sa všetky procesy uskutočňovali spôsobom, ktorý je harmonizovaný a konzistentný, a aby všetky procesy a riadenie boli založené na usmernení a regulácii. POCT predstavuje aktivitu s pri-

danou hodnotou a žiadnemu pacientovi nesmie vzniknúť žiadna škoda v dôsledku zlého riadenia alebo nevhodného použitia zariadenia POCT. Politika načrtáva požiadavky na personál, vrátane hodnotenia vzdelania a kompetencií, aby sa zabezpečilo, že všetci tí, ktorí sa podieľajú na testovaní v mieste starostlivosti, budú schopní to urobiť bezpečne a kompetentne.

b) Základné vzťahy testovania na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti a súvisiacich službách majú byť dané normatívnym **právnym aktom** (podzákonnou právnou normou na základe splnomocnenia v zákone). Nariadenie alebo vyhláška môžu pružne reagovať na rýchly technický pokrok, digitalizáciu a etické aspekty. Základným bodom je ochrana práv pacienta a jeho integrity pri výkone špecifických medicínskych úkonov. V slovenskej legislatíve sú zatiaľ známe nasledovné legislatívne akty týkajúce sa POCT:

- 428/2006 Z.z Vyhláška Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky o minimálnych požiadavkách na personálne zabezpečenie a materiálno-technické vybavenie jednotlivých druhov zdravotníckych zariadení.
- 44/2008 VÝNOS Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky o minimálnych požiadavkách na personálne zabezpečenie a materiálno-technické vybavenie jednotlivých druhov zdravotníckych zariadení (62/2008 – 4/2023 do 31.12.2026).
- 225/2017 Z. z. Vyhláška Ministerstva spravodlivosti Slovenskej republiky o minimálnych požiadavkách na personálne zabezpečenie a materiálno-technické vybavenie zdravotníckych zariadení v pôsobnosti Ministerstva spravodlivosti Slovenskej republiky.
- 66/25018 Vestník Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky: Opatrenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 16. januára 2018 č. 02055-2017-OL, ktorým sa mení a dopĺňa výnos Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 10. septembra 2008 č. 09812/2008-OL o minimálnych požiadavkách na personálne zabezpečenie a materiálno-technické vybavenie jednotlivých druhov zdravotníckych zariadení v znení neskorších predpisov.

Všetky citované právne normy majú obsahovo rovnaký/analogický text nariadenia:

- **Ambulancie všeobecného lekára pre dospelých sú povinné splniť minimálnu požiadavku uvedenú**

v prílohe č. 1 v oddiele 1 «Ambulancia» v časti I «Ambulancie» v bode I «Ambulancie všeobecnej ambulantnej zdravotnej starostlivosti» v písm. A «Všeobecná ambulancia pre dospelých» v bode 2 v písm. c) bode 7 «prístroj na stanovenie C - reaktívneho proteínu (CRP) s možnosťou stanovenia ďalších parametrov podľa použitých testov a možnosťou softvérového vybavenia na ďalšie testy, ak nie je výsledok vyšetrenia dostupný do 15 minút» do 31. decembra 2010.

- **Ambulancie všeobecného lekára pre deti a dorast** sú povinné splniť minimálnu požiadavku uvedenú v prílohe č. 1 oddiele 1 «Ambulancia» časti I «Ambulancie» bode I «Ambulancie všeobecnej ambulantnej zdravotnej starostlivosti» písm. B «Všeobecná ambulancia pre deti a dorast» v bode 2 písm. c) bode 9 «prístroj na stanovenie C - reaktívneho proteínu (CRP) s možnosťou stanovenia ďalších parametrov podľa použitých testov a možnosťou softvérového vybavenia na ďalšie testy, ak nie je výsledok vyšetrenia dostupný do 15 minút» do 31. decembra 2010.
- **V ambulantnej časti pracoviska urgentného príjmu 2. typu pre deti a dorast** zodpovedá minimálne priestorové vybavenie a materiálno-technické vybavenie vybaveniu ambulancií v odboroch pediatria a pediatriká chirurgia uvedených v prílohe č. 1. Spoločné vybavenie pre pracovisko urgentného príjmu 2. typu pre deti a dorast tvoria
 - biochemický a hematologický analyzátor,
 - možnosť stanovenia CRP metódou z kapilárnej krvi.

Uvedené právne normy nariaďujú ambulantným lekárom pre dospelých, dorast a deti, ako aj ambulanciám urgentného príjmu pre deti a dorast, povinne zakúpiť POCT biochemický a hematologický analyzátor ako súčasť minimálneho technického vybavenia ambulancie. Žiadna regulačná norma však nešpecifikuje podmienky výberu a prevádzky POCT analyzátoru, zabezpečenia a kontroly kvality, riadenia záznamov, personálne odborné a kvalifikačné predpoklady a sústavu vzdelávania nelaboratórnych pracovníkov vykonávajúcich testovanie na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti.

c) Povolanie zdravotníka je **regulovaná odborná činnosť**, ktorá vyžaduje splnenie kvalifikačných predpokladov ustanovených osobitnými predpismi v oblasti materi-

álneho, technického a personálneho vybavenia. Regulované povolanie v zdravotníctve je upravené v nariadení vlády č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností v znení neskorších predpisov. Zavedený systém Point-of-Care testovania má zabezpečiť, aby sa testovanie v mieste starostlivosti (POCT) vykonávalo bezpečným spôsobom a v súlade s ostatnými politikami. Vybavenie POCT musí byť bezpečné a dostupné na poskytovanie služieb v prospech pacientov. Regulácia Point-of-Care testovania v SR v porovnaní s inými krajinami EÚ výrazne zaostáva a potreba jej urýchlenej realizácie je nevyhnutná. Absentuje opatrenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky, ktorým sa ustanovuje rozsah regulácie cien v oblasti Point-of-Care testovania. Náklady na testovanie na mieste sa líšia od nákladovosti v centrálnom laboratóriu. Laboratórne testovanie v centrálnom laboratóriu prebieha v hromadnom (sériovom) režime, zatiaľ čo testovanie na mieste je rýdzo individuálne, vyžaduje viac individuálnych úkonov a väčšiu manuálnu zručnosť. Keďže ho vykonáva nelaboratórny personál, ktorý nemá laboratórne vzdelanie, nevyhnutne si vyžaduje pravidelné školenie, tréning a nadobudnutie praktických zručností v laboratóriu. Správne vykonávanie testovania na mieste musí byť pravidelne overované nielen internou kontrolou kvality, ale predovšetkým nezávislou inštitúciou externého hodnotenia kvality, aby sa predišlo produkcii falošných výsledkov v dôsledku nesprávne vykonaných POC testov. Regulačné opatrenie by malo taxatívne vymenovať minimálne nevyhnutné podmienky, ktoré musia byť splnené, aby sa POC testovanie mohlo legálne vykonávať. Ako príklad môže slúžiť Věstník MZ ČR, časťka 1 (2009) a Věstník MZ ČR, časťka 11, (2023) Standard při poskytování a vykazování výkonů screeningu nádorů kolorekta v České republice (2009) Oznámení Ministerstva zdravotnictví (2023): Doplněk Věstníku v čl. 3 Podmínky pro vstup zdravotnického zařízení do programu screeningu kolorektálního karcinomu, odst. 2) Požadavky na přístrojové vybavení, písmeno b) Ambulantní pracoviště registrujícího lékaře v oboru všeobecné praktické lékařství a registrujícího lékaře v oboru gynekologie a porodnictví, bod ii) Test na okultní krvácení do stolice

(TOKS) se upravuje provádění testů na okultní krvácení do stolice (TOKS) imunochemickými testy následovně:

- Testy provádí pracoviště registrujícího lékaře v oboru všeobecné praktické lékařství a registrujícího lékaře v oboru gynekologie a porodnictví a pracoviště oboru klinická biochemie.
- Přístroj umožňující kvantitativní stanovení hemoglobinu ve stolici v režimu POCT nebo přístroj laboratorní jsou zapojeny do systému externího hodnocení kvality (EHK).
- Externí hodnocení kvality probíhá minimálně 1x ročně s maximální odchylkou $\pm 25\%$.
- V případě nevyhovujícího výsledku EHK se EHK opakuje nejdéle do 9 měsíců a pokud se nevyhovující výsledek EHK opakuje, není poskytovatel oprávněn provádět analýzu screeningových TOKS ve své ordinaci a je povinen vzorky odesílat do laboratoře. Do systému screeningu se může vrátit po následujícím vyhovujícím výsledku EHK, který bude proveden nejdéle do 9 měsíců od posledního nevyhovujícího výsledku EHK.
- Výsledky EHK poskytovatel zdravotních služeb předává zdravotním pojišťovnám.
- Poskytovatel EHK předává souhrnné výsledky každoročně ÚZIS ČR.
- Hranice positivity (cut-off) je určena Komisi pro program screeningu kolorektálního karcinomu a je zveřejněna na webových stránkách MZ ČR.
- Hranice positivity (cut-off) mohou být specifické pro jednotlivé analyzátoři.
- V současné době je hodnota cut-off stanovena u všech analyzátorů na 15 ug Hb/g stolice.

Rovnaký charakter má aj *Pokyn náměstka ředitele VZP ČR pro zdravotní péči č. 48/2014 pro Nasmlouvání výkonů v režimu POCT s platností od 1. 3. 2014 pro CRP, INR a HbA1c.*

d) Usmernenia POCT sú odporúčané (metodické) postupy v zmysle politiky štátu pre testovanie na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti. Ide o vládne usmernenia, ktoré ukazujú alebo hovoria, ako sa má pri implementácii POCT postupovať na rôznych miestach. Usmernenia testovania na mieste starostlivosti stanovujú hlavné princípy a zásady na zabezpečenie správnej starostlivosti a liečby pacientov.

1.1. VÝBER A OBSTARÁVANIE POCT ZARIADENÍ

Funkcie a špecifikácie, ktoré je potrebné zväžiť, zahŕňajú: konkrétnu skupinu obyvateľstva/ pacientov, pre ktorú má byť zariadenie určené; analytické princípy každého testu; hmotnosť a celkové rozmery prístroja; požiadavky na energiu; požiadavky na chladenie potrebných testovacích činidiel alebo spotrebného materiálu; typ vzorky, napr. plná krv, plazma, iná tekutina; požadovaný objem vzorky; či ide o kvalitatívny (áno alebo nie) alebo kvantitatívny test (uvádza sa číslo alebo koncentrácia); ako je prístroj/metóda kalibrovaná a či je zabezpečená nadväznosť kalibrácie; merací rozsah pre metódu; odporúčaný rozsah prevádzkových teplôt; čas potrebný na získanie výsledku od zapnutia prístroja po získanie výsledku; skutočný čas analýzy od vloženia vzorky do prístroja po výstup výsledku; internú kontrolu kvality, ktorú je potrebné vykonávať a ako často; pracovný režim pre externé hodnotenie kvality (niektoré prístroje EHK neumožňujú); presnosť, citlivosť a špecifickosť testu; akékoľvek látky, ktoré môžu interferovať alebo falošne zvyšovať alebo znižovať výsledok; konektivitu prístroja - či a ako môže byť prístroj pripojený k počítaču alebo inému IT systému; spôsob likvidácie infekčného materiálu a odpadu, ktorý sa tvorí počas procesu testovania; požiadavky na údržbu; akékoľvek obmedzenia uvedené výrobcom; regulačný stav vrátane označenia CE značkou. Ďalšie podrobné informácie o zariadeniach, ktoré pomôžu interpretovať tieto špecifikácie, sa dajú získať z viacerých zdrojov (Ortiz, 2023; Khan, 2019, 2021; Jafri, 2023) alebo napr. z Austrálskej siete POCT praktických lekárov (APPN, 2021-2024), ktorá odporúča používanie určitých zariadení alebo Inštitútu pre klinické a laboratórne štandardy CLSI POCT09 A:2010; CLSI POCT09AWS-2024.

1.1. ZABEZPEČENIE A KONTROLA KVALITY

Neoddeliteľnou súčasťou testovania na mieste starostlivosti musí byť zavedený systém kvality s rovnakými štandardami ako testovanie v klinických laboratóriách. Pri diskusii o akomkoľvek laboratórnom testovaní, kde je dôležitou zložkou očakávaného výsledku kvalita, sa vyžadujú normy, ktoré vyjadrujú požadovanú alebo minimálnu úroveň analytickej kvality. Laboratórna komunita používa rôzne modely na nastavenie výkonnostných špecifikácií. Prijaté štandardy sú obvykle založené na troch modeloch, ktorých hierarchiu prijala 1.strategická konferencia EFLM v r. 2014 v Miláne (Sandberg, 2015). Tieto modely využí-

vajú rôzne princípy a hierarchia platí len vtedy, ak sú pre každý model k dispozícii vysoko kvalitné štúdie. Keď štúdie nie sú dostatočne kvalitné, potom sa musí prejsť na model, kde sú k dispozícii lepšie dáta. Niektoré merané veličiny môžu mať rôzne výkonnostné ciele v závislosti od rôznych klinických aplikácií testu. Typickým príkladom sú kritériá pre glukózu v krvi na jednotkách intenzívnej starostlivosti, v self-monitoringu (samotestovaní) alebo pri diagnostike glukózovej tolerancie u ambulantných pacientov.

Model 1. Založený na vplyve analytickej výkonnosti na klinické rozhodovanie

Tento model je v praxi použiteľný obmedzene iba pre niekoľko testov, pretože je ťažké dokázať priamy účinok laboratórnych skúšok na lekárske rozhodovanie. Štandardne sa postupuje jedným z troch spôsobov na základe

- a) Štúdií dosiahnutých výsledkov: ako analytická výkonnosť ovplyvňuje klinické rozhodovanie.
- b) Simulačných štúdií vplyvu analytickej výkonnosti na pravdepodobnosť klinického rozhodovania.
- c) Názorov klinikov alebo expertov.

Model 2. Založený na komponentoch biologickej variácie meranej veličiny

Tento model je založený na biologickej variácii meranej veličiny a snaží sa minimalizovať pomer analytického a biologického „šumu“. Využíva pritom poznatky o intra-individuálnej a interindividuálnej biologickej variácii látok u ľudí (Fraser, 2001; Balla et al., 2003).

Model 3. Na základe stavu vedy a techniky

Je založený na stave úrovne vedy a techniky (*state of the art*). Tento model je jediný, pre ktorý sú najľahšie dostupné údaje. Je prepojený s úrovňou analytickej kvality dosiahnuteľnou s aktuálne dostupnými technológiami. Ak najlepšie laboratórne testy môžu dosiahnuť len „určitú“ analytickú kvalitu a nie úroveň požadovanú modelmi 1 a 2, potom výrobcovia musia usilovať vyvinúť lepšie zariadenia a lepšie diagnostické testy. Na druhej strane, v prípade, že väčšina laboratórnych testov môže dosiahnuť analytickú kvalitu požadovanú modelmi 1 a 2, potom laboratóriá, ktoré to nedokážu, musia zmeniť svoju prax. Žiaľ u tohto modelu neexistuje žiadna súvislosť alebo len nepatrná, medzi tým, čo je technicky dosiahnuteľné a tým, čo je potrebné na získanie lepšieho výsledku pre pacienta (Model 1) alebo na minimalizovanie pomeru analytického

šumu na biologický signál (Model 2). Z tohto dôvodu je Model 3 najmenej preferovaným modelom.

Pre kvantitatívne testovanie POC sú vo všeobecnosti vhodné analytické špecifikácie kvality definované cieľmi založenými na biologickej variácii alebo na medzinárodne uznávaných klinických rozhodovacích hodnotách. Za okolností, keď sa kvalita nepovažuje za primárny cieľ, sa minimum zvyčajne stáva synonymom skutočného. Termín minimálny štandard sa často používa na opis najmenej prípustnej podmienky alebo postupu potrebného na preukázanie základnej úrovne výkonu. Nesprávne alebo zavádzajúce výsledky testov, ktoré iniciujú nevhodnú liečbu, môžu spôsobiť viac škody ako žiadne výsledky. Požadovaným prístupom by mali byť normy, ktoré podporujú testovanie kvality, nie minimálne štandardy, ktoré poskytujú príležitosť na zlyhanie kvality. Podrobnosti o zabezpečení a formách kontroly kvality sú uvedené v 5. kapitole.

1.1. DOKUMENTÁCIA, RIADENIE ZÁZNAMOV A VÝSLEDKOV

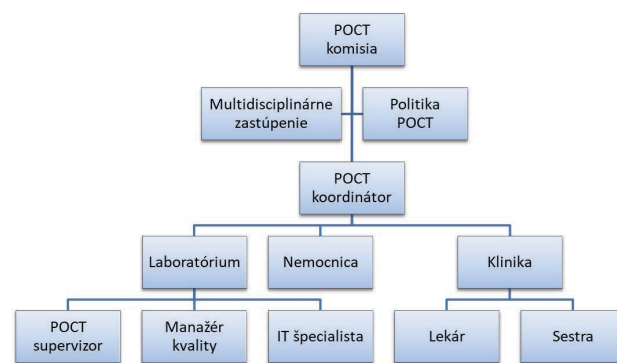
Dokumentácia je systematické zhromažďovanie súborov na preukazovanie všetkých činností na mieste testovania. Zahŕňa nielen proces implementácie, ale predovšetkým komplexné postupy vo všetkých oblastiach testovania. Formát, obsah a typ požadovanej dokumentácie môže odzrkadľovať miestne pomery. Elektronické vedenie záznamov môže nahradiť manuálne vedenie záznamov, ak je zahrnuté v príručke postupu. Kategórie dokumentov sa hierarchicky odvíjajú od politiky POCT (čo sa deje a prečo). Na ňu nadväzujú dokumenty o procesoch (ako sa to deje) a postupoch (ako to robiť). Záznamy slúžia na zdokumentovanie všetkého, čo bolo urobené. Na poskytovanie konzistentných výsledkov je nevyhnutné dodržiavať predpísané postupy laboratórnych testov. Personál musí mať k dispozícii príručku, v ktorej je presne popísaný postup testu krok za krokom a doplnený obrázkovou časťou. Musia existovať protokoly na zaznamenávanie údajov o prístroji, získavanie výsledkov a dokumentovanie analýzy POCT. Pracovisko POCT má viesť denník záznamov o vzniku a odstraňovaní porúch a o nápravných opatreniach pre všetky prístroje. Mal by obsahovať aj záznamy o preventívnej údržbe a servisných prehliadkach. Denník sa má viesť počas celej životnosti prístroja. Veľmi dôležitú časť dokumentácie predstavujú záznamy z internej kontroly kvality a externého hodnotenia kvality. Musí byť definovaný spôsob, akým sa výsledky

začleňujú do zdravotnej dokumentácie pacienta, z ktorého musí byť jasné, ktoré výsledky pochádzajú z laboratória, a ktoré z POC testovania, a kto ich vykonal. Dokumentácia musí obsahovať postup, ako postupovať v prípade nezvyčajných alebo kritických hodnôt výsledkov (napr. poslať vzorku do laboratória). Denník by mal obsahovať aj záznamy o použitých činidlách, číslach šarží a dátumoch expirácie a zmenách testov. Pokiaľ sú objednané alebo dodané nové typy testov celý personál na pracovisku musí byť informovaný o zmenách metód. Veľmi dôležitou súčasťou dokumentácie sú záznamy a osvedčenia o vzdelávaní a preškolení operátorov POCT a vykonanej praxe v laboratóriu.

3. POCT V ÚSTAVNEJ ZDRAVOTNEJ STAROSTLIVOSTI

Zdravotnícka starostlivosť v nemocniciach sa opiera o centralizované laboratórne služby, tzv. core laboratória. Laboratórne testy v nich vykonávajú kvalifikovaní laboratórni profesionáli alebo špecialisti v laboratórnej medicíne), ktorí spĺňajú predpísané odborné vzdelanie, majú absolvované príslušné školenia a v klinickom laboratóriu nadobudli potrebné laboratórne zručnosti. V súčasnosti väčšina klinických (medicínskych) laboratórií v SR nie je integrálnou súčasťou organizačnej štruktúry nemocnice. Vzorky sa na vyšetrenie zväzajú do externých privátnych laboratórií často na veľké vzdialenosti a stúpa riziko ich znehodnotenia počas transportu. To si vyžaduje dodatočné opatrenia na zaistenie ich kvality. Ekonomická efektívnosť automatizovaných laboratórií je vysoká, ale je podmienená časovou dostupnosťou výsledkov. Všade tam, kde sú včasné výsledky nevyhnutné a môžu byť život zachraňujúce (jednotky intenzívnej starostlivosti, ARO, novorodenecké oddelenie, pôrodné sály, urgentný príjem, operačné izby na chirurgických oddeleniach a akútne izby na interných oddeleniach), sa decentralizované POC testovanie stáva dôležitým doplnkom laboratórneho testovania. V niektorých fakultných nemocniciach v SR býva POC testovanie integrované a centrálné riadené laboratórnymi profesionálmi. Obsahuje správu dát (pripojenie a prenos výsledkov do laboratórneho a nemocničného informačného systému), organizáciu a zabezpečenie preventívnej údržby, zabezpečenie a kontrolu kvality, edukáciu a školenie POCT operátorov (Strigáčová, 2014, 2024). Na druhej strane, v niektorých nemocniciach sú POCT roztrúsené na viacerých miestach a využívajú sa individuálne, bez

adekvátneho vedenia a odborného dohľadu klinického laboratória. Riadenie POCT nie je organizované, úplne absentuje kontrola kvality, existuje len slabá alebo žiadna elektronická integrácia dát do nemocničného systému a neexistuje politika štandardizovaného nákupu (výberu) POCT prístrojov. Správne fungovanie a optimálne využitie POCT v nemocnici si vyžaduje jasne definovanú organizačnú štruktúru, ktorá zahŕňa určené právomoci, povinnosti a zodpovednosť vo všetkých oblastiach. Jedným z najdôležitejších aspektov je zabezpečiť efektívnosť zdravotníckeho a nemocničného personálu na všetkých úrovniach starostlivosti o pacienta (Kachler, 2020). Jednoduchý príklad organizácie systému POC testovania v ústavnej zdravotnej starostlivosti je uvedený na obr. 3 (podľa CLSI POC-T09AWS-2024; Warade, 2015).



Obrázok 3. Príklad organizácie systému a riadenia POCT v ústavnej zdravotnej starostlivosti

Aktivity POCT by mali prebiehať v spolupráci s uznaným/akreditovaným klinickým laboratóriom. Klinické laboratória sú zodpovedné za zabezpečenie toho, že vybavenie a postupy sú prispôsobené pre POCT a sú prístupné tým, ktorí vykonávajú testovanie na mieste. Klinické laboratória sú zodpovedné za kontinuálne vzdelávanie a sledovanie POCT, aby sa zabezpečilo, že tí, ktorí vykonávajú testovanie na mieste, sú kompetentní vykonávať príslušné analýzy. Klinické laboratória sú zodpovedné za hodnotenie systému kvality vo vzťahu k POCT.

Jednoduchý návod ako postupovať pri implementácii POCT.

1. Zriadiť riadiacu skupinu POCT a pripraviť POCT politiku organizácie.
2. Poradiť sa s miestnym laboratóriom.
3. Zriadiť operačný tím POCT.
4. Vykonať výberové konanie POCT prístrojov, ktoré spĺňajú požadované analytické a klinické charakteristi-

ky, majú označenie CE značkou a boli primerane validované a nezávisle overené.

5. Zabezpečiť, aby všetky POCT zariadenia spĺňali národné a európske legislatívne požiadavky na IVD.

6. Vypracovať štandardné operačné postupy a protokoly pre všetky POCT zariadenia.

7. Zabezpečiť, aby každý, kto vykonáva POCT, bol vyškolený, a aby bola preukázaná jeho nepretržitá spôsobilosť operátora.

8. Implementovať program zabezpečenia kvality vrátane internej kontroly kvality a externého hodnotenia kvality pre všetky prístroje a miesta testovania.

9. Zabezpečiť, aby výsledky pacientov kontrolovali, validovali a interpretovali príslušne kvalifikované osoby.

10. Zabezpečiť plnú sledovateľnosť všetkých použitých POCT, vrátane činidiel a spotrebného materiálu.

11. Zabezpečiť školenie zamestnancov v oblasti zdravia, bezpečnosti a odpadového hospodárstva.

12. Zabezpečiť plnú konektivitu prístrojov na elektronický prenos výsledkov do laboratórneho a nemocničného informačného systému a do zdravotného záznamu pacienta.

POCT komisia je multidisciplinárny tímový orgán nemocnice, ktorý je zodpovedný za tvorbu politiky POCT, navrhovanie, zriadenie a prevádzku POCT pracovísk, a ktorá koordinuje, riadi a zodpovedá za implementáciu POCT v nemocnici. POCT politika v nemocnici vychádza z príslušnej legislatívy, národných odborných usmernení a regulačných smerníc. Členmi POCT komisie sú zástupcovia úseku zdravotnej starostlivosti, ošetrovateľstva a technicko-ekonomického úseku, špecialisti v laboratórnej medicíne, zástupcovia kliník alebo oddelení a ambulantnej zložky a IT špecialista. Komisii predsedá špecialista v laboratórnej medicíne, ktorý môže plniť aj funkciu POCT koordinátora.

POCT koordinátor slúži ako sprostredkovateľ medzi laboratóriom a POCT pracoviskami pri vývoji a implementácii programu POCT. Zodpovedá za implementačnú podporu a zabezpečenie vhodného rámca klinického riadenia. Komunikuje s manažérmi spolupracujúceho laboratória, poskytuje poradenstvo manažérom a zamestnancom nemocnice v oblasti vhodných aplikácií a zariadení pre POCT a identifikuje potenciálne oblasti rozšírenia. Je zodpovedný za prepojenie a koordináciu spolupráce medzi rôznymi skupinami zamestnancov a oddeleniami s cieľom poskytovať bezpečné, efektívne, pohotové a kvalitné POCT služby v nemocnici. Zhromažďuje aktuálne infor-

mácie o relevantných pokrokoch a zmenách v technológii POCT, zdravotníckych postupoch a regulačných normách a aplikuje tieto poznatky na zásady a postupy POCT v nemocnici. Sleduje vývoj POCT a v prípade potreby vydáva odporúčania na výber prístrojov a testov POCT. Je zodpovedný za zabezpečenie toho, aby boli všetky procesy POCT vykonávané v súlade s platnými regulačnými, akreditačnými, národnými, miestnymi a organizačnými požiadavkami. Je zodpovedný za všetky aspekty, celkový chod a správu POC testovania. Stará sa o rýchle, presné a úplné zaznamenávanie a hlásenie výsledkov testov. Dozerá na správnu interpretáciu výsledkov. Dôležitou súčasťou komplexného riadenia testovania pri pacientovi je kontrola spôsobilosti operátorov a agenda školení POCT. Dohliada na zamestnancov, ktorí vykonávajú alebo podporujú činnosti POCT, vrátane priameho dohľadu nad školením a hodnotením spôsobilosti personálu. Spolupracuje pri riešení analytických problémov, opráv a servisných činností prístrojového vybavenia, a ak je to vhodné, komunikuje s výrobcami a dodávateľmi zariadení (GOV; UK (2021)). V nemocniciach, ktoré nemajú vlastné laboratórium, POCT koordinátor zastupuje alebo nahrádza funkcionality vedúceho laboratória.

Supervízor musí byť plne kvalifikovaný laboratórny odborník v laboratórnom testovaní, ktorý radí a pomáha vedúcemu laboratória, vedúcim POCT pracovísk a personálu testovania pri výbere testovacích metodológií a metodík vhodných pre klinické použitie. Jeho úlohu a postavenie charakterizuje aktívny dokument uznávaného Inštitútu pre laboratórne štandardy CLSI POCT04-ED3:2016 „*Supervízor je zodpovedný za technický a vedecký dohľad nad programom POCT a je zodpovedný za všetky školenia a hodnotenia spôsobilosti testovacieho personálu. Supervízor musí byť prístupný pre testovací personál vždy, keď sa testovanie vykonáva. Supervízor poskytuje na mieste, telefonické alebo elektronické konzultácie na riešenie technických problémov v súlade so zásadami, procesmi a postupmi stanovenými riaditeľom POCT. Táto konzultácia by mohla zahŕňať interakciu s výrobcom a dennú kontrolu kontroly kvality. Supervízor je zodpovedný za zabezpečenie dodržiavania všetkých organizačných požiadaviek súvisiacich s akreditáciou a tiež za zabezpečenie toho, aby sa pri testovaní dodržiavali písomné a schválené zásady, procesy, postupy a výkonnostné štandardy*“ (CLSI, 2016). Manažérska práca supervízora POCT v nemocnici spočíva predovšetkým v zodpovednosti za

každodenný chod POCT. Supervízor ručí za technický a vedecký dohľad nad programom POCT. Zodpovedá za každodenný dozor nad testovacím personálom, výsledkami kontroly kvality a oznamovaním výsledkov POCT. Podieľa sa na rozvoji a koordinácii školení testovacieho personálu a zúčastňuje sa vyhodnotenia spôsobilosti všetkých testovacích pracovníkov a zabezpečenie toho, aby testovací personál mal spôsobilosť v oblasti odberu vzoriek, správy vzoriek, vykonávania testovacích postupov, podávania správ a zaznamenávania výsledkov. Supervízor musí byť pre testovací personál vždy dostupný, keď sa vykonáva testovanie. Supervízor poskytuje na mieste (telefonické alebo elektronické) konzultácie a rieši technické problémy v súlade so zásadami, procesmi a postupmi stanovenými vedúcim laboratória. Je spoluzodpovedný za dodržiavanie zásad, procesov a postupov programu POCT. Supervízor dozerá na dodržiavanie všetkých organizačných požiadaviek súvisiacich s akreditáciou a tiež za zabezpečenie toho, aby sa pri testovaní dodržiavali písomné a schválené zásady, procesy, postupy a výkonnostné štandardy.

Supervízor zodpovedá za overenie (verifikáciu) meracích a skúšobných postupov a stanovenie výkonnostných charakteristík POC metód, vrátane požiadaviek na presnosť, pravdivosť a neistotu merania. Supervízor POCT má na starosti overenie referenčných intervalov a ich harmonizáciu so zavedeným centrálnym laboratórnym testovaním. Supervízor vykonáva porovnávacie skúšky POCT s centrálnym laboratórnym prístrojovým vybavením, čo je dôležité najmä tam, kde sa výsledky testov získavajú aj z klinického laboratória. Supervízor stanovuje minimálnu úroveň kvality a zodpovedá za jej zabezpečenie. Zodpovedá za to, že písomná príručka postupov pre každý test a testovací systém je aktuálna a dostupná pre testovací personál. Zúčastňuje sa na rozvoji a koordinácii školení a periodického hodnotenia spôsobilosti (certifikácii) testovacieho personálu a vyhodnotení spôsobilosti POCT operátorov tak, aby si testovací personál splnil požiadavky na spôsobilosť v oblasti odberu vzoriek, správy vzoriek, vykonávania testovacích postupov a hlásenia výsledkov, vrátane kritických hodnôt. Supervízor musí rozpoznať a riešiť technické problémy a prijímať vhodné následné opatrenia, keď sa testovacie systémy odchyľujú od stanovených špecifikácií. Na základe preskúmania manažmentom vykonáva príslušné zmeny v procesoch alebo postupoch POCT. V úlohe POCT koordinátora alebo supervízora sa môžu vyskytovať lokálne rozdiely a v závislosti od miestnych podmienok môže obidve funkcie vykonávať jedna osoba.

Manažér kvality kontroluje výkon špecifických činností, vrátane kalibrácií, kontroly a bežnej údržby a riadi dennú kontrolu kvality tak, aby stanovený program kontroly kvality primerane plnil hornú a dolnú úroveň analytického výkonu. Má na starosti výkon denných kontrolných skúšok, prihlásenie, kontrolu, riadenie účasti a vyhodnotenie skúšok v programe externého hodnotenia kvality (EHK). Pomáha rozpoznávať a riešiť technické problémy a navrhuje nápravné opatrenia, keď sú hlásené nevhodné výsledky pacientov. Spolupracuje so supervízorom POCT a podieľa sa na verifikácii analytických a klinických charakteristík POCT analyzátorov.

Keďže najväčšou výhodou POCT výsledku je rýchly čas obratu, je pre optimálne fungovanie POCT služieb rozhodujúca konektivita zariadení. Redukuje analytické chyby, umožňuje prenos výsledkov do elektronických zdravotných záznamov pacientov a vedie k rýchlejšiemu rozhodovaniu lekárov. Pretože testovacie miesta POCT sú obvykle roztrúsené po celom areáli nemocnice, je dôležité, aby nemocničný informačný systém bol robustný a zahŕňal aj systém správy údajov POCT a umožnil tak z centrálného miesta efektívne monitorovať jednotlivé činnosti, overovať kalibrácie prístrojov a sledovať kontrolu kvality. **IT odborník** zodpovedá za bezpečnostné opatrenia sieťových pripojení POCT analyzátorov a šifrovanie prenosu údajov technicky bezpečnými komunikačnými protokolmi. Bez ohľadu na kombináciu testovacích miest, zariadení alebo operátorov, je dôležité mať silné softvérové riešenie, ktoré umožňuje centralizovanú správu dát a dokumentov a zabezpečuje kvalitný a včasný prístup k výsledkom a ich zápisu do zdravotnej dokumentácie (Erasmus, 2021).

4. VZDELÁVANIE A KOMPETENCIE TESTOVACIEHO PERSONÁLU

Testovanie pri pacientovi vykonáva vo všeobecnosti interdisciplinárny zdravotnícky personál s veľmi rôznorodou kvalifikáciou a bez znalostí, skúseností a zručností v laboratórnej diagnostike. POC testovanie by mali vykonávať iba kvalifikovaní zdravotnícki pracovníci, ktorí absolvovali príslušné školenie a skúšku spôsobilosti a pravidelne sa zúčastňujú rekvalifikačných kurzov. Vzdelávacie kurikulum má zahŕňať teoretické a praktické aspekty POCT testovania (Venner, 2021). Výučba má minimálne obsahovať vysvetlenie klinického pozadia testu a jeho význam, odporúčanú frekvenciu testu, referenčné intervaly, kritické hodnoty, jednotky merania

a výkonnostné charakteristiky. Personál na mieste testovania musí zvládnuť požiadavky na prípravu pacienta a odber vzoriek a vedieť správne vykonať test a jeho kalibráciu, interpretovať a hlásiť výsledky. Musí ovládať prípravu a skladovanie činidiel a vykonávať pravidelnú údržbu prístroja. Musí dbať na zabezpečenie kvality a v určených termínoch vykonávať pravidelnú internú kontrolu kvality a participovať v cykloch externého hodnotenia kvality. Užívateľ POCT musí mať pracovnú príručku buď v elektronickej alebo tlačenej podobe a pracovné postupy ako vykonávať internú kontrolu kvality a externé hodnotenie kvality. Musí dodržiavať predpisy bezpečnosti a ochrany zdravia a likvidácie použitých materiálov. Spoľahlivé testovanie pri pacientovi si vyžaduje laboratórne zručnosti, ktoré môžu POCT operátori získať pod vedením laboratórnych profesionálov praktickým výcvikom v spolupracujúcich laboratóriách. Akonáhle prebehne školenie alebo praktický výcvik, operátori POCT by sa mali podrobiť hodnoteniu spôsobilosti. Spôsobilosť sa musí posúdiť po úvodnom školení na základe miestnych požiadaviek. Spôsobov hodnotenia je niekoľko: skúšobné testovanie alebo priame pozorovanie, písomný test, pohovor, a pod. (Nichols, 2022). O kvalifikácii a vzdelávaní, absolvovaných školeniach, praktickom výcviku a auditoch operátorov sa vedú záznamy.

4.1. TESTOVACÍ PERSONÁL

Úspešnosť testovania pri pacientovi spočíva v rukách pracovníkov, ktorí sú zodpovední za výkon skúšok a predstavujú najdôležitejšiu a rozhodujúcu zložku testovania na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti. Obvykle sú to členovia personálu primárnej starostlivosti (najčastejšie sestry) bez praktických laboratórnych skúseností a teoretických vedomostí nevyhnutných na zabezpečenie spoľahlivosti POCT. Na obsluhu technických zariadení a výkon skúšok sú určení operátori POCT. Tieto osoby môžu alebo aj nemusia byť laboratórnymi pracovníkmi organizácie. V oboch prípadoch je nevyhnutné, aby boli primerane vyškolení na vykonávanie skúšok a kontroly kvality testovania. Na testovacích miestach mimo nemocnice je **dôležitý dozor spolupracujúceho laboratória**. Na preukázanie kompetentnosti by mali POCT operátori absolvovať dostatočný počet testov a ich spôsobilosť pracovať samostatne (aj v pohotovostných službách) sa musí hodnotiť v pravidelných intervaloch. Nie je akceptovateľné, aby testovanie pri pacientovi vykonával nedostatočne vyškolený

personál, bez skúseností a laboratórnej praxe, ako sa to stáva v súčasnosti. Niektoré krajiny majú predpisy, ktoré definujú POCT a laboratórne testovacie zariadenia podľa komplexnosti a majú rôzne požiadavky na kvalifikáciu testovacieho personálu v závislosti od zložitosti testov. Organizácia vykonávajúca POCT by mala vopred konzultovať príslušné regulačné a akreditačné požiadavky, aby určila správne personálne obsadenie. Preto už pri výbere zariadenia POCT musí zvážiť význam dôležitých charakteristík výkonu testu, akými sú nielen odber vzoriek a manipulácia s nimi (ak sa vyžaduje odber krvi zo žily, nie z prsta), ale aj vzdelanie, špecifické požiadavky na školenie a opakované hodnotenie spôsobilosti, motivácia vykonávať testovanie, schopnosť personálu samostatne vykonať nápravné opatrenia, fluktuácia zamestnancov, regulačné požiadavky, bezpečnosť a ochrana zdravia a likvidácia odpadov. Pretože personál hrá ústrednú rolu v procese testovania na mieste, musí mu byť venovaná dostatočná pozornosť v POCT politike aj legislatíve. Tento dokument venuje uvedeným aspektom veľkú pozornosť v každej kapitole.

2. ZABEZPEČENIE KVALITY

Aj keď lekári niekedy preferujú menej presný, ale rýchly výsledok pred pomalším, ale presným laboratórnym výsledkom, vyvstáva otázka, či je rýchlosť na úkor kvality dobrým príspevkom ku spoľahlivej diagnostike. POC testovanie prispieva k zvýšeniu klinickej účinnosti a zlepšeniu zdravotnej starostlivosti o pacienta iba vtedy, ak sú výsledky testovania presné a správne. Neoddeliteľnou súčasťou testovania na mieste je preto aj systém zabezpečenia kvality (*Quality Assurance, QA*), ktorý zahŕňa rovnaké požiadavky na kvalitu skúšok aké sa vyžadujú od klinických laboratórií (Venner, 2021). Zabezpečenie kvality je základom všetkých spoľahlivých analytických meraní. Vo všeobecnosti sa zameriava na dosiahnutie primeranej úrovne v širokej škále činností, akými sú školenie a riadenie personálu, primeranosť laboratórneho prostredia, bezpečnosť, skladovanie, integrita a identita vzoriek, vedenie záznamov, údržba a kalibrácia prístrojov a používanie technicky overených a riadne zdokumentovaných metód. Skúsenosti vyspelých krajín potvrdzujú, že program zabezpečenia kvality POC testovania, ktorý monitoruje všetky aspekty laboratórnych skúšok, sa nevyhnutne opiera a kľúčové prvky súvisiace s manipuláciou, obsluhou prístroja a meraním. Každé POCT pracovisko musí mať zavedený komplexný plán zabezpečenia kvality a nápravných opatrení.

2.1. KONTROLA KVALITY

Kľúčovú rolu v zabezpečení kvality predstavuje kontrola kvality. Program kontroly kvality pre akúkoľvek oblasť laboratórnych skúšok musí monitorovať celkový proces testovania, vrátane preanalytickej, analytickej a postanalytickej fázy. Účinný systém kontroly kvality optimalizuje detekciu chýb a znižuje mieru falošného odmietnutia. Rozoznávame dve hlavné kategórie analytických chýb: **náhodné** chyby a **systematické** chyby. Význam kategorizácie chýb spočíva v tom, že majú rôzne zdroje, nápravné opatrenia a dôsledky pre interpretáciu výsledkov. Náhodné chyby spôsobujú pozitívne a negatívne odchýlky výsledkov od strednej hodnoty a určujú **nepresnosť** (*imprecision*) merania. Systematické chyby spôsobujú posun strednej hodnoty mnohých stanovení od skutočnej hodnoty, tzv. **bias** (vychýlenie) a určujú **pravdivosť** (*trueness*) merania. Kontrola kvality sa skladá z dvoch nezastupiteľných zložiek: internej kontroly kvality (*Internal quality control, IQC*) a externého hodnotenia kvality (*External quality assessment, EQA*). Namiesto testovania vzorky pacienta užívateľ POCT zariadenia robí test na kontrolnej vzorke poskytnutej výrobcom zariadenia POCT v prípade internej kontroly kvality, alebo akreditovaným poskytovateľom programov na externé hodnotenie kvality v prípade EHK.

2.1.1. V **internej kontrole kvality** sa analyzujú kontrolné materiály so známou koncentráciou analytov. V ideálnom prípade majú kontrolné materiály a kalibrátory nadväzovať na vhodné certifikované referenčné materiály alebo uznávanú referenčnú metódu. Ak to nie je možné, kontrolné materiály by mali byť výsledovateľné aspoň po dobre charakterizovaný materiál. Kontrolný proces v IQC zahŕňa analýzu kontrolného materiálu, okamžité vyhodnotenie výsledkov pomocou kontrolných diagramov, identifikáciu chýb a prijatie nápravných opatrení. Cieľom IQC je zabezpečiť každodennú konzistentnosť a reprodukovateľnosť výsledkov (Balla, 2016). Ak výsledky kontrolných meraní zlyhajú, vyšetrenie pacientov sa nemá vykonávať dovtedy, kým sa problém neodstráni. Pravidelná interná kontrola kvality testovacieho výkonu je povinnou súčasťou každého POCT zariadenia. Pri kontrolnej skúške sa so vzorkou kontroly kvality zaobchádza úplne rovnako ako so vzorkou pacienta. Na posúdenie prijateľného výkonu POCT platia rovnaké normy ako v laboratóriách (Balla, 2014). Súprava na internú kontrolu kvality obsahuje buď jednu, dve alebo tri koncentračné úrovne. Ak výrobca

poskytuje dve koncentračné hladiny, jedna sa obvykle nachádza vo vnútri referenčného intervalu, zatiaľ čo druhá je patologická. Výsledky testovania kontroly kvality sa porovnávajú s priradenými hodnotami a medzami pre prijateľný výkon (Gidske, 2022). Ak je výsledok kontrolného testu v medziach akceptácie, vzorky pacientov sa môžu analyzovať. V opačnom prípade je nutné najprv hľadať a odstrániť príčinu chyby (Balla, 2015). Základným pravidlom IQC je povinnosť vykonať kontrolný test pri každej novej dodávke diagnostických setov. Minimálne raz za mesiac sa musí testovať jedna kontrolná vzorka a vtedy sa odporúča, aby mala hodnotu v patologickom rozmedzí testovacích hodnôt. Niektoré POCT zariadenia sú vybavené programom elektronickej kontroly, ktorá slúži na overenie elektronickej meracích obvodov prístroja. Táto kontrola netestuje analytický proces a nemôže nahradiť internú kontrolu kvality.

2.1.2 **Externé hodnotenie kvality** (EHK), niekedy nesprávne označované ako externá kontrola kvality, je objektívne, nestranné a nezaujaté porovnanie výsledkov testovania rovnakých kontrolných materiálov (komutabilných alebo podobných pacientom) rôznymi účastníkmi na rôznych miestach v rovnakom čase pomocou externej agentúry. Poskytovateľ EHK má byť akreditovaný podľa medzinárodnej normy ISO/IEC 17043. Aby sa zabezpečila objektivita výsledkov, organizátor EHK je treťou stranou, ktorá sa nezúčastňuje predaja ani servisu POCT zariadení, vrátane diagnostických testov a príslušenstva. Cyklus externého hodnotenia kvality zahŕňa distribúciu kontrolných vzoriek s neznámou koncentráciou všetkým účastníkom kontrolného cyklu naraz. Všetci zúčastnení užívatelia POCT zariadení analyzujú identické vzorky a výsledky kontrolných testov pošlú organizátorovi EHK v určenom termíne na ich vyhodnotenie. So vzorkami EHK sa zaobchádza ako so vzorkami pacientov, a preto kontrolný test má vykonávať personál (operátor), ktorý POCT zariadenie používa. Hodnotiacu správu, ktorá obsahuje podrobnosti vyhodnotenia kontrolného cyklu, vrátane osvedčenia o účasti, zašle organizátor EHK každému účastníkovi. Vyhodnotenie kontrolného cyklu prebieha na základe špecifikácie výkonnostných cieľov podľa medzinárodných odporúčaní a dohodnutých odbornými spoločnosťami zastupujúcimi všetky zúčastnené strany. Odporúča sa, aby frekvencia EHK bola minimálne jedenkrát za rok a v prípade neúspešnej účasti podstúpil účastník opravnú skúšku

v určenej lehote. V prípade, že pre daný analyt nie je dostupný program EHK, môže ho nahradiť priame porovnanie s akreditovanou laboratórnou metódou.

6. POCT V AMBULANTNEJ ZDRAVOTNEJ STAROSTLIVOSTI

POC testovanie vykonávané zdravotníkymi pracovníkmi mimo nemocničného prostredia sa čoraz častejšie využíva vo všeobecnej ambulantnej starostlivosti (ambulancie všeobecných lekárov pre deti, dorast a dospelých) a špecializovanej ambulantnej starostlivosti (ambulancie internistov, kardiológov, diabetológov, gynekológov, gastroenterológov, otorinolaryngológov a ďalších špecialistov). Výsledky medzinárodného prieskumu (Howick et al., 2014) potvrdzujú, že existuje dobrá zhoda medzi podmienkami, pre ktoré sa testy POC považujú za užitočné, a ktoré by lekári primárnej starostlivosti chceli v budúcnosti využívať. Vďaka rýchlejšim výsledkom POC testov považuje 70 % všeobecných lekárov na Slovensku za najväčšie benefity POC testovania urýchlenie lekárskeho rozhodovania, rýchlu diagnózu, okamžitý začiatok liečby a pomoc pri riešení urgentných stavov (Lipták, Balla 2022). Niektorí nemeckí lekári si myslia, že POC testy majú obmedzenú klinickú hodnotu (nízku senzitivitu a špecificitu), často im nepomôžu pri ich rozhodovaní, a preto nepovažujú všetky POC testy v ambulancii praktického lekára na vidieku za užitočné (Matthes, 2023). Podľa niektorých zahraničných štúdií z vyspelých krajín okamžitá dostupnosť laboratórných výsledkov nie je vždy jednoznačnou výhodou, pretože nepresný a nesprávny výsledok zvyšuje riziko medicínskej chyby (Price, de Vries, 2012, Howick, 2014, Cals, 2018). Štyria z piatich slovenských ambulantných lekárov považuje za najväčšiu nevýhodu POCT cenu prístroja a spotrebného materiálu (Balla et al, 2024). Ekonomické aspekty (vysoké náklady na zariadenia a testovacie prúžky), nedostatočné alebo chýbajúce úhrady, ktoré nepokrývajú náklady na testovanie POC) považujú za nevýhodu aj nemeckí lekári (Lingervelder, 2019, Oehme, 2022, Matthes, 2023).

6.1. WONCA

Svetová organizácia rodinných lekárov (*World Organization of Family Doctors, WONCA*) v júni 2013 schválila novú Pracovnú skupinu pre globálne testovanie na mieste starostlivosti (*WONCA Special Interest Group on Global Point-of-Care Testing*), ktorá poskytuje fórum pre rodinných

lekárov WONCA zo všetkých krajín, kde sa môžu stretnúť, diskutovať, propagovať, obhajovať a skúmať klinickú užitočnosť a účinnosť testovania v mieste starostlivosti. Cieľom Pracovnej skupiny pre globálne testovanie na mieste starostlivosti je poskytovať rodinným lekárom zo všetkých krajín vzdelávanie, odbornú prípravu a výskumné fórum, aby sa umožnilo bezpečné a udržateľné začlenenie testovania v mieste starostlivosti do rodinného lekárstva pre klinický prospech pacientov v ich starostlivosti. Ambíciou tejto skupiny je poskytnúť primárny bod vedenia, obhajoby, príležitostí a výmeny vedomostí pre prax POCT v rodinnom lekárstve.

WONCA verí, že sa jej podarí zvýšiť povedomie o rozsahu a aplikáciách testovania v mieste starostlivosti na zisťovanie a zvládanie chronických, akútnych a infekčných chorôb v rodinnom lekárstve, najmä vo vidieckych a vzdialených praktikách a v rozvojových krajinách. WONCA má v úmysle poskytovať online vzdelávanie a vzdelávacie príležitosti pre rodinných lekárov (a ich personál), aby získali a prehĺbili svoje znalosti o praxi testovania v mieste starostlivosti, o klinickej užitočnosti testov v mieste starostlivosti a o testovaní v mieste starostlivosti, možnosti zariadení na testovanie starostlivosti (vrátane ich výhod a obmedzení) na meranie vybraných testov. WONCA zamýšľa na svojich konferenciách organizovať workshopy pre rodinných lekárov, ktorí prejavili záujem, poskytli možnosti na vytváranie sietí, ako aj možnosť prezrieť si súčasnú a novú technológiu testovania v mieste starostlivosti. WONCA si kladie za cieľ vypracovať vzdelávací materiál na mieru, ktorý bude zameraný na špecifické regionálne potreby rodinných praktikov a ich komunit a umožniť rodinným lekárom (a ich personálu) zapojiť sa do postgraduálneho vzdelávania o testovaní v mieste starostlivosti. WONCA chce poskytnúť rámec pre zainteresovaných rodinných lekárov spolupodieľať sa na pracovných programoch testovania v teréne, ktoré by koordinovala Pracovná skupina a na šírenie a publikovanie praktických skúseností a výsledkov výskumu. Napriek týmto vyhláseniam nedávna štúdia *Ako realizovať výhody testovania v mieste starostlivosti u všeobecného lekára* dospela k záveru, že „... najväčšou prekážkou efektívnej implementácie POC v primárnej sfére je nedostatočná komunikácia medzi rôznymi zainteresovanými stranami v systéme zdravotnej starostlivosti a vysoká pracovná záťaž pre lekárov, ktorí chcú implementovať POCT“ (Lingervelder et al, 2022).

7. POCT V OŠETROVATEĽSKEJ STAROSTLIVOSTI A ZÁCHRANNEJ ZDRAVOTNEJ SLUŽBE

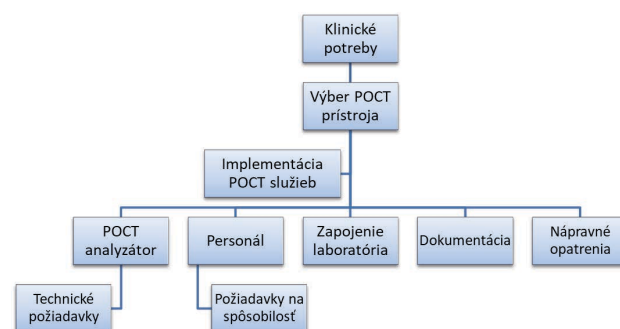
Ošetrovateľská starostlivosť sa v systéme zdravotnej starostlivosti poskytuje v štátnych a neštátnych zdravotníckych a sociálnych zariadeniach, v domácnostiach, mobilných zariadeniach, komunitných centrách a domovoch dôchodcov, v zariadeniach sociálnych služieb a v zariadeniach sociálnoprávnej ochrany detí a sociálnej kurately. Kvalita ošetrovateľskej starostlivosti závisí predovšetkým od dostupnosti, včasnosti a bezpečnosti poskytovaných služieb. Medzi ošetrovateľské výkony patria dnes aj POC testy (vyšetrenie moču, glykémie, protrombínového času).

Komisia Medzinárodnej federácie klinickej chémie a laboratórnej medicíny (IFCC) pre testovanie v mieste starostlivosti (C-POCT) podporuje testovanie mimo nemocničného prostredia (Khan, A. et al, 2023). Jeho výhody sú však spojené s rizikami, ktoré je potrebné riadiť, aby sa zabezpečili spoľahlivé výsledky testov a minimalizovali sa škody pre pacienta. Zdravotnícki pracovníci, národné regulačné orgány, akreditované laboratória, ako aj výrobcovia POCT zariadení by sa mali aktívne zapájať do vzdelávania, dohľadu a poradenstva, aby sa zabezpečilo, že si pracoviská mimo nemocničného prostredia vyberú vhodné vybavenie a budú schopné správne analyzovať vzorky a interpretovať výsledky testov.

7.1. MANAŽMENT IMPLEMENTÁCIE POCT MIMO NEMOCNICE

Vplyv POC testovania na bezpečnosť pacienta je vo všeobecnosti dobre riadený v nemocničnom prostredí prostredníctvom systému riadenia kvality zavedeného a kontrolovaného klinickým laboratóriom. Najnovšia norma ISO 15189:2022 zahŕňa riadenie testovania POC v nemocniciach a nahrádza normu ISO 22870:2016, ktorá doteraz pokrývala len POC testovanie. Tieto štandardy však boli pôvodne vyvinuté pre nemocničné zariadenia a preto sa konkrétne nevzťahujú na POCT v zariadeniach umiestnených mimo nemocnice, kde zdravotnícki pracovníci bez formálneho laboratórneho vzdelania vykonávajú testovanie pri pacientovi. V skutočnosti by sa tieto oblasti mali považovať za rozšírenie laboratórneho testovania, a ak sa má dosiahnuť požadovaná kvalita testovania, mali by podliehať dohľadu zdravotníckeho laboratória podľa rovnakých noriem kvality ako testovanie v nemocničnom prostredí.

POC testovanie má prebiehať v spolupráci s uznávaným (akreditovaným) klinickým laboratóriom. **Medzi testovacími miestami pri pacientovi a klinickým laboratóriom sa musí vybudovať vzťah spolupráce.** Jeho prvoradým cieľom má byť bezpečnosť pacientov, dodržiavanie predpisov a podporovanie kultúry kvality. Spolupracujúce klinické laboratórium je zodpovedné za zabezpečenie toho, že vybavenie a postupy testovania na mieste testovania sú prispôbené pre POCT a sú prístupné tým, ktorí vykonávajú testovanie. Spolupracujúce laboratórium je zodpovedné za kontinuálne vzdelávanie a školenie pracovníkov, ktorí vykonávajú testovanie pri pacientovi a je zodpovedné za posúdenie kompetentnosti POCT operátorov vykonávať príslušné analýzy. Operátori POCT musia v klinickom laboratóriu absolvovať školenie o celom procese testovania (preanalytická, analytická a postanalytická fáza), aby získali potrebné zručnosti a schopnosti samostatne vykonávať POC testy. Musia viesť protokoly na dokumentovanie celého procesu POC testovania. Výsledky analýz spolu s údajmi o prístroji (preventívna údržba, opravy, servis), výsledky internej kontroly kvality a externého hodnotenia kvality majú zaznamenať v denníku prístroja, ktorý sa má uchovávať počas celej životnosti prístroja. K dispozícii je množstvo medzinárodných smerníc, ktoré sa zaoberajú odporúčanými postupmi a požadovanými funkciami pre diagnostické testovanie mimo nemocničného prostredia s cieľom splniť regulačné požiadavky (Khan et al, 2023; Nichols, 2020; GOV/UK, 2021; RACGP, 2021; IFBLS, 2010; Balla, 2015; NITO, 2008).



Obrázok 4. Príklad jednoduchej schémy implementácie POCT mimo nemocnice

7.1.1. Medicínsky manažment

- Definovanie zamýšľaného medicínskeho účelu
- Špecifikácia klinických potrieb
- Identifikácia zainteresovaných strán a dostupných riešení

- Na aký účel má byť analyzátor (skrining, triáž, diagnostika, monitorovanie liečby)

Aké výhody, úžitok a prospech budú mať pacienti

7.1.2 Výber vhodného typu POCT analyzátor

Podľa Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 z 5. apríla 2017 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro a o zrušení smernice 98/79/ES a rozhodnutia Komisie 2010/227/EÚ je POCT prístroj klasifikovaný ako diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro (IVD). Aby sa IVD mohli voľne pohybovať a používať v EÚ v súlade s účelom určenia, musia mať označenie CE preukazujúce ich zhodu s týmto nariadením. CE značkou výrobcu osvedčil, že daný výrobok vyhovuje všetkým príslušným základným požiadavkám, ktoré vyhovujú právnym predpisom Európskej únie. CE značka nie je označenie kvality, ani indikátor kvality, ani záruka kvality. Preto sa pri výbere vhodného POCT prístroja dôrazne odporúča venovať pozornosť minimálne nasledujúcim aspektom.

- Preskúmať ponuky prístrojov pomocou internetu, online, EHK, výstav, workshopov, návštevou miest, kde sa analyzátor už používa.
- Spĺňa prístroj požiadavky regulačných alebo akreditačných orgánov?
- Je vybraný POCT prístroj vhodný na zamýšľaný účel?
- Je technológia osvedčená alebo je nová a inovatívna?
- Aká je kalibrácia prístroja a reagensí (frekvencia, režim automatický alebo manuálny)?
- Možnosti internej kontroly kvality a externého hodnotenia kvality (frekvencia).
- Je dostupný program externého hodnotenia kvality?
- Aká je analytická kvalita (analytická citlivosť a špecificita, merací rozsah, kritické hodnoty, interferencie)?
- Aké sú klinické výkonnostné charakteristiky (senzitivita a špecificita)?
- Aké sú technické charakteristiky (zdroj napájania)?
- Umožňuje SW identifikáciu a uloženie dát operátora a pacienta?
- Aké sú možnosti elektronickej konektivity, prenosu a archivácie dát (pripojenie k PC, LIS, NIS, IT rozhranie)?
- Aké sú požiadavky na priestory a umiestnenie analyzátor?
- Aká je užívateľská prívetivosť? Používa sa prístroj jednoducho a má dostatočnú robustnosť?
- Akú údržbu si vyžaduje a ako často?

- Má ľahko dostupný servis?
- Aké sú náklady na prevádzku?
- Koľko stoja diagnostické sety a príslušenstvo?
- Aké sú požiadavky na skladovanie činidiel?
Analýza úhrad a preplácania POCT testov.

1.1.2 Implementácia POCT služieb

a) POCT analyzátor

Minimálne kroky, ktoré sú odporúčané pred kúpou prístroja

- Kontakt s výrobcou alebo dodávateľom.
- Demonstrácia a preskúšanie analyzátor pred nákupom.
- Overenie vhodnosti na daný účel.
- Výberové konanie.
- Obstarávanie (dodacie lehoty, inštalácia analyzátor, testovanie rozhraní IT konektivity).

b) Personál

- Plán kontinuálneho vzdelávania.
- Koľko školení operátorov je potrebných?
- Školenie a výcvik operátorov.
- Posúdenie spôsobilosti operátorov (certifikácia).
- Riadenie dokumentácie (záznamov).

c) Zapojenie odborníkov z laboratória

- Odborná implementačná podpora.
- Usmernenie, osvedčené postupy.
- Verifikácia výrobcom deklarovaných parametrov.
- Pracovné návody.
- Užívateľská príručka.
- Kontrola všetkých procesov.
- Komunikácia a praktický výcvik operátorov POCT.

2.1.2. Dokumentácia a formuláre

- Interná kontrola kvality.
- Externé hodnotenie kvality.
- Preventívna údržba.
- Poruchy.
- Opravy a servis.
- Dodávky a skladovanie činidiel.

2.1.3. Nápravné opatrenia

- Návod ako postupovať.
- Užívateľská podpora.
- Implementácia zmien.

Tento výpočet je rámcový a nerieši špecifické situácie. Ďalšie podrobnosti a riešenia je možné nájsť v príslušnej

literatúre (CLSI, 2016; Nichols, 2022; Nichols, 2021; RAC-GP, 2021; Vener, 2021; GOV/UK, 2021; IFBLS, 2010; Khan, 2021; Khan, 2023; Warade, 2015; Tirimacco, 2019; NPT, 2021; Shephard, 2016).

ZÁVER

Celosvetová populácia sa čoraz viac obracia na rýchle testovacie riešenia bez potreby laboratórnej analýzy v centrálnom laboratóriu. Rýchle testy výrazne znižujú dopyt po laboratórnom testovaní a vďaka samotestovaniu majú väčšiu kontrolu nad svojim zdravím aj samotní pacienti. Rýchle testy budú naďalej podporovať triáž, čím sa zlepší tok pacientov a čas liečby v nemocniciach. Okrem toho sa predpokladá, že domáce testovanie bude rásť a budú sa vyvíjať jednoduchšie použiteľné testy. Pri domacom testovaní sa predpokladá jednoduchší odber vzoriek. V budúcnosti sa POCT rozšíri do viacerých oblastí terapie, ako sú nové infekčné choroby, onkológia, cievne mozgové príhody a demencia. Technológie POCT nikdy neprestanú napredovať a zlepšovať sa najmä čo do presnosti, špecifickosti, citlivosti a rýchlejšej doby odozvy. Kazetové prístroje dosiahnu lepší výkon a stanú sa modernejšími. Budúcnosť POCT ráta s nárastom multiplexových testov. Vďaka tomu testy na mieste umožnia rýchlejšie rozhodovanie a jednoduchšiu interpretáciu. Užitočnosť POC testov zlepší umelá inteligencia, ktorá sa stane kľúčovým prostriedkom na podporu lekárov pri analýze patientskych údajov a diagnostickom rozhodovaní. Významnú rolu bude hrať konektivita zariadení a aplikácie, ktoré posilnia zdieľanie výsledkov domácich testov a telemedicíny s poskytovateľmi zdravotnej starostlivosti. Tento vývoj zvýši rýchlosť rozhodovania lekárov a zlepší výsledky pacientov pri oveľa širšom spektre chorôb. Doplnkom k POC testovaniu sa stanú domáce testy.

Bezpečnosť a spoľahlivosť laboratórnych testov je dobre zaistená v klinických laboratóriách, ktoré majú zavedený systém riadenia, zabezpečenia a kontroly kvality. Toto vo väčšine neplatí v rozšírenej oblasti laboratórneho testovania na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti, obzvlášť mimo nemocnice. Nízka frekvencia testovania, časové nároky v preplnených ambulanciách, nedostatočná preventívna údržba, nevhodná manipulácia so zariadeniami, chýbajúca laboratórna zručnosť a takmer úplná absencia kontroly kvality zvyšujú neistotu o kvalitu diagnostiky. Aj keď rýchly čas odozvy (najväčšia výhoda POCT) môže mať zásadný vplyv na výsledky starostlivosti

o pacienta, pretože poskytuje rýchlejší prístup k výsledkom testov, môže urýchliť nielen rýchlosť diagnostiky, ale aj následnej liečby. Navyše POCT v správnych situáciách (ako je napr. miesto urgentnej starostlivosti, pohotovostná služba) môže znížiť zbytočné hospitalizácie alebo drahé zobrazovacie testy. POCT rastie v dopyte a dopyt po testovaní POC v rámci nášho systému zdravotnej starostlivosti neustále rastie, pretože má obrovský potenciál v starostlivosti založenej na hodnote a odozve v reálnom čase, ktorú umožňuje diagnostické testovanie pri pacientovi. Vzhľadom na to, že zapojenie pacientov v zdravotnej starostlivosti je čoraz dôležitejšie, skutočnosť, že POCT sa často spája so zvýšenou spokojnosťou pacientov, je ďalším faktorom, ktorý poháňa rast trhu POCT. Výrobcovia pokračujú vo vývoji nových prístrojov a konsolidujú viacero testov do jedného zariadenia. Aby sa dosiahli výhody POCT v reálnom čase, nestačí, aby sa test vykonal v mieste starostlivosti, ale výsledky sa musia elektronicky integrovať do informačného systému a zdravotnej dokumentácie pacienta. V rámci nemocnice je POCT často rozptýlené na mnohých testovacích miestach, čo sťažuje jeho riadenie, a preto si nevyhnutne vyžaduje vysokú mieru centrálnej integrácie. Plná hodnota diagnostického testovania POC sa prejaví iba vtedy, keď sú výsledky okamžite dostupné poskytovateľom zdravotnej starostlivosti. V takom prípade môže POCT zlepšiť efektivitu poskytovateľov a potenciálne zlepšiť starostlivosť o pacienta a výsledky. Napriek skvelému vývoju zostáva veľa výziev. V niektorých prípadoch kvalita testov v mieste starostlivosti vykonaných ne-laboratórnym personálom nezodpovedá testovaniu vykonávanému v centrálnom laboratóriu. Testovanie v mieste starostlivosti vykonáva personál s obmedzeným technickým výcvikom, takže školenie a kontrola kvality sú životne dôležité. Implementačnou výzvou POCT na Slovensku je štátna zdravotná politika, legislatíva, regulácia a usmernenia. Veľkým problémom môže byť riadenie programu testovania v mieste starostlivosti a udržanie súladu s (zatiaľ neexistujúcimi) regulačnými predpismi. Z týchto dôvodov nie je budúcnosť testovania v mieste starostlivosti v SR úplne jasná. Najpravdepodobnejším scenárom bude pomalý, ale progresívny rast testovania v mieste starostlivosti v nemocnici, na ambulancii a v domácnosti.

LITERATÚRA

1. **Australian Government Department of Health.** REQUIREMENTS FOR POINT OF CARE TESTING. Second edition 2021.

- Available from Australian Commission on Sa-fety and Quality in Health Care.
2. **Australian PoCT Practitioner's Network (APPN) © 2010 - 2024** appn. <https://www.appn.net.au/>
 3. **Balla, J, Kováč, G, Blažiček, P, Farkaš, M., Varmusová, E, Homzová, K., Balla, B.** Kritériá analytickej kvality. Požiadavky na národné štandardy akosti v laboratórnej medicíne. *Laboratórna diagnostika*, 2-3, 2003, 45-60.
 4. **Balla, J.** Kontrola kvality v klinickom laboratóriu a POCT. *LABORÁTORNA DIAG-NOSTIKA*, XIX, 1-2, 2014: 15-16.
 5. **Balla, J.** Definovanie analytických výkonnostných cieľov v SR 15 rokov po štokholmskej konferencii. *LABORÁTORNA DIAG-NOSTIKA*, XX, 2, 2015: 35-36.
 6. **Balla, J.** Čomu je potrebné venovať pozornosť pri zavádzaní laboratórnej diagnostiky na mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti. *LABORÁTORNA DIAGNOSTIKA*, XX, 2, 2015:39-49.
 7. **Balla, J.** POCT – Laboratórna diagnostika na mieste zdravotnej starostlivosti. *Laboratórna medicína pre ambulantnú prax*. | ZD 06/2016. www.raabe.sk
 8. **Balla, J.** Špecifikácia analytickej kvality a definovanie analytických výkonnostných cieľov v SR 15 rokov po štokholmskej konferencii. *LABORÁTORNA DIAGNOSTIKA*, XXI, 2, 2016: 55-70.
 9. **Balla, J.** POCT - TESTOVANIE PRI PACIENTOVI. Časť I: Prehľad súčasného stavu a trendov implementácie, organizácie a regulácie POC testovania v zdravotníckych systémoch vyspelých krajín. *LABORÁTORNA DIAGNOSTIKA*, XXIX, 1, 2024: 30–55. <https://doi.org/10.5281/zenodo.12531557>
 10. **Balla, J.** Podmienky testovania samoplatcov. Emailový prieskum vo vybraných štátnych a súkromných laboratóriách. 2024. Anonymné zdroje.
 11. **CALS JWJL.** Point-of-care testing in general practice: just what the doctor ordered? *British Journal of General Practice*, August 2018. DOI: <https://doi.org/10.3399/bjgp18X698033>
 12. **CLSI** POCT04-ED3:2016 Essential Tools for Implementation and Management of a Point-of-Care Testing Program, 3rd Edition. www.CLSI.ORG
 13. **CLSI** POCT09AWS-2024 — Instrument Selection Worksheet. www.CLSI.ORG
 14. **CLSI** POCT09AWS-2024 Instrument Selection Worksheet. www.clsi.org
 15. **CLSI.** Selection Criteria for Point-of-Care Testing Devices; Approved Guideline. CLSI document POCT09-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. www.clsi.org
 16. **de VRIES CGJCA.** Point-of-care testing in primary care in the Netherlands. Management of patient safety related aspects. National Institute for Public Health and the Environment 2012.
 17. **DÓZSA C, HORVÁTH K, CSERNI I et al.** Roadmap for large-scale implementation of point-of-care testing in primary care in Central and Eastern European countries: the Hungarian experience. *Primary Health Care Research & Development* 23(e26): 1–10. <https://doi.org/10.1017/S1463423622000159>
 18. **Erasmus, R; Sahni, S; El-Sharkawy, R.** Connectivity strategies in managing a POCT service. *eJIFCC2021Vol-32No2pp190-194*. <https://ifcc.web.insd.dk/media/479040/ejifcc2021vol32no2pp190-194.pdf>
 19. **Fraser, C.** *Biological Variation. From Principles to Practice.* AACC Press.2001.
 20. **GIDSKE G, SANDBERG S, FOSSUM AL, et al.** Point-of-care testing in primary healthcare: a scoring system to determine the frequency of performing internal quality control. *Clin Chem Lab Med* 2022; 60(5): 740–747. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-1258>
 21. **Gidske, G, Sandberg, S, Fossum, A, Binder, S, Langsjøen, E, Solsvik, A, Stavelin, A.** Point-of-care testing in primary healthcare: a scoring system to determine the frequency of performing internal quality control. *Clin Chem Lab Med* 2022; 60(5): 740–747. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-1258>
 22. **GOV.UK (2021)** Management and use of IVD point of care test devices. <https://www.gov.uk/>
 23. **HOWICK J, CALS JWJL, JONES C et al.** Current and future use of point-of-care tests in primary care: an international survey in Australia, Belgium, The Netherlands, the UK and the USA. *BMJ Open* 2014;4:e005611. <https://doi:10.1136/bmjopen-2014-005611>
 24. **IFBLS' Guidelines regarding Point of Care Testing (POCT).** 2010. <https://www.ifbls.org/index.php/statements/point-of-care-testing-poct>
 25. **ISO 15189:2022 Medical laboratories** - Requirements for quality and competence. International Organization for Standardization, 2022.
 26. **Jacobs, E, Kaplanis, B, et al.** CLSI. Essential Tools for Implementation and Management of a Point-of-Care Testing Program. 3rd ed. CLSI guideline POCT04. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
 27. **JAFRI L, AHMED S, MAJID H et al.** A framework for implementing best laboratory practices for non-integrated

- point of care tests in low resource settings. *eJIFCC2023Vol-34No2pp110-122*
28. **Kachler, M, Maschek, Ch.** Organizational challenges in the management of point-of-care diagnostics in healthcare facilities. *J Lab Med* 2020; 44(2): 103–105. <https://doi.org/10.1515/labmed-2020-0008>
 29. **KHAN AI.** Best laboratory practices regarding POCT in different settings (hospital and outside the hospital). *eJIFCC2021Vol32No2pp124-130*
 30. **Khan, AI, Pratumvinit, B, Jacobs, E, Kost, GJ, Kary, H, Balla, J, Shaw, J, Kopcinovic, LM, Vaubourdolle, M, Oliver, P, Jarvis, PRE, Pamidi, P, Erasmus, RT, O’Kelly, R, Musaad, S, and Sandberg, S.** Point-of-care testing performed by healthcare professionals outside the hospital setting: consensus based recommendations from the IFCC Committee on Point-of-Care Testing (IFCC C-POCT). *Clin Chem Lab Med* 2023; 61(9): 1572–1579. <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0502>
 31. **LINGERVELDER D, KOFFIJBERG H, EMERY JD et al.** How to Realize the Benefits of Point-of-Care Testing at the General Practice: A Comparison of Four High-Income Countries. *International Journal of Health Policy and Management*, 2022, 11(10), 2248–2260. doi 10.34172/ijhpm.2021.143
 32. **LINGERVELDER D, KOFFIJBERG H, KUSTERS R. et al.** Point-of-care testing in primary care: A systematic review on implementation aspects addressed in test evaluations. *Int J Clin Pract.* 2019;73:e13392. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13392>
 33. **Lipták, D., Balla, J, Zanovít, R., Kaňuch, J.** POC testovanie v primárnej sfére. Združenie všeobecných lekárov pre dospelých, Slovenská spoločnosť klinickej biochémie, Slovenskej republiky, 2022. [POCT dotazník](#)
 34. **Luppa, P., Junker, R.** Point-of-Care Testing. Principles and Clinical Applications. Springer, 2018. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-662-54497-6>
 35. **MATTHES A, WOLF F, SCHMIEMANN G, et al.** Point-of-care laboratory testing in primary care: utilization, limitations and perspectives of general practitioners in Germany. *BMC Primary Care* (2023) 24:96. <https://doi.org/10.1186/s12875-023-02054-0>
 36. **National Near-Patient Testing (NPT) Consultative Group, Dublin, Ireland.** Guidelines for safe and effective near-patient testing (NPT). 2021, Version 6.2
 37. **Nichols JH, Alter D, Chen Y, Isbell TS, Jacobs E, Moore N, Shajani-Yia Z.** AACC guidance document on management of point-of-care testing. [Epub] *J Appl Lab Med* June 4, 2020, as doi:10.1093/jalm/jfaa059.
 38. **Nichols, J, Das, S.** POINT-OF-CARE TESTING: A “HOW-TO” GUIDE FOR THE NONLABORATORIAN. American Association for Clinical Chemistry, 2022. <https://www.myadlm.org/Science-and-Research/POCT-How-to-Guide-for-Non-Laboratorians>.
 39. **NITO.** Pointofcaretesting. Bioingeniørfagliginstitutt. 2008. <https://www.nito.no/contentassets/7152ab4936194074b7b10d-18500bcfa7/point-of-care-testing.pdf>
 40. **OEHME R, SANDHOLZER-YILMAZ AS, HEISE M, et al.** Utilization of point-of-care tests among general practitioners, a cross-sectional study. *BMC Primary Care* (2022) 23:41. <https://doi.org/10.1186/s12875-022-01643-9>
 41. **Orth, M, Vollebregt, E, Trenti, T., Shih, P., Tollanes, M. and Sandberg, S. (2022)** Direct-to-consumer laboratory testing (DTCT): challenges and implications for specialists in laboratory medicine *Clin Chem Lab Med* 2022; <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-1227>
 42. **Ortiz, D., Loeffelholz, M.** Practical Challenges of Point-of-Care Testing. *Clinics in Laboratory Medicine*. Volume 43, Issue 2, June 2023, Pages 155-165. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2023.02.002> Get rights and content
 43. **Oznámení Ministerstva zdravotnictví.** Úprava Věstníku MZ ČR částka 1/2009 Standard při poskytování a vykazování screeningu nádorů kolorekta v České republice. *Věstník MZ ČR*, částka 11, vydáno: 10. srpna 2023, 134.
 44. **PRICE CP, LUPPA PB, HOPSTAKEN R.** Point-of-care testing in primary care in Europe: Improving pathways and patient outcomes. <https://www.lumiradx.com/uk-en/kc/learning-center/poct-in-primary-care-white-paper>
 45. **Sandberg, S, Fraser, CG, Horvath, AR, Jansen, R, Jones, G, Oosterhuis, W, Petersen, PH, Schimmel, H, Sikaris, K and Panteghini, M.** Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53(6): 833–835. DOI 10.1515/cclm-2015-0067
 46. **Shephard, M.** A Practical Guide to Global Point-of-Care Testing. CSIRO Publishing 2016. <https://www.publish.csiro.au/book/7500/>
 47. **Standard při poskytování a vykazování výkonů screeningu nádorů kolorekta v České republice.** *Věstník MZ ČR*, částka 1, vydáno: 27. února 2009, 20-23.
 48. **Strigáčová, J, Gallová, Z.** POC testy v nemocniční praxi. Praktické zkušenosti. FN Trenčín. *Laboratorna Diagnostika*, XXIX, 2, 2024.
 49. **The Royal Australian College of General Practitioners (RACGP).** Standards for point-of-care testing. 5th edition. 2021. RACGP - About the standards.

50. **Tirimacco, R. et al.** Point of Care Testing Implementation Guide. Australasian Association of Clinical Biochemists. 2019.
51. **Venner, A, Beach, L, Shea, J, Knauer M, Huang,Y, Fung, A, Dalton, J, Provencal, M, Shaw, J.** Quality assurance practices for point of care testing programs: Recommendations by the Canadian society of clinical chemists point of care testing interest group. *Clinical Biochemistry* 88 (2021) 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2020.11.008>
52. **Všeobecná zdravotní pojišťovna ČR.** Pokyn náměstka ředitele VZP ČR pro zdravotní péči č. 48/2014. Nasmlouvání výkonů v režimu POCT s platností od 1. 3. 2014.
53. **Warade J.** Organization of the POCT Unit. *eJIFCC*. 2015 Mar 10;26(2):125-32. PMID: 27683488; PMCID: PMC4975358.



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 207–216

DOTAZNÍKOVÝ PRIESKUM POINT-OF-CARE TESTOVANIA MEDZI VŠEOBECNÝMI LEKÁRMI SLOVENSKA

QUESTIONNAIRE SURVEY OF POINT-OF-CARE TESTING AMONG GENERAL PRACTITIONERS IN SLOVAKIA

Dušan Lipták¹ Rastislav Zanolit², Ján Kaňuch³, Ján Balla⁴

¹ Združenie všeobecných lekárov pre dospelých Slovenskej republiky, o.z.,
Všeobecná ambulancia pre dospelých, Veľký Šariš

² Združenie všeobecných lekárov pre dospelých Slovenskej republiky, o.z.,
Všeobecná ambulancia pre dospelých, Námestovo

³ RASLAZDRAV, s. r. o., Akreditované výučbové pracovisko Lekárskej fakulty Univerzity UPJŠ Košice a SZÚ
Bratislava, Raslavice

⁴ Slovenská spoločnosť klinickej biochémie, Národný reprezentant EFLM a IFCC

jan.balla.sr@gmail.com

SÚHRN

Point of Care Testing (POCT) v primárnej sfére zdravotnej starostlivosti je laboratórne testovanie vykonávané personálom, ktorý nie je vyškolený v laboratóriu (napr. sestry, lekári, záchranári, a pod.). POCT má potenciál rýchlo generovať výsledky a umožniť okamžité nasadenie vhodnej liečby, čo môže viesť k lepším klinickým aj ekonomickým výsledkom v porovnaní s laboratórnym testovaním. Pokyny POCT zdôrazňujú vo všeobecnosti rýchle výsledky, pohodlie a dostupnosť, ale upozorňujú na miesta, ako je nevhodné testovanie, možnosť chyby operátora alebo nízka kvalita analýzy. Uvedené aspekty sme mapovali na vzorke všeobecných lekárov Slovenska dotazníkovým prieskumom.

Kľúčové slová: benefity testovania na mieste; paleta testov; kontrola kvality; školenie

ABSTRACT

Point of Care Testing (POCT) in the primary health-care sphere is laboratory testing performed by personnel not trained in the laboratory (e.g. nurses, doctors, paramedics, etc.). POCT has the potential to rapidly generate results and enable immediate initiation of appropriate treatment, which may lead to better clinical and

economic outcomes compared to laboratory testing. POCT guidelines generally emphasize rapid results, convenience, and accessibility, but also highlight areas such as inappropriate testing, the potential for operator error, or poor-quality analysis. We mapped the mentioned aspects on a sample of general practitioners in Slovakia using a questionnaire survey.

Key words: POCT benefits; test menu; quality control; training

ÚVOD

Point-of-Care testovanie (POCT) je novým, rýchlo rastúcim segmentom laboratórnej medicíny. Unikátne technológie, progresívne metódy a možnosť elektronickej integrácie výsledkov naprieč testovacími miestami urobili z POCT skutočnú špecialitu, vďaka ktorej sa stávajú spoľahlivejšie a dostupnejšie. POCT je prospešné a užitočné vtedy, ak jeho výhody prevyšujú potenciálne riziká. Hlavným cieľom testovania Point of Care je rýchlejšie generovať výsledky, aby bolo možné promptne poskytnúť primeranú liečbu, dosiahnuť skoršie prepustenie z nemocnice, znížiť počet zbytočných hospitalizácií, optimalizovať medikamentóznú liečbu, znížiť používanie krvných derivátov a efektívne využiť personál. Lenže rýchlosť

neznamená vždy aj kvalitu. V laboratórnej diagnostike platí, že lepší je žiadny výsledok ako zlý výsledok. POCT v ambulancii všeobecného lekára na Slovensku je veľmi rozšírené. Okrem všeobecného technologického a vedec-kého pokroku a obrovskej trhovej ponuky viedla k tomu v r. 2016 aj Vyhláška MZ SR o materiálo-technickom vybavení ambulancie všeobecného lekára pre dospelých a ambulancie všeobecného lekára pre deti a dorast. Vývoj implementácie POCT na Slovensku je však živelný, chýba jednotná štátna politika, legislatíva, regulačné opatrenia a odborné usmernenia (guidelines), (Balla, 2024). Názory všeobecných lekárov na uvedené faktory sme sa pokúsili zmapovať na vzorke 128 respondentov dotazníkovým prieskumom.

METÓDA

Na zistenie názorovej hladiny sme zvolili metódu dotazníkového prieskumu. Autori prieskumu v zastúpení Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, Združenia všeobecných lekárov Slovenskej republiky (ZVLD) a Slovenskej spoločnosti všeobecného praktického lekárstva (SSVPL) vykonali v roku 2022 dotazníkový prieskum procesu implementácie a prevádzkovania POCT v ambulanciách primárnej sféry. Hlavným cieľom prieskumu, ktorý sa venoval organizačným, technickým a kvalitatívnym aspektom POC testovania na Slovensku, bolo praktické overenie stavu, v akom rozsahu a v akom kontexte sú v ambulanciách všeobecných lekárov a špecialistov na Slovensku prítomné problémy identifikované v diskusiách na lekárske kongresoch a akcentované v publikáciách odbornej medicínskej literatúry. Na realizáciu prieskumu bola využitá metóda dotazníka, ktorý obsahoval spolu 26 otázok zoskupených do 3 kategórií (všeobecná časť, vzdelávanie, kontrola kvality). Časť otázok v dotazníku mala alternatívne odpovede s cieľom poskytnúť respondentom odpoveď na rovnaký jav z viacerých uhlov pohľadu. Výber respondentov bol náhodný a realizovaný samovýberom v kombinácii s odporúčením hlavných predstaviteľov ZVLD, čo sa odzrkadlilo na vzorke respondentov, ktorú tvorili hlavne všeobecní lekári združení v ZVLD a SSVPL. Dotazník je aktívny naďalej a ďalší záujemcovia ho v prípade záujmu môžu naďalej využiť. Získané dáta budú k dispozícii na hlbšiu analýzu.

Cieľom analýzy bolo získať základný prehľad o používaní POCT prístrojov v ambulanciách všeobecných lekárov a špecialistov, zistiť aké sú rozdiely vo vybavenosti POCT

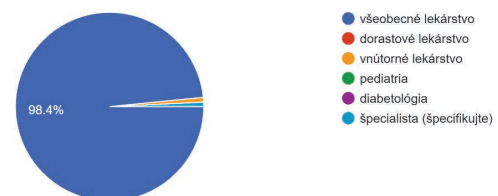
v primárnej sfére a aké sú názory koncových užívateľov na prínos POCT, jeho organizáciu, reguláciu, výhody *verzus* nevýhody, využitie a ťažkosti v dennej praxi všeobecného lekára. [POCT dotazník](#), dostupný na internete po kliknutí v prehľadávači Chrome, zaručuje plnú anonymitu a slobodu vyjadrenia osobného názoru každého respondenta. Dotazník bol plne anonymný, od respondentov nežiadal zadávať žiadne svoje osobné údaje (meno, pracovnú alebo súkromnú adresu), ani e-mailovú adresu. Dotazník nezhrmažďoval ani IP adresy respondentov. [Dotazník](#), bol vytvorený v aplikácii Google Forms, bol šírený a zdieľaný on-line cez odkaz (link) a dostupný v členskej základni Združenia všeobecných lekárov pre dospelých Slovenskej republiky a Slovenskej spoločnosti všeobecného praktického lekárstva. Získané informácie boli spracované pomocou aplikácií Google Forms a vyhodnotenie odpovedí vykonané pomocou automatických súhrnov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

A. POINT OF CARE TESTOVANIE V PRIMÁRNEJ SFÉRE

Otázka č. 1 Akú odbornosť má vaša ambulancia

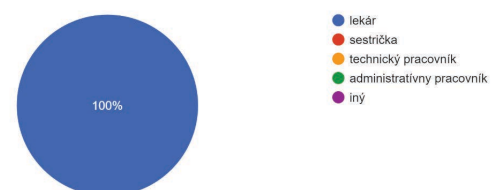
1. Akú odbornosť má vaša ambulancia
128 responses



Zo zúčastnených 128 respondentov tvorili všeobecní lekári 98.4 % podiel, zostatok boli internisti, geriatry, klinický farmakológ a špecialista v laboratórnej medicíne.

Otázka č. 2 Aké je vaše povolanie

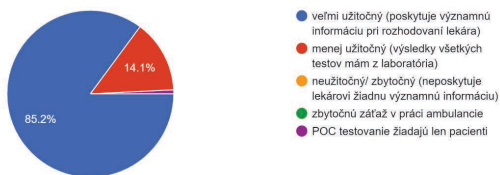
2. Aké je vaše povolanie
128 responses



Odpovedali iba lekári, medzi respondentmi nebola žiadna sestra, technický alebo administratívny pracovník.

Otázka č. 3 Považujete POCT prístroj v ambulancii praktického lekára za ...

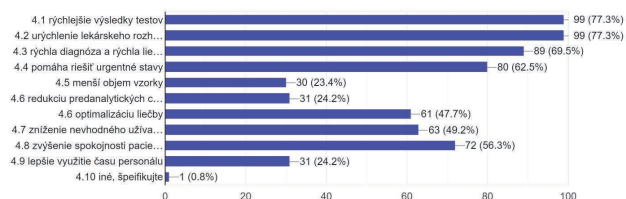
3. Považujete POCT prístroj v ambulancii praktického lekára za
128 responses



Absolútna väčšina dokazovaných lekárov (85,2 %) odpovedala, že POCT prístroj na ambulancii všeobecného lekára považujú za veľmi užitočný, pretože im poskytujú významnú informáciu pri rozhodovaní, ale 14,1 % lekárov (každý siedmy) odpovedalo, že POCT prístroj nepotrebuje, nakoľko si laboratórne testy objedáva v laboratóriu. V dotazníkovej odozve sa objavil aj ojedinelý názor, že POCT vyšetrenie žiadajú len pacienti.

Otázka č. 4 Čo považujete za najväčšie benefity POC testovania (mohli sa označiť viaceré odpovede)

4. Čo považujete za najväčšie benefity POC testovania (môžete označiť viaceré odpovede)
128 responses



Vďaka rýchlosti výsledkov považujú viac ako tri štvrtiny lekárov za najväčšie výhody POCT urýchlenie lekárskeho rozhodovania, rýchle stanovenie diagnózy a okamžité začatie liečby. Okrem toho, polovica užívateľov POCT zdôrazňuje aj význam zníženia nevhodného užívania liekov, optimalizáciu liečby a zvýšenú spokojnosť pacientov. Len každý tretí respondent prikladá určitú váhu aj potrebe menšieho objemu vzorky alebo zníženiu predanalytických chýb súvisiacich s transportom vzoriek do laboratória. Jeden respondent je toho názoru, že „všetky vymenované položky sú pre lekára plus“ a jeden si zrejme neuvedomil, že POCT nie je len COVID-19 a poznamenal „máme MOM-ky a antigény“.

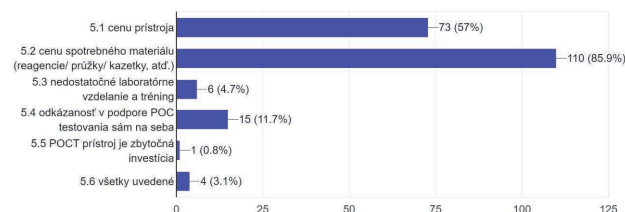
Legenda

- 4.1 rýchlejšie výsledky testov.
- 4.2 urýchlenie lekárskeho rozhodovania.
- 4.3 rýchla diagnóza a rýchla liečba.
- 4.4 pomáha riešiť urgentné stavy.
- 4.5 menší objem vzorky.
- 4.6 redukciiu predanalytických chýb súvisiacich so vzorkou (transport vzorky do laboratória, zrážanie, ap.).

- 4.7 zníženie nevhodného užívania liekov.
- 4.8 zvýšenie spokojnosti pacientov.
- 4.9 lepšie využitie času personálu.
- 4.10 iné, špecifikujte.

Otázka č. 5 Čo považujete za najväčšie nevýhody POC testovania (mohli sa označiť viaceré odpovede)

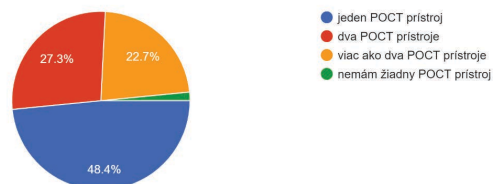
5. Čo považujete za najväčšie nevýhody POC testovania (môžete označiť viaceré odpovede)
128 responses



Medzi najväčšie nevýhody POCT vymenovalo 86% všeobecných lekárov vysoké ceny spotrebného materiálu, činidiel, prúžkov a kaziet. Trom štvrtinám lekárov vadia aj vysoké ceny POCT prístrojov. Len každému dvadsiemu lekárovi vadí nedostatočné laboratórne vzdelanie a každému desiatemu odkázanosť v podpore POCT na seba samého. Každý tridsiaty uviedol, že za nevýhody považuje všetky uvedené príčiny. Jeden respondent zo všetkých zúčastnených odpovedal, že POCT prístroj je zbytočná investícia.

Otázka 6. Máte vo vašej ambulancii POCT prístroj?

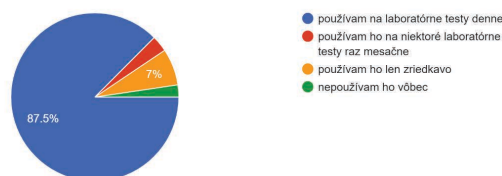
6. Máte vo vašej ambulancii POCT prístroj?
128 responses



Polovica respondentov uviedla, že vo svojej ambulancii má najmenej jeden POCT prístroj, takmer tretina ma ambulanciu vybavenú dvoma POCT prístrojmi a štvrtina ich má v ambulancii tri a viac. Iba dvaja uviedli, že nemajú žiadny POCT prístroj.

Otázka 7. Ako často používate POCT prístroj vo vašom vlastníctve

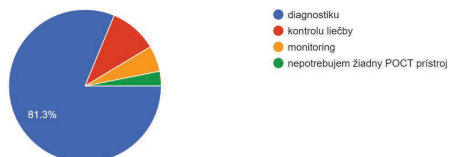
7. POCT prístroj v mojom vlastníctve
128 responses



Deviati z desiatich lekárov potvrdili, že POC testovanie vykonávajú denne, 3% raz mesačne na niektoré testy, 7% lekárov len zriedkavo a 2% ambulancií ho nepoužíva vôbec.

Otázka 8. Na aký účel využívate POCT prístroj

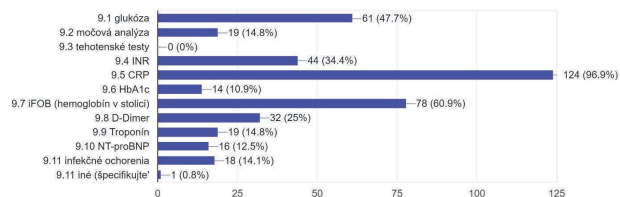
8. Využívate POCT prístroj na
128 responses



Absolútna väčšina lekárov (81,3%) využíva POCT prístroj na diagnostiku, 12 % na kontrolu liečby, 6% na monitoring a traja odpovedali, že „nepotrebujú“ žiadny POCT prístroj.

Otázka 9. Na ktoré POC testy využívate váš prístroj (mohli sa označiť viaceré odpovede)

9. Na ktoré POC testy využívate váš prístroj (môžete označiť viaceré odpovede)
128 responses

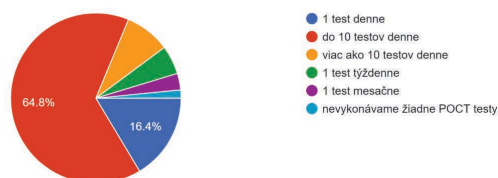


Zaujímavá je paleta POCT testov na ambulanciách všeobecných lekárov. Skoro každý, kto má POCT prístroj, ho využíva hlavne na vyšetrenie CRP (97%), čo je dobrým znakom pre ciele liečbu a predpisovanie ATB. V dvoch z troch ambulancií je druhým najčastejším testom stanovenie fekálneho hemoglobínu (iFOB, TOKS). Z prieskumu však nevyplýva, či ide o kvalitatívny dôkaz alebo kvantitatívne stanovenie hemoglobínu v stolici. Fekálne imunochemické testy (FIT) sa v súčasnosti vo svete vykonávajú už bežne ako kvantitatívne testy (*cut-off* sa obvykle pohybuje okolo $15 \pm 5 \mu\text{g Hb/g}$ stolice), zatiaľ čo v SR prevláda iba kvalitatívny dôkaz. Kvalitatívne testy iFOB od rôznych výrobcov sa líšia medzou detekcie a niektoré nespĺňajú podmienku analytickej citlivosti. Najdôležitejšou fázou kvantitatívnej analytickej metódy je vzorkovanie, ktoré všeobecní lekári u FIT ponechávajú kvôli pohodliu na samotných pacientov, čo v konečnom dôsledku významne zvyšuje riziko falošných výsledkov testovania. Týmto sa POCT iFOB test aj nepriamo mení na domáci test (*Direct to Consumer Testing, DTCT*). Keďže FIT sú dnes vý-

znamnou súčasťou národných programov vyhľadávania kolorektálneho karcinómu, je žiaduce sa touto problematikou zaoberať podrobnejšie, čo nie je predmetom tejto informácie. Tretina ambulancií využíva POCT na koagulačné testy. Najčastejšie sú to protrombínové testy (INR) a D-diméry. Narastá aj počet POC testov na kardiálne markery - troponíny T/ I a tiež nátriuretické peptidy NT-proBNP a BNP. Každá piata ambulancia vykonáva aj testy na infekčné ochorenia, ale špecifikovaný je iba COVID-19. Autor má skúsenosti, že niektoré ambulancie všeobecných lekárov pri podozrení na streptokokové infekcie skupiny A vykonávajú aj testy na *Streptococcus pyogenes*. Pri infekčných ochoreniach žiadny respondent nespomenul HIV testy ani testy na sexuálne prenosné infekcie (*Sexually transmitted infections, STI*), ktoré sú dnes vo veľkom voľne ponúkané na trhu ako DTCT. Močové papierikové testy sú dnes na ambulanciách samozrejmosťou, ale prekvapuje, že žiadny respondent nespomenul tehotenský test, ktorý sa zdá, že podobne ako HIV alebo STI, je doménou domáceho testovania (DTCT). Iba každá desiatu ambulancia vykonáva testy na glykovaný hemoglobín, hoci trh ponúka niekoľko spoľahlivých POCT analyzátorov na diagnostiku diabetu bez použitia oGTT, ktorý mnohým pacientom spôsobuje subjektívne ťažkosti. Tento údaj môže byť skreslený tým, že prieskumu sa nezúčastnili diabetológovia.

Otázka 10. Koľko POCT testov vykonávate

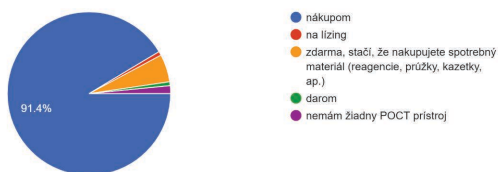
10. Koľko POCT testov vykonávate
128 responses



Dve tretiny ambulancií vykonávajú denne priemerne 10 POC testov, každá ôsma ambulancia aj viac ako 10 testov denne, ale každá šiesta ambulancia len jeden test denne a niekoľko ambulancií len jeden test týždenne alebo mesačne.

Otázka 11. Ako ste nadobudli POCT prístroj

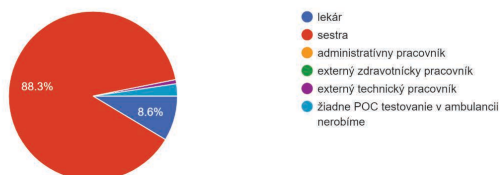
11. Ako ste nadobudli POCT prístroj
128 responses



Viac ako 91% respondentov nadobudlo svoj POCT prístroj kúpou, ale každý desiaty ho dostal od výrobcu zdarma, ak podpísal zmluvu o nákupe spotrebného materiálu (reagenčný lízing).

Otázka 12. Kto vykonáva POC testy v ambulancii všeobecného lekára

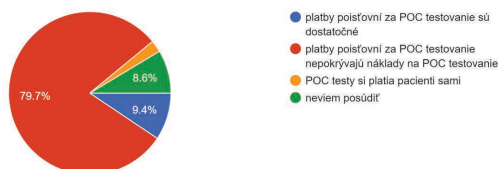
12. Kto vykonáva POC testy vo vašej ambulancii
128 responses



Veľmi dôležitým poznatkom, ktorý vyplynul z prieskumu sú POCT operátori. Takmer v 90% ambulancií POC testovanie vykonávajú sestry a iba v každej dvanástej ambulancii lekár a v dvoch zo 100 ambulancií je POCT operátorom externý zdravotnícky pracovník. V žiadnej ambulancii nevykonávajú POC testovanie technickí alebo administratívni pracovníci.

Otázka 13. Aký máte názor/skúsenosti s finančným ohodnotením POC testovania

13. Aký máte názor/ skúsenosti s finančným ohodnotením POC testovania
128 responses

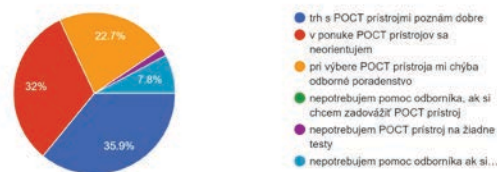


Na veľmi dôležitú otázku o finančnom ohodnotení POC testovania 80% lekárov uviedlo, že platby zdravotných poisťovní im nepokrývajú celkové náklady na testovanie. Každý ôsmy lekár je však s úhradou POC testovania zo ZP spokojný. 12% podiel lekárov sa vyjadrilo, že úhradovú politiku POC testovania nevie posúdiť. Dvaja respondenti uviedli, že POC testy si hradia pacienti sami (samoplatitelia). V takom prípade však nejde o POCT, ale o DAT (*Direct Access Testing*, testovanie na vyžiadanie pacienta-samoplatiteľa).

Otázka 14. Prehľad o dostupnosti a výbere POCT prístrojov na trhu

Tretina respondentov v prieskume uviedla, že sa v ponuke POCT analyzátorov dobre vyzná, ale rovnaký počet

14. Prehľad o dostupnosti a výbere POCT prístrojov na trhu
128 responses



lekárov tiež uviedol, že sa v POCT analyzátoroch ponúkaných na trhu neorientuje a navyše ďalšia tretina sa sťažuje, že jej v tejto oblasti chýba odborné poradenstvo. Z toho vyplýva, že dvaja z troch lekárov by privítali, keby sa pri výbere POCT prístroja mohli obrátiť na poradný orgán expertov, ktorý by im pre ich klinické potreby odporučil najvhodnejší POCT prístroj.

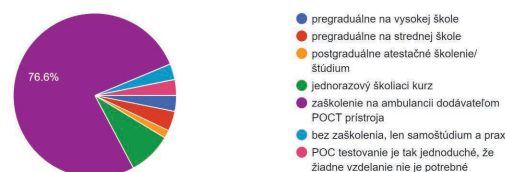
K všeobecnej časti o POC testovaní mali respondenti doplňujúce poznámky. Ich názory uvádzame v pôvodnom znení bez úprav a bez komentára.

- Poisťovne nevedia oceniť, čo robíme na ambulancii! Šetríme systém na naše náklady.
- Niektoré POCT platí ZP, niektoré nie, platí potom pacient. Výška od poisťovni by mohla byť trochu vyššia, aby nahradila viac nákladov. V otázke nevýhod - (POC testovanie) trochu brzdí prácu sestry, ale prijali sme ďalšiu sestru.
- Nedostatočná úhrada zo strany ZP, ktoré ledva pokrývajú náklady na jednotlivé vyšetrenie (spotrebný materiál), nákup prístroja a blank vzorky prípadne externé kontroly kvality sú stratovou investíciou z pohľadu podnikania a tieto náklady sú preto čisto medicínsko-altruistické, rovnako aj práca zdravotníckeho pracovníka.
- POCT prístroj používajú na diagnostiku, aj na monitoring liečby.
- Testuje lekár aj sestra.
- Nemám zazmluvnené HbA1c, prípadne DD, troponín.
- K POCT prístroju by som potrebovala i pomocnú silu.

B. VZDELÁVANIE V POINT OF CARE TESTOVANÍ

Otázka 15. Aké vzdelanie v POC testovaní má personál vašej ambulancie

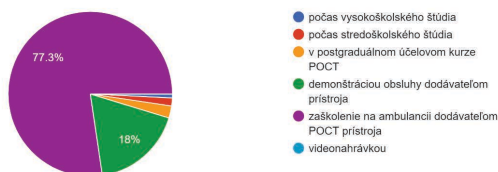
15. Aké vzdelanie v POC testovaní má personál vašej ambulancie
128 responses



Napriek tomu, aký veľký dôraz sa vo svete kladie na vzdelávací proces POCT, takmer 80% ambulantných lekárov v našom prieskume uviedlo, že boli zaškolení len obchodným zástupcom dodávateľa prístroja pri jeho dodaní. Malý podiel (8,6%) respondentov uviedlo aj jednorazový školiaci kurz, ale v poznámke nešpecifikovalo, o aký kurz ide a kto ho organizoval. Len každý päťdesiaty absolvoval postgraduálny kurz POC testovania. Päť respondentov uviedlo, že POCT vzdelanie nadobudli na strednej škole, štyria na vysokej škole, dvaja na predatestačnom školení, hoci v SR sa v tejto oblasti neorganizuje systémové školské vzdelávanie. Zaujímavé je vyjadrenie 8 respondentov, polovica z nich uvádza, že POCT vzdelanie nadobudli len samoštúdiom a praxou, a štyria uviedli pozoruhodný názor, že POC testovanie je tak jednoduché, že na to nie je potrebné žiadne vzdelanie. Uvedené potvrdzujú aj odpovede na otázku č. 16.

Otázka 16. Ako získal personál ambulancie vzdelanie v POCT testovaní

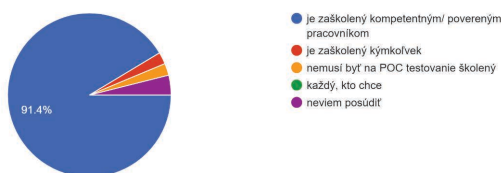
16. Ako získal personál ambulancie vzdelanie v POCT testovaní
128 responses



Otázky 15 a 16 sa týkajú aspektu vzdelania a odpovede pôsobia synergicky. Vyše 95 % respondentov uviedlo zaškolenie obsluhy dodávateľom prístroja len na ambulancii, z toho 1/5 len pri demonštrácii prístroja. Len traja z celého súboru uviedli absolvovanie postgraduálneho kurzu, dvaja uviedli školenie počas stredoškolského štúdia a iba jediný respondent spomenul vysokoškolské štúdium.

Otázka 17. POC testovanie môže vykonávať iba personál, ktorý ...

17. POC testovanie môže vykonávať iba personál, ktorý
128 responses

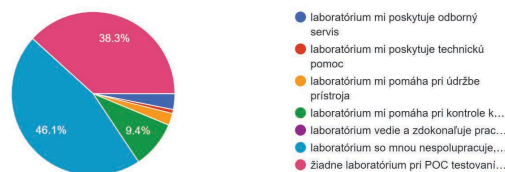


Na otázku, kto môže vykonávať POC testovanie, drvivá väčšina (91,4%) odpovedala, že „iba personál, ktorý je

zaškolený kompetentným povereným pracovníkom“. Tretina zo zostávajúcich 9% si myslí, že môže byť zaškolený kýmkoľvek, druhá tretina si myslí, že školiť môže „každý, kto chce“ a tretina je presvedčená, že na POC testovanie nemusí byť operátor školený vôbec. Piaty respondent potvrdil, že sa k položenej otázke nevedia vyjadriť.

Otázka 18. Spolupracujete pri POC testovaní s klinickým laboratóriom?

18. Spolupracujete pri POC testovaní s klinickým laboratóriom?
128 responses



Veľmi dôležitou témou, na ktorú kladú veľký dôraz v organizácii POC testovania vyspelé krajiny, je spolupráca POCT pracovísk s klinickými laboratóriami. Prieskum preukázal, že vysoký podiel slovenských ambulancií (84.4%) s klinickým laboratóriom vôbec nespolupracuje (nanajvýš každý štrnásty) a s kontrolou kvality testovania pomáha laboratórium iba každému jedenástemu. Viac ako polovica tejto skupiny tvrdí, že im laboratória nepomáhajú a druhá polovica si myslí, že žiadnu pomoc od laboratórií nepotrebujú. Tucet respondentov zo zostatku však priznal, že im laboratórium pomáha pri kontrole kvality, štyria uviedli, že im laboratórium poskytuje odborný servis, traja potvrdili, že im laboratórium pomáha s údržbou prístroja a jednému laboratórium poskytuje technickú pomoc.

Legenda

- 18.1 laboratórium mi poskytuje odborný servis.
- 18.2 laboratórium mi poskytuje technickú pomoc.
- 18.3 laboratórium mi pomáha pri údržbe prístroja.
- 18.4 laboratórium mi pomáha pri kontrole kvality POC testovania.
- 18.5 laboratórium vedie a zdokonaľuje pracovníkov našej ambulancie v tréningu laboratórnych zručností ako je napr. presné pipetovanie.
- 18.6 laboratórium so mnou nespolupracuje, s POC testovaním mi nikto nepomáha.
- 18.7 žiadne laboratórium pri POC testovaní nepotrebujem.

V časti o **POC vzdelávaní a spolupráci s klinickými laboratóriami** mali niektorí respondenti ešte doplňujúce poznámky. Ich názory uvádzame v pôvodnom znení bez úprav a bez komentára.

Veľmi dôležitou témou, na ktorú kladú veľký dôraz v organizácii POC testovania vyspelé krajiny, je spolupráca POCT pracovísk s klinickými laboratóriami. Prieskum preukázal, že vysoký podiel slovenských ambulancií (84.4%)

s klinickým laboratóriom vôbec nespôlpracuje (nanajvýš každý štrnásty) a s kontrolou kvality testovania pomáha laboratórium iba každému jedenástemu. Viac ako polovica tejto skupiny tvrdí, že im laboratória nepomáhajú a druhá polovica si myslí, že žiadnu pomoc od laboratórií nepotrebujú. Tucet respondentov zo zostatku však priznal, že im laboratórium pomáha pri kontrole kvality, štyria uviedli, že im laboratórium poskytuje odborný servis, traja potvrdili, že im laboratórium pomáha s údržbou prístroja a jednému laboratórium poskytuje technickú pomoc.

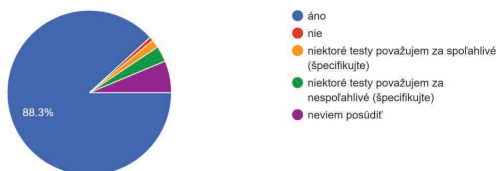
V časti o POC vzdelávaní a spolupráci s klinickými laboratóriami mali niektorí respondenti ešte doplňujúce poznámky. Ich názory uvádzame v pôvodnom znení bez úprav a bez komentára.

- Privítal by som školenie, kurz, seminár... na doplnenie informácií o POCT.
- Mám VŠ vzdelané sestry, zaučím ich jednak ja a potom dodávateľ. Myslím, že je to dostatočné.
- V otázke č. 15 je správne aj pregraduálne a postgraduálne atestačné vzdelávanie a kurzy. Z pohľadu ZP je však potrebné len zaškolenie dodávateľom.
- V situácii, keď nemám zástup na ambulancii, nie je reálne očakávať, že sa budem školíť na obsluhu POCT prístroja, aj keď by to bolo užitočné.
- Zle výsledky overujem v laboratóriu alebo opakovaným odberom

C. KVALITA POINT OF CARE TESTOVANIA

Otázka 19. Považujete kvalitu testov POC testovania za dostatočnú?

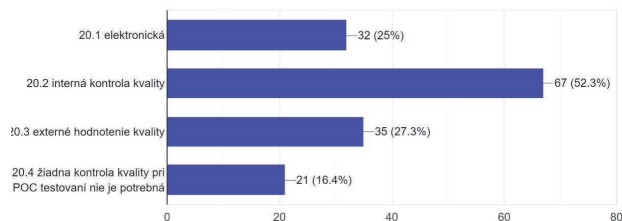
19. Považujete kvalitu testov POC testovania za dostatočnú?
128 responses



Skoro 90% užívateľov POCT v primárnej starostlivosti na Slovensku je presvedčených o dostatočnej kvalite POC testov. Ôsmi respondenti zo 128 nevedia kvalitu POCT výsledkov posúdiť, štyria považujú za nespoľahlivé iba niektoré testy (nešpecifikovali) a dvaja naopak, považujú niektoré testy za spoľahlivé (tiež nešpecifikovali ktoré). Iba jeden respondent je toho názoru, že POC testy sú celkovo nespoľahlivé.

Otázka 20. Aká kontrola kvality sa vykonáva pri POC testovaní

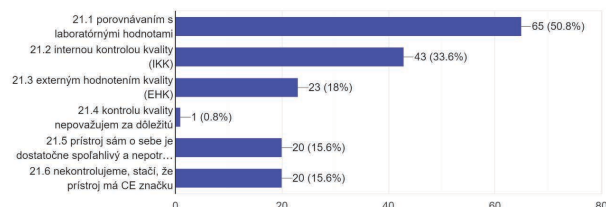
20. Aká kontrola kvality sa vykonáva pri POC testovaní
128 responses



Na otázku, aká kontrola kvality sa pri POC testovaní robí, viac ako polovica respondentov uviedla internú kontrolu kvality, štvrtina externé hodnotenie kvality a rovnaký počet sa domnieva, že stačí aj elektronická kontrola. Tá však na kontrolu celého procesu testovania absolútne nestačí. Elektronická kontrola slúži totiž na overenie funkcionality elektronických meracích obvodov prístroja. Táto kontrola netestuje analytický proces a nemôže nahradiť internú kontrolu kvality s reálnou vzorkou. Pritom každý šiesty užívateľ POCT je presvedčený, že žiadna kontrola kvality pri POC testovaní nie je potrebná.

Otázka 21. Kontrolujete kvalitu POCT testov vo svojej ambulancii (môžete označiť viaceré odpovede)

21. Kontrolujete kvalitu POCT testov vo svojej ambulancii (môžete označiť viaceré odpovede)
128 responses

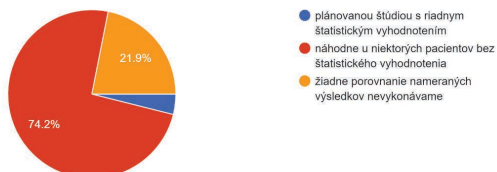


Napriek tomu, že v predchádzajúcej otázke polovica respondentov uviedla na prvom mieste internú kontrolu kvality, na tomto mieste rovnaký počet odpovedá mierne nekonzistentne, pretože vo svojej praxi kontroly kvality prioritizuje porovnanie hodnôt POCT výsledkov s laboratórnymi výsledkami. Spôsob, ako to robia, je rozvedený v nasledujúcej otázke. Na tomto mieste je ešte potrebné spomenúť, že len tretina uvádza, že vo svojej ambulancii vykonáva internú kontrolu kvality, iba každý šiesty aj externé hodnotenie kvality a viac ako tretina je presvedčená, že POCT prístroj je sám o sebe dostatočne spoľahlivý a nepotrebuje žiadnu kontrolu kvality a stačí, ak má CE označenie.. Toto mylne presvedčenie je potrebné uviesť na správnu mieru. CE značka nie je označenie kvality, ani

indikátor kvality, ani záruka kvality. CE označením výrobca preukazuje osvedčenie, že daný prístroj vyhovuje právnym predpisom Európskej únie. Preto sa pri výbere vhodného POCT prístroja dôrazne odporúča venovať pozornosť výberu vhodného prístroja na základe viacerých aspektov kvality daného prístroja (Balla, 2024).

Otázka 22. Porovnanie vlastných výsledkov POC testov s laboratórnymi výsledkami ste vykonali...

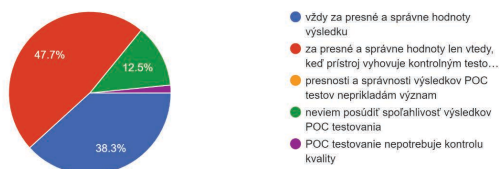
22. Porovnanie vlastných výsledkov POC testov s laboratórnymi výsledkami ste vykonali
128 responses



Správne pochopenie predchádzajúcej otázky o porovnaní hodnôt POCT výsledkov s laboratórnymi výsledkami si vyžaduje nasledujúce doplnenie. Tri štvrtiny užívateľov POCT ju robí náhodne u niektorých pacientov a bez štatistického vyhodnotenia. Zostatok nevykonáva žiadne porovnanie s laboratórnou metódou. Je potrebné uviesť, že porovnanie hodnôt s laboratórnou metódou (slúžiacou ako určená referenčná metóda) sa vykonáva na súbore pacientov pomocou tých istých vzoriek, ktoré sa v rovnakom čase vyšetrí na POCT prístroji a na laboratórnom analyzátoře. Namerané hodnoty sa vyhodnocujú štatisticky (štandardné párové testy, regresná analýza) alebo graficky (Youdenov graf).

Otázka 23. Číselné hodnoty merania na displeji POCT prístroja považujem

23. Číselné hodnoty merania na displeji POCT prístroja považujem
128 responses

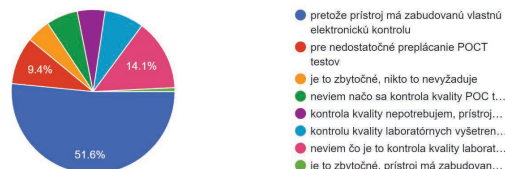


Číselné hodnoty na displeji meracieho prístroja považuje za presné a správne polovica POCT užívateľov vtedy, ak prístroj vyhovuje kontrolným testom. Nie je však špecifikované, akým kontrolným testom (IKK, EHK, alebo jednoduchá komparácia s výsledkom laboratória)? Len o 10% menšia skupina považuje číselné výsledky na displeji vždy za presné a správne aj bez overenia kontrolou kvality. Každý

dý ôsmy respondent uviedol, spoľahlivosť POC testovania nevie posúdiť.

Otázka 24. Dôvody, pre ktoré sa nevykonáva kontrola kvality

24. Kontrolu kvality testov nevykonávame
128 responses



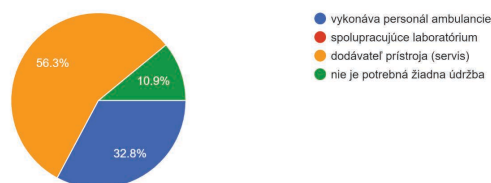
Trochu nepríjemným zistením je fakt, že viac ako polovica zúčastnených respondentov žiadnu kontrolu kvality nevykonáva a postačuje mu len zabudovaná elektronická kontrola. Tá však nekontroluje celý proces testovania, ale iba elektronickú funkcionálnosť prístroja počas merania. Táto kontrola môže preukazovať funkčnú správnosť merania, ale nie správnosť celého procesu testovania. Absenciu kontroly kvality odôvodňuje každý desiaty prevádzkovateľ POCT nedostatočným preplácaním POC testovania, každý siedmy sa vyjadril, že nevie čo je to kontrola kvality a každý dvadsiaty je presvedčený, že kontrola kvality je zbytočná, pretože „to nikto nevyžaduje“. Každý trinásť vie, že kontrolu kvality robia len v laboratóriu a každý osemnásť tvrdí, že kontrola kvality nepotrebuje, lebo prístroj ukazuje na displeji vždy presný výsledok.

Legenda

- 24.1 pretože prístroj má zabudovanú vlastnú elektronickú kontrolu.
- 24.2 pre nedostatočné preplácanie POCT testov.
- 24.3 je to zbytočné, nikto to nevyžaduje.
- 24.4 neviem na čo sa kontrola kvality POC testov robí.
- 24.5 kontrola kvality nepotrebujem, prístroj ukazuje na displeji vždy presný výsledok.
- 24.6 kontrolu kvality laboratórných vyšetrení robia len v laboratóriu.
- 24.7 neviem čo je to kontrola kvality laboratórných vyšetrení.

Otázka 25. Pravidelná a preventívna údržba POCT prístroja na ambulancii

25. Pravidelnú a preventívnu údržbu POCT prístroja na ambulancii
128 responses

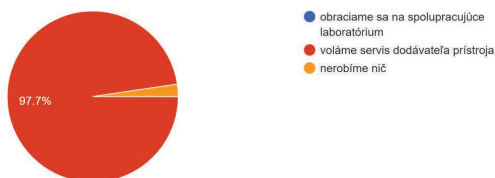


Väčšina prevádzkovateľov ponecháva údržbu prístroja na dodávateľa (servis), ale 10,9 % si myslí, že prístroj ne-

potrebuje žiadnu údržbu. Tretina prevádzkovateľov si však robí pravidelnú preventívnu údržbu sama a dodávateľský servis volá až v prípade problémov s meraním. Nikto nerieši údržbu alebo meracie problémy s laboratóriom.

Otázka 26. V prípade problémov s meraním na POCT prístroji

26. V prípade problémov s meraním na POCT prístroji
128 responses



Všetci volajú servis dodávateľa (výrobcu) prístroja, alebo nerobia nič.

ZÁVER

Nakoľko dotazník obsahoval jednoduché formulácie vo forme otázok a odpovedí, existoval predpoklad, že vyplnenie dotazníka nezaberie viac ako 5-10 minút času. Pri vyplňovaní dotazníka sme respondentov požiadali o dodržiavanie konzistentnosti v odpovediach, čo sa globálne (až na malé výnimky v kontrole kvality a vzdelávaní personálu) podarilo. V úsilí o plnú anonymitu sme sa vyvarovali osobných otázok o veku a pohlaví respondentov, čo môže mať vzhľadom na vysoký podiel staršej generácie lekárov v primárnej sfére zdravotnej starostlivosti a jej prirodzeného nezájmu o nové trendy testovania na ambulancii istý vplyv. Tvrdenie o vplyve vekovej kategórie preto nemáme prieskumom potvrdené. Z dôvodu skrátenia dotazníka sme vypustili niektoré otázky o jednotkách vyjadrovania výsledkov, o ich vzájomných prepočtoch, vplyve na zmeny referenčných hodnôt a cut-off, o kritických hodnotách a ich posudzovaní.

V odpovediach na otázky, položené v dotazníku, sa odzrkadlila pestrosť názorov, z ktorých bolo možné v zásadných otázkach vytvoriť klastre potvrdzujúce všeobecné poznatky aj zo zahraničia. Názorové hladiny odzrkadľujú situáciu testovania na mieste u všeobecných lekárov pre dospelých. Pre ich relevantnosť nie je dôležitá kvantita, ale kvalita. Názorová hladina a odozva respondentov na samotný dotazník bola veľmi pozitívna. Uvádzame poznámky a odkazy respondentov v pôvodnom znení a bez nášho komentára.

- Korektný.
- Spokojnosť 👍.
- Niektoré otázky nemajú logiku.
- DOBRÝ.
- V poriadku.
- Dá sa.
- Dobrý.
- Tento dotazník je niečo úplne nové a odhaľuje výrazné nedostatky v celom systéme - zavedenie POCT prístrojov, ich kontrola.
- Prínosný.
- Zmysluplný.
- Niektoré otázky nie sú jednoznačné.
- Chýbajú niektoré možnosti na odpovede. Nie je taká akú by sme potrebovali vybrať.
- O.K.
- A čo s tým ďalej? Ďakujem.
- Striedate POC a POCT čo bolo pre mňa mätúce.
- Každé riešenie musí mať podklad. Prijal by som dotazník o práci všeobecného lekára, zmapovanie a prioritizácia na riešenie problémov "na stole".
- Nakoľko máme laboratórium hneď vedľa ambulancie, prístroje používam minimálne.
- Nápomocný.
- Vhodný.
- Zaujímalo by ma účel dotazníka na kontrolu kvality testov a údržba.
- Nevýznamný.
- Kvalitný.
- Otázka č.20 - ťažko vybrať správnu odpoveď.
- Užitočný.
- Keď prístroj nevyužívam, lebo práca s ním je komplikovaná, komponenty drahé, je to nerentabilné. Mám v poliklinike laboratórium, ktoré mi všetko čo potrebujem do hodiny vyšetří.
- Jednoduché a jasné otázky.

Na dôvažok, POC testovanie mimo nemocnice vykonávajú zdravotnícki pracovníci bez formálneho laboratórneho vzdelania, praxe, zručnosti a dostatočného praktického výcviku. Alarmujúce je zistenie, že takmer 85 % užívateľov POCT vôbec nespupracuje s klinickým laboratóriom. Nedostatočná edukácia a na niektorých miestach laická obsluha POCT prístrojov, chýbajúce laboratórne skúsenosti a analytická zručnosť POCT operátorov predstavujú najväčšie obavy o spoľahlivosť POC testovania (Lipták et al.,

2022). Takmer absolútne absentuje kontrola kvality a externé hodnotenie kvality odbornou inštitúciou.

Do prieskumu sa zapojili najmä lekári, ktorí už majú praktické skúsenosti s prevádzkou POCT vo svojich ambulanciách a k prostrediu, v ktorom POC testovanie na Slovensku prebieha, za vyjadrovali kriticky. Poznatky, vyplývajúce z prieskumu, svedčia o legislatívnom a regulačnom vákuu, ďalej o nedostatočnom finančnom ohodnotení POCT testov a o potrebe lepšej spolupráce s klinickými laboratóriami. Nevyhnutné je inštitucionálne vzdelávanie a kontrola kvality testovania. Vďaka rýchlosti, funkciám a umelej inteligencii sa POCT vyvíja čoraz sofistikovanejšie. Predpokladá sa, že v budúcnosti sa POCT stane súčasťou rutinného diagnostického procesu. POC testy sa rozšíria do viacerých terapeutických oblastí, dokonca si ich budú vykonávať sami pacienti.

POĎAKOVANIE

Autori vyjadrujú svoje úprimné poďakovanie všetkým účastníkom prieskumnej dotazníkovej akcie za ich účasť, čas venovaný pri vyplnení dotazníka, názory a ich kritické vyjadrenie a skúsenosti s POC testovaním, s ktorými sa boli ochotní podeliť.

LITERATÚRA

1. Balla, J. POCT - TESTOVANIE PRI PACIENTOVI. Časť I: Prehľad súčasného stavu a trendov implementácie, organizácie a regulácie POC testovania v zdravotníckych systémoch vyspelých krajín. LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA, XXIX, 1, 2024: 30–55. <https://doi.org/10.5281/zenodo.12531557>
2. Balla, J. POCT - TESTOVANIE PRI PACIENTOVI. Časť II: Stratégia implementácie POC testovania v zdravotníckych zariadeniach. LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA, XXIX, 1, 2024. V tlači.
3. Lingervelder D, Koffijberg H, Kusters R. et al. Point-of-care testing in primary care: A systematic review on implementation aspects addressed in test evaluations. *Int J Clin Pract.* 2019;73:e13392. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13392>
4. Lipták, D., Zanošvit, R., Kaňuch, J., Balla, J. [POCT dotazník](#). 2022
5. Vyhláška Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky o minimálnych požiadavkách na personálne zabezpečenie a materiálno-technické vybavenie jednotlivých druhov zdravotníckych zariadení. 428/2006 Z.z.

sebia

Automatizácia *spĺňajúca Vaše potreby*

CAPILLARYS **3**
OCTA / TERA



Interlab G26

HYDRASYS 2 *SCAN FOCUSING*



Vysoká kapacita
& autonómia



Automatizované ovládanie
prístrojov



Jednoduchá správa
použitých reagensí



Optimalizácia pracovného
postupu



Software pre správu
výsledkov a komunikáciu s LIS



Ústretový servis a aplikačná
podpora

Multiparametrové prístroje so širokou škálou testov

- HbA1c z venóznej a kapilárnej krvi (kapilárna elektroforéza)
- CDT/CDT_{IFCC} (kapilárna elektroforéza)
- Elektroforéza bielkovín séra a moču
- Imunofixácia / Imunotypizácia bielkovín séra a moču
- Elektroforéza hemoglobínu z plnej krvi

sebia

The new language of life

...pre komplexne dokonalé laboratórium sú dôležité detaily

**automatické ELISA readre • automatizovaná močová analýza • analyzátory HbA1c
osmometre • glukózové analyzátory • diagnostika gastrointestinálnych ochorení**



FUS 3000

hybridný močový analyzátor

- integrovaná fyzikálna, chemická analýza a analýza sedimentu

ThunderBolt

dvojplatničkový ELISA automat, otvorená inovatívna platforma

- flexibilný software umožňujúci naprogramovať širokú škálu protokolov



Osmo Station OM-6060

automatický analyzátor osmolality z primárnych skúmaviek

- žiaden spotrebný materiál
- tichá prevádzka

Osmomat 3000

osmometer

- rokmi preverená kvalita
- ekonomická prevádzka



Eu-Turbo

turbidimetrický analyzátor

- turbidimetrická analýza z primárnych skúmaviek



Super GL2

*najpoužívanejšie
glukózové
analyzátory*

EU-Fast reader

*kvantitatívny reader
pre rýchle testy*



- kalprotektín • pankreatická elastáza • FOB kvantita • H.pylori kvantita
- monitoring biologickej liečby (Infliximab/ Adalimumab)



Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 217–225

HISTÓRIA ODDELENIA KLINICKEJ BIOCHÉMIE VO FAKULTNEJ NEMOCNICI J.A.REIMANA V PREŠOVE

HISTORY OF THE DEPARTMENT OF CLINICAL BIOCHEMISTRY AT THE J.A.REIMAN UNIVERSITY HOSPITAL IN PREŠOV



Hedviga Pivovarníková

Fakultná nemocnica s poliklinikou J.A. Reimana Prešov

hedviga.pivovarnikova12@gmail.com

SÚHRN

Klinická biochémia sa ako samostatný lekársky odbor formovala v 50. a 60. rokoch minulého storočia. Najprv bola súčasťou internej medicíny, ale pri raste počtu a náročnosti vyšetrovacích metód vznikla potreba organizačného osamostatnenia sa oddelení klinickej biochémie.

Najväčšie zmeny v odbore možno pozorovať v priebehu posledných rokov, keď došlo k nesmiernemu rozvoju prístrojovej techniky. Klinická biochémia bola a je priekopníkom v zavádzaní výpočtovej techniky v spracovávaní a interpretácii dát. Pracovisko klinickej biochémie v Prešove podľa dostupných dokumentov vzniklo v roku 1959.

V 60. a 70. rokoch dosiahla vrchol enzýmová diagnostika. Ďalším odborom, ktorý sa začal rozvíjať, bolo vyšetrenie vnútorného prostredia, hlavne testovanie krvných plynov („milieu intérieur“) je termín, ktorého autorom je francúzsky fyziológ Claude Bernard (1813-1878).

V 80. rokoch sa začal rozvoj a rozsiahle využívanie imunochemických metód.

Doménou 90. rokov bola klinická aplikácia DNA-diagnostiky, predovšetkým vďaka objavu polymerázovej reťazovej reakcie (PCR). Na uvedených faktoch možno demonštrovať, že laboratórne odbory, ktoré sa pôvodne od seba

vzďaľovali, sa zase zblížujú a stretávajú sa na molekulárnej úrovni. Dochádza k mohutnému rozvoju automatizácie a informatizácie prevádzky oddelenia.

Po reforme zdravotníctva v roku 2004 došlo k „odštatneniu“ nemocničného laboratória, ktoré už pokračovalo v rámci menších sietí laboratórií až napokon sa stalo súčasťou nadnárodnej spoločnosti.

Súčasnú obdobia sa vo všeobecnosti vyznačuje integráciou analytických systémov do jedného celku, zavedením využívania čiarového kódu na identifikáciu vzoriek biologických materiálov a tiež elektronickej žiadanky z oddelení a ambulancií fakultnej nemocnice. Klinická biochémia predstavuje najväčšie objemy testov v laboratórnej medicíne. Je tiež základom väčšiny klinických rozhodnutí, ktoré sú ovplyvnené laboratórnymi výsledkami. Oddelenie počas celej svojej histórie participovalo na viacerých výskumných úlohách v rámci spolupráce s ostatnými oddeleniami. Pri pohľade do budúcnosti sa predpokladá trend aj smerom k vysoko personalizovanému vzdelávaniu pacientov.

Kľúčové slová: história; biochémia; laboratórium; automatizácia; informatizácia

ABSTRACT

Clinical biochemistry was formed as an independent medical discipline in the 1950s and 1960s. First it was a part of internal medicine, but with the growth in the number and complexity of investigative methods, there was a need of organizational independence of clinical biochemistry departments. The greatest changes in the field can be observed during the last years, when there has been a tremendous development of instrumentation technology. Clinical biochemistry was and is a pioneer in the introduction of computer technology in data processing and interpretation. According to available documents, the Department of Clinical Biochemistry was established in 1959.

Enzyme diagnostics reached its peak in the 1960s and 1970s. Another field that began to develop was the investigation of the internal environment, especially blood gas testing („milieu intérieur) is a term coined by a French physiologist Claude Bernard (1813-1878).

In the 1980s, the development and extensive use of immunochemical methods began.

The clinical application of DNA-diagnostics was the domain of the 1990s, mainly due to the discovery of the polymerase chain reaction (PCR). It can be demonstrat-

ed from the above mentioned facts that laboratory disciplines that were originally distant from each other are converging and meeting again on the molecular level. There is a massive development of automation and computerisation of the department operation.

Following the 2004 health reform, the hospital laboratory was 'denationalised' and continued to operate within smaller networks of laboratories, eventually becoming part of a multinational company.

The current period is generally characterized by the integration of analytical systems into a single unit, introduction of the use of barcodes for the identification of samples of biological materials and also the electronic request from the departments and outpatient clinics of a University hospital. Clinical biochemistry accounts for the largest test volumes in laboratory medicine. It is also the basis of most clinical decisions that are influenced by laboratory results. Throughout its history, the department has participated in several research tasks in collaboration with other departments. Looking to the future, a trend towards highly personalized patient education is also foreseen.

Key words: history; biochemistry, laboratory, automation, computerization

História zdravotníctva v Prešove siaha do obdobia 15. storočia. V 18. a 19. storočí existovala na území mesta Prešov nemocnica s veľmi nízkou kapacitou postelí. Z tohto dôvodu bolo v roku 1899 rozhodnuté o výstavbe novej väčšej nemocnice, ktorá dostala názov Alžbetina nemocnica na Baštovej ulici.

Na počesť 10. výročia vzniku ČSR bolo rozhodnuté o výstavbe centrálnej okresnej nemocnice. Dňa 28. 10. 1928 bol položený základný kameň a koncom roka 1934 bola nemocnica dokončená. Po slávnostnom odovzdaní nemocnice v decembri 1934, ktorá bola pomenovaná po prvom československom prezidentovi T. G. Masarykovi, začala prevádzka nemocnice v januári 1935. Nemocničný komplex tvorilo sedem budov, z ktorých dve boli liečebné pavilóny a ostatné slúžili na technické zabezpečenie chodu nemocnice. Nemocnica mala oddelenie chirurgie, ďalšími boli oddelenia kožné, interné, infekčné, pre liečbu tuberkulózy a prosektúru, t.j. pitevnú a dezinfekčnú stanicu. Nemocnica mala 320 postelí a 120 pracovníkov, z kto-

rých bolo 14 lekárov a 36 ošetrovateľských pracovníkov. Ošetrovateľskú činnosť vykonávali rehoľné sestry.

Okrem tejto nemocnice pôsobila v Prešove aj Vojenská nemocnica na terajšej Reimanovej ulici.

V roku 1947, v rámci reorganizácie zdravotníctva, vznikol Krajský ústav národného zdravia, ktorého súčasťou sa stala aj nemocnica a tiež malá mestská nemocnica v areáli bývalej Vojenskej nemocnice na Reimanovej ulici. Po vzniku okresu Prešov v roku 1960 bol zriadený Okresný ústav národného zdravia, ktorého najväčším zdravotníckym zariadením sa stala Nemocnica s poliklinikou. Táto zaznamenala v ďalších rokoch výrazný rozvoj, najmä vo výstavbe nových nemocničných objektov.

V roku 1963 bol do prevádzky uvedený neurologický pavilón, v ktorom vykonávalo svoju činnosť aj oddelenie rehabilitácie, v roku 1965 bol dokončený pavilón psychiatrie, v roku 1967 pavilón interného oddelenia, v roku 1981 geriatrický pavilón so začlenením viacerých nemocničných oddelení, v roku **1986 pavilón klinickej biochémie**

a v roku 1989 chirurgický monoblok, kde boli lokalizované chirurgické a operačné oddelenia, ako aj **oddelenia spoločných vyšetrovacích a liečebných zložiek (SVALZ)**, anesteziologické a resuscitačné oddelenie a ďalšie pracoviská. V roku 1993 bola ukončená výstavba pavilónu ťažkých zariadení a v roku 2002 výstavba detského pavilónu.

V roku 1971 bola Nemocnica s poliklinikou zaradená ako nemocnica 3. typu, čo v tej dobe zodpovedalo úrovni fakultných nemocníc, poskytovala špecializované služby pre spádové okresy severovýchodnej časti Slovenska.

V roku 1991 sa Nemocnica s poliklinikou stala samostatnou štátnou organizáciou zriadenou Ministerstvom zdravotníctva SR. V roku 1997, na počesť slávneho prešovského lekára, bola nemocnica premenovaná na Nemocnicu s poliklinikou Jána Adama Reimana Prešov.

Posledným výrazným medzníkom v živote nemocnice bolo jej povýšenie na **fakultnú nemocnicu**, ktoré sa uskutočnilo **1. 9. 2002**, v súvislosti so zriadením Fakulty zdravotníctva Prešovskej univerzity.

V roku 2025 oslávi FNsP J. A. Reimana 90. výročie svojho vzniku. Fakultná nemocnica s poliklinikou J. A. Reimana Prešov prezentuje trend neustáleho zlepšovania, skvalitňovania a zefektívňovania činnosti v prospech pacientov obhájením certifikátov systému manažérstva kvality ISO 9001 a systému environmentálneho manažérstva ISO 14001, zaväzujúce k trvalému zlepšovaniu poskytovaných služieb.

Z dostupných dokumentov a podľa dekrétov MUDr. Júliusa Matiska, ktorý zastával v roku **1959** funkciu prednostu biochemického laboratória vo vtedajšom Krajskom ústave národného zdravia a Krajskej nemocnici v Prešove, sa predpokladá **vznik biochemického laboratória** v tomto období. Súčasťou oddelenia klinickej biochémie (OKB) bola aj hematológia, samostatné bolo transfúzne oddelenie. Asi v roku 1975 bola k transfúznemu oddeleniu pripojená aj hematológia.

V dostupných dekrétoch sa v roku 1971 spomína biochemické nemocničné oddelenie NsP III. typu, na ktorom bol do roku 1975 primárom MUDr. Július Matisko. Po jeho úmrtí (1975) sa stal primárom oddelenia jeho bývalý zástupca MUDr. Alojz Lazorík, pôsobiaci vo funkcii do roku 1999. Od tohto roku bola primárkou OKB dovtedajšia zástupkyňa MUDr. Hedviga Pivovarníková, jej zástupkyňou sa stala Ing, Anna Cabúková. Druhou samostatne pracujúcou lekárkou na OKB bola MUDr. Ľudmila Prokopčáková a vrchnou laborantkou p. Eva Nehilová.

Pracovníci OKB pod vedením svojich primárov aktívne prezentovali odborné poznatky na domácich a zahraničných podujatiach – kongresoch, a to formou posterov alebo prednášok. Od roku 1999 sa opäť obnovila tradícia spoločných krajských seminárov Prešovského a Košického kraja, ktoré sa spravidla konali dvakrát ročne.

Lekári a iní odborní pracovníci OKB aktívne participovali na viacerých projektoch, možno spomenúť napr. projekty „Referenčné hodnoty vybraných biochemických parametrov pre odporúčané štandardizované a unifikované metódy v ČSFR 1991“ a „Mapovanie Slovenska z pohľadu prevalencie lipidových rizikových faktorov aterosklerózy 1. 10. 1996— 1. 4. 1997“.

Niektorí pracovníci OKB boli členmi výboru Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie (SSKB) a iných medzinárodných spoločností klinickej chémie a laboratórnej medicíny. Tiež sa podieľali na vydávaní odborného časopisu SSKB „Laboratórna diagnostika“. Niektorí z nich sú dodnes aktívni v jeho redakčnej rade (MUDr. H. Pivovarníková, Ing. Ján Balla).

Oddelenie klinickej biochémie pozostávalo v minulosti z centrálného pracoviska a viacerých satelitných pracovísk v rámci celého mesta.

Centrálné pracovisko bolo lokalizované v internom pavilóne „A“ v priestoroch bývalého kardiocentra na prízemí. V súčasnosti po komplexnej rekonštrukcii sú v celom pavilóne umiestnené oddelenia klinickej hematológie a klinickej onkológie aj so špecializovanými ambulanciami.

„Vysunutých“ pracovísk bolo v rámci nemocnice a poliklinik niekoľko:

1. laboratórium v psychiatrickej liečebni + toxikologické laboratórium a endokrinologické laboratórium,
2. laboratórium na infekčnom oddelení,
3. laboratórium na neurologickom oddelení,
4. urgentné laboratórium pri ARO na Reimanovej ul.,
5. laboratórium na poliklinike na Reimanovej ulici, vyšetrenia sa tu vykonávali aj pre chirurgiu a traumatológiu, ktoré boli t. č. v tzv. vojenskej nemocnici,
6. laboratórium na Poliklinike na ul. Červenej armády (Levočská ul) v Prešove,
7. laboratórium v detskej nemocnici na Požiarnickej ul.,
8. laboratórium pre Polikliniky Sabinov a Lipany,
9. laboratórium na Sídlišku III. - Centrum,
10. laboratórium na Sídlišku Sekčov,
11. laboratórium na Sídlišku Šváby.

Pracovníci:

Lekári: MUDr. Július Matisko, MUDr. Alojz Lazorík, MUDr. Július Svätójánsky, MUDr. Katarína Lengová, MUDr. Anna Drábová, MUDr. Hedviga Pivovarníková, MUDr. Ľudmila Prokopčáková.

Odborní pracovníci: Mgr. Edita Šipláková, Mgr. Mária Vasil'ová, Mgr. Želmíra Repková, RNDr. Jana Kinerová, RNDr. Lýdia Makučová, Ing. Anna Cabúková, Ing. Daniela Hudáková, Ing. Lýdia Fejerčáková, Ing. Ján Balla, RNDr. Anatolij Goldenberg.

Laborantky, technik, sanitárky, upratovačky.

Primári OKB v nemocnici v Prešove chronologicky:

MUDr. Matisko Július 1959 – 1975

MUDr. Lazorík Alojz 1975 – 1999

MUDr. Pivovarníková Hedviga 1999 – 2004.

Od r. **2004** primárka OKB FNŠP J.A.Reimana v Prešove, následne primárka klinického laboratória v privatej sfére až do konca r. 2022 - vedúca lekárka privateho klinického laboratória v Prešove, klinická biochemička, odborná garantka. Išlo o samostatné private zariadenie spoločných vyšetrovacích a liečebných zložiek v odbore klinická biochémia, klinická hematológia, klinická mikrobiológia - s 24-hodinovou nepretržitou prevádzkou;

Vedúce laborantky:

Spišáková Božena

Kancírová Danuše

Virbová Mária

Drbjaková Mária

Nehilová Eva

Vyšetrenia boli v tom čase vykonávané manuálne v sériách, na urgentné vzorky boli malé možnosti, metódy neboli unifikované ani štandardizované. Zavádzať alebo vylepšovať nové postupy bolo úlohou vysokoškolsky vzdelaných pracovníkov - nelekárov (VŠ), ktorí vyhľadávali a skúšali nové metódy publikované v odborných časopisoch.

Vo februári 1975 obohatil prístrojové zariadenie prvý digitálny prietokový fotometer na oddelení - KIPP - ZON-NEN. Znamenal kvalitatívnu zmenu oproti ručičkovým SPEKOLOM. Merania boli vykonávané a kontrolované VŠ, bolo možné meranie na nastavený faktor. Tým začala au-

tomatizácia na OKB. Začala sa aj doba štandardizácie metód, bolo potrebné vyhľadávať a do praxe zavádzať nové celosvetovo uznávané metódy odporúčané Medzinárodnou federáciou klinickej chémie a laboratórnej medicíny (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine - IFCC). Rozširovala sa aj paleta vyšetrení.

Začiatkom 70. rokov OKB disponovalo prístrojmi, napr.: Spekol - spektrofotometer, fotometer Pulfrich, plameňový fotometer Zeiss s otvoreným plameňom (acetylén), polarimeter (stanovenie glukózy v moči). Najmodernejším prístrojom bol tzv. „ASTRUP“ (ako sme ho bežne v laboratóriu volali) - analyzátor krvných plynov od dánskej firmy Radiometer.

Prvým predstaviteľom prístrojovej automatizácie v laboratóriu bol systém LKB- fotometer s podávaním vzoriek a s tlačou.

Chronológia rozvoja oddelenia:

4.3.1986 slávnostné otvorenie nového pavilónu OKB pri Internom oddelení,

1986 - prvý automatický analyzátor HITACHI 704, automatizácia v pravom „slova zmysle“,

1988 - pribudlo pracovisko v chirurgickom pavilóne - urgentné laboratórium, zrušili sa laboratória na Reimanevej ul., neskôr aj na neurologickom oddelení,

1996 - pribudol imunochemický analyzátor Elecsys a biochemický analyzátor HITACHI 717.

1999 - pribudol automatický analyzátor HITACHI 917,

2000 - boli zrušené všetky vyššie uvedené vysunuté pracoviská,

2001 - z Psychiatrickej nemocnice sa toxikologické laboratórium presťahovalo do priestorov centrálneho laboratória,

2001 - laboratórium v zrekonštruovanom detskom oddelení na Šafárikovej ul,

2003 - presťahované laboratórium z chirurgického pavilónu, zostala tam iba urgentná diagnostika.

Uvoľnené priestory OKB v chirurgickom pavilóne boli využité pre účely invazívnej kardiológie.

1.7.2003 - pričlenené laboratórium v bývalej Psychiatrickej nemocnici k OKB FNŠP Prešov.

Ako bolo uvedené v úvode, doba, keď boli laboratória striktné rozdelené podľa jednotlivých odborností, je už vo svete väčšinou minulosťou. Trend združovania laboratórií do vyšších celkov sa začal aj v prešovskej FNŠP, keď v roku

2004 bolo vytvorené integrované laboratórium klinickej biochémie a klinickej mikrobiológie.

ZÁVER

Po roku 2004 „pôvodné nemocničné“ laboratórium prešlo mnohými privátnymi zmenami aj názvami – Aliatros, Laboratóriá Aliatros, Futurelab, synlab slovakia s.r.o. Spočiatku privátne laboratórium Aliatros poskytovalo laboratórne služby celej nemocnici v plnom rozsahu, v neskoršom období sa podieľalo iba na poskytovaní služieb niekoľkým oddeleniam nemocnice.

Pre FNŠP J.A.Reimana sú v súčasnosti laboratórne služby zabezpečené viacerými privátnymi poskytovateľmi súčasne. Aké budú nastolené ďalšie trendy poskytovania laboratórnych služieb pri súčasnej absencii vlastných laboratórií (biochemického, mikrobiologického a histopatolo-

gického), poskytne až realizácia novej komplexnej nemocnice, ktorá je v procese stavebnej prípravy.

Podakovanie

Ďakujem všetkým, s ktorými som mohla spolupracovať.

LITERATÚRA

1. Peter Biroš, Jozef Soták, Walter Linkesch, Vladimír Goč (eds). 2004. Sedemdesiatka prešovskej nemocnice : 1935-2005. EXPRES PRINT, 2004, Prešov, 1. vyd., 258 s. ISBN 80-968400-9-6 (v skratke 70PO). Kap.Oddelenie klinickej biochémie (autor: Hedviga Pivovarníková), s. 101-103.
2. Linkesch Walter, Németh František, 2003. História Spolku lekárov v Prešove.
3. Fotografie z archívu autorky

PRÍLOHA



Obrázok 1. Fakultná nemocnica s poliklinikou J.A.Reimana v Prešove v súčasnosti



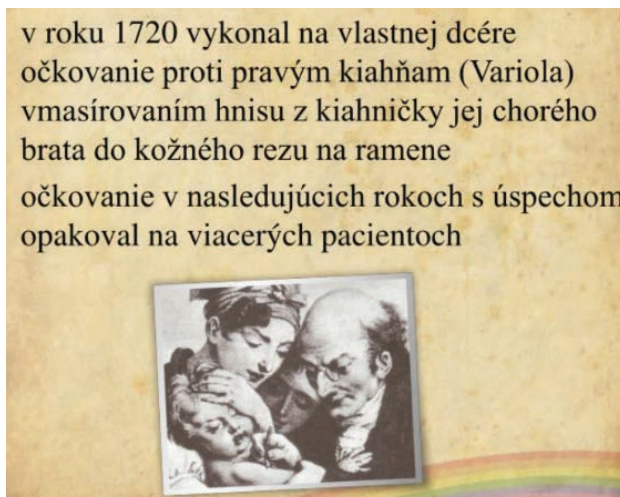
Obrázok 2. Bývalá dvojpodlažná budova OKB v Prešove 2003 (obr.vľavo), t.č. Obrázok 3. (2024) po rekonštrukcii slúži ako špecializované pracovisko pre aplikáciu chemoterapie, imunomodulačnej, biologickej liečby a ako oddelenie prípravy cytostik (obr.vpravo)



Obrázok 3. (2024) po rekonštrukcii slúži ako špecializované pracovisko pre aplikáciu chemoterapie, imunomodulačnej, biologickej liečby a ako oddelenie prípravy cytostik (obr.vpravo)



Obrázok 4. Alžbetina nemocnica na Baštovej ulici v Prešove (od. r. 1899)



Obrázok 6. J.A. Rayman - očkovanie vlastnej dcéry



Obrázok 7. Dom v Prešove, v ktorom sa J.A. Rayman 23.apríla 1690 narodil a pôsobil. Jeho meno dnes nesie Reimanova ulica v Prešove (spája Masarykovu a Východnú), Fakultná nemocnica J. A. Reimana a Gymnázium J.A. Raymana



Obrázok 5. Pamätná tabuľa pri príležitosti 250. výročia 1.variolizácie



Obrázok 8. Pamätná Raymanova tabuľa je umiestnená na historickom meštianskom dome č.68, ktorý sa nachádza na Hlavnej ulici a je súčasťou radovej zástavby v centre Prešova už od 16. storočia



Obrázok 9. Masarykova nemocnica v Prešove (od r. 1935)



Obrázok 12. IFCC-WorldLab, 17. medzinárodný kongres klinickej chémie a laboratórnej medicíny, 6.-11.jún 1999, Florencia, Taliansko. Zľava: v podrepe: Ing. M. Farkaš (Trebišov), prof. G.Kováč (Bratislava), za nimi zľava: Ing. P. Blažiček (Bratislava), MUDr. A. Stecová (Bratislava), Ing. J. Neubauer (Roche Bratislava), MUDr. H.Pivovarníková (Prešov), MUDr.A. Kasanická (Bratislava), MUDr. E.Poláková (Bratislava) a MUDr. A.Lazorík (Prešov)



Obrázok 10. Pamätná tabuľa, ktorá pripomína odovzdanie Okresnej verejnej nemocnice T.G.Masaryka do užívania



Obrázok 13. IFCC-WorldLab, 17. medzinárodný kongres klinickej chémie a laboratórnej medicíny, 6.-11.jún 1999, Florencia, Taliansko. Zľava: prim. MUDr. H. Pivovarníková, bývalý prim. MUDr. A.Lazorík



Obrázok 11. Stretnutie užívateľov prístrojov a podpora edukácie vo Veldene am Wörther See v Rakúsku 1997. Zľava: MUDr. C. Šalapa (z Košíc), MUDr. H. Pivovarníková, MUDr. A. Lazorík (oba z Prešova)



Obrázok 14. K odborným stretnutiam patrili aj spoločenské aktivity Benátky – Taliansko, zľava: MUDr. A. Lazorík, (Prešov), MUDr. M. Babják (Humenné), doc. MUDr. J.Klímko (Košice), MUDr. H. Pivovarníková (Prešov)



Obrázok 15. Pohľad do laboratória OKB pri automatickom analyzátore pre rutinnú biochémiu
Sprava: Ing. J. Balla, laborantka E. Jusková (sediaca),
MUDr. H. Pivovarníková (stojaca pri analyzátore),
Mgr. Ž. Repková (pri dverách)



Obrázok 17. Prof. Ivan Pecháň – vzácný človek, vedec, pedagóg a školiteľ našej generácie a MUDr. H. Pivovarníková na „Purkyňovke“ v Prešove 21.2.2001



Obrázok 16. Prof. Ivan Pecháň a účastníci v Prešove v hoteli Dukla - prednáška prof. Pecháňa „Biochemické monitorovanie pacienta po transplantácii srdca“, ktorá odznela na vedecko-pracovnej schôdzi Spolku lekárov v Prešove nazývanej aj „Purkyňovka“ 21.februára 2001.



Obrázok 18. Pri príležitosti osláv jubilea prof. I. Pecháňa v Bratislave v roku 2002
Zľava: MUDr. H. Pivovarníková, prof. I.Pecháň, vrchná laborantka OKB NÚSCH Bratislava L. Gašparovičová, MUDr. K. Daňová



Obrázok 19. Spomienka na jeden z mnohých krajských seminárov klinickej biochémie v Prešove 6.12.2002
Zľava: Ing.E. Varmusová (OKB Kvetnica), Ing.L. Fejerčáková (OKB Prešov), Ing.A. Cabúková (OKB Prešov), MUDr.C. Šalapa (OKB Košice), MUDr. H.Pivovarníková (OKB Prešov), Ing.V.Heriban (Roche Bratislava)



Obrázok 20. Účastníci krajského seminára klinickej biochémie v Prešove 6.12.2002
 V popredí Ing. J. Balla (OKB Prešov), za ním sprava MUDr. J. Frišnič (Prešov), RNDr. O.Rajecová (Roche Bratislava), MUDr. I. Ochodničan (OKB Stará Ľubovňa)



Obrázok 23. Aktivity medicínskeho odboru „Klinická biochémia“ – Na XIV.Kongrese SSKB 2022 prezidentka EFLM a IFCC - T. Ozben v hoteli Chopok v Nízkyh Tatrách



Obrázok 21. Kurz Dysliproteinémie a aterosklerózy 24.-26.11.2003 v Rajeckých Tepliciach usporadovaný pravidelne MUDr. J. Turayom (Zvolen)

Zľava: MUDr.M.Ostrožlíková (Bratislava), MUDr.J.Vindiš (Trenčín), MUDr. D. Drozda (Košice-Šaca), MUDr. E. Ďurovcová, MUDr. R.Lenártová (obe z Košíc), MUDr. H.Pivovarníková (Prešov), MUDr. J. Šaligová (Košice)



Obrázok 24. Súčasné aktivity medicínskeho odboru „Klinická biochémia“ – konferencia LABKVALITA 2023 v hoteli Horizont Resort vo Vysokých Tatrách

Zľava: prof. S. Oravec (hlavný odborník pre klinickú biochémiu), H.Pivovarníková (prezidentka SSKB a krajská odborníčka pre klinickú biochémiu pre VÚC Prešov), prof. M. Plebani (prezident EFLM), D.Magula (vedecký sekretár SSKB a krajský odborník pre klinickú biochémiu pre VÚC Nitra)



Obrázok 22. Kolektív Oddelenia klinickej biochémie v roku 2005 (už po odštátneí) pod vedením MUDr. Hedvivy Pivovarníkovej (v máji r. 2004 ukončené pôsobenie štátneho OKB, nástupcom bolo súkromné laboratórium/-á až po súčasnosť – r.2024 - v nemocnici v Prešove)



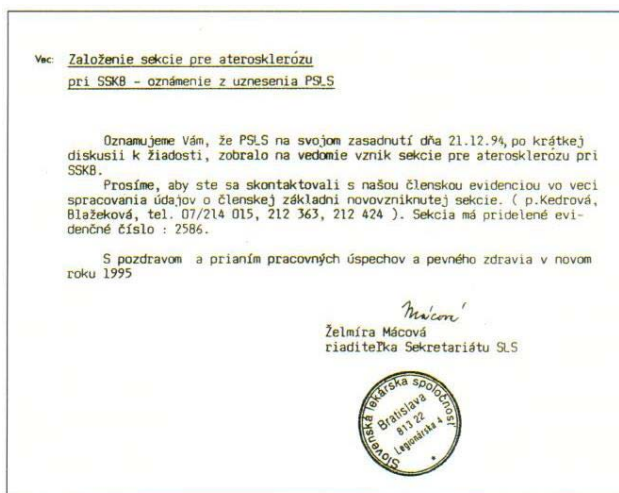
Laboratórna Diagnostika, XXIX, 2, 2024: 226–228

SEKCIA PRE ATEROSKLERÓZU PRI SSKB MÁ 30 ROKOV SLOVAK ATHEROSCLEROTIC SECTION OF THE SLOVAK SOCIETY OF CLINICAL BIOCHEMISTRY IS 30 YEARS OLD

Jozef Turay

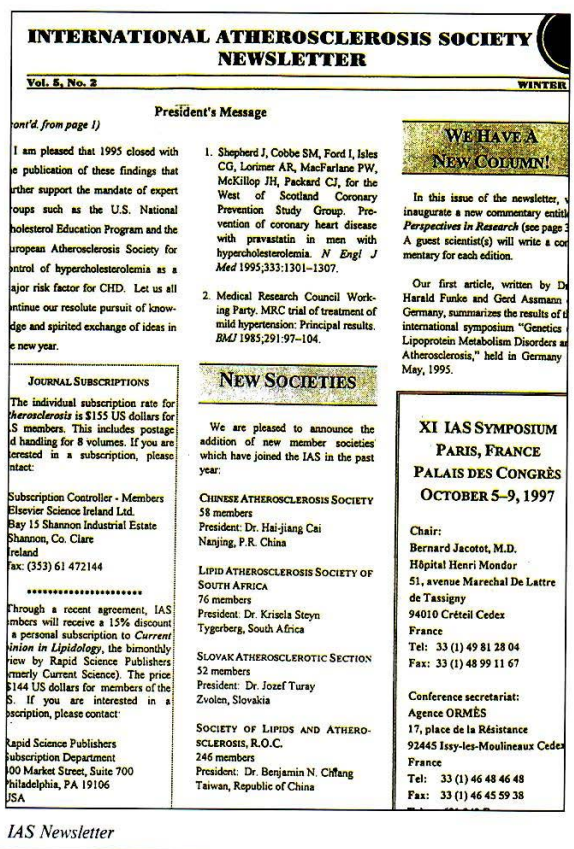
jturay@upcmil.sk

V roku 1994 bola z iniciatívy MUDr. Jozefa Turaya pri Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie (SSKB) založená Sekcia pre aterosklerózu, ktorá bola oficiálne schválená predsedníctvom Slovenskej lekárskej spoločnosti dňa 21.12.1994 (Obrázok 1)

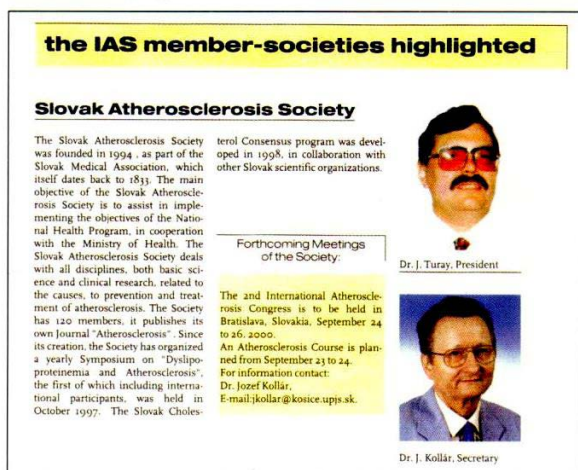


Obrázok 1 Zakladajúca listina Sekcie pre aterosklerózu pri SSKB

Významným medzníkom v histórii Sekcie bolo jej prijatie ako kolektívneho člena (s počtom 52 členov) do International Atherosclerosis Society (IAS) na zasadnutí IAS v Houstone (Texas, USA), (Obrázok 2 a 3).



Obrázok 2 Oznámenie o prijatí Sekcie pre aterosklerózu pri SSKB v bulletine Medzinárodnej spoločnosti pre aterosklerózu



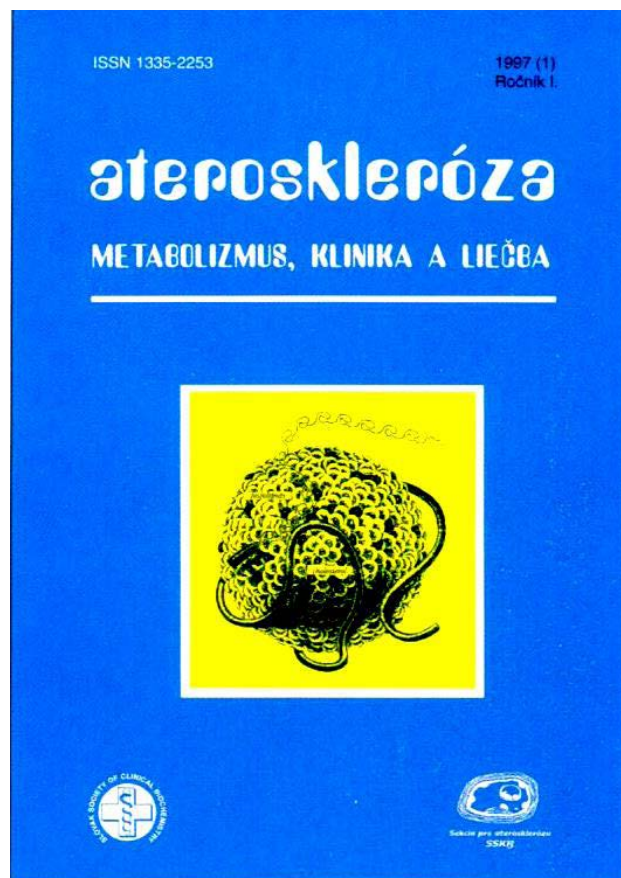
Obrázok 3 Informácia o aktivitách Sekcie pre aterosklerózu pri SSKB v bulletine Medzinárodnej spoločnosti pre aterosklerózu (IAS)

Sekcia počas svojej 30-ročnej existencie usporiadala 22 sympózií s názvom Dyslipoproteinémia a ateroskleróza, ďalšie štyri sympóziá s rovnomenným názvom aj s medzinárodnou účasťou. Pre lekárov a ďalších záujemcov z radov klinickej biochémie, ale aj iných medicínskych odborov usporiadala celkom deväť kurzov o dyslipoproteinémiách a ateroskleróze.

V roku 1997 začala Sekcia pre aterosklerózu pri SSKB vydávať vlastný časopis „**ATEROSKLERÓZA – metabolizmus, klinika a liečba**“ spoločne so Slovenskou spoločnosťou klinickej biochémie (Obrázok 4). Od roku 2004 je časopis Ateroskleróza vydávaný v spolupráci s Univerzitou Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach. Dvadsať rokov bol vedúcim redaktorom časopisu Ateroskleróza MUDr. Jozef Turay a odborným redaktorom doc. MUDr. Jozef Kollár, DrSc. Po dvadsiatom ročníku prebral vedenie časopisu Ateroskleróza prof. MUDr. Daniel Pella, PhD. a odborným redaktorom je doc. MUDr. Milan Kuchta, PhD.

V priebehu 30 rokov sa na podklade výsledkov volieb Slovenskej lekárskej spoločnosti na poste predsedu Sekcie pre aterosklerózu pri SSKB vystriedali viacerí lekári- klinici biochemici.

Prvým predsedom bol MUDr. Jozef Turay - zakladateľ Sekcie, v ďalších obdobiach to boli MUDr. Angela Molčanová PhD., doc. MUDr. Jozef Kollár, DrSc., prof. MUDr. Ingrid Šusterová, PhD., prof. MUDr. Stanislav Oravec, PhD. V období pred pandémiou COVID-19 sa prof. Šusterová vzdala funkcie predsedníčky Sekcie pre aterosklerózu. V období pandémie bola činnosť Sekcie len na osobných kontaktoch a kontaktoch s IAS s pravidelnými úhradami členských príspevkov, ktoré sa realizovali prostredníctvom



Obrázok 4 Obálka prvého čísla časopisu „Ateroskleróza – metabolizmus, klinika a liečba“ z roku 1997

Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie. V ostatných voľbách v roku 2023 bol za predsedu Sekcie pre aterosklerózu zvolený prof. Oravec.

V súčasnosti sa členovia pracovnej skupiny SSKB aj Sekcie pre aterosklerózu pri SSKB podieľajú na príprave návrhu odborného stanoviska na zmenu Friedewaldovej rovnice pre výpočet LDL-Cholesterolu za Martin-Hopkinsovu rovnicu, resp. Sampsonovej rovnicu a na záverečnú diskusiu na XV. kongrese SSKB v októbri 2024, v spolupráci s kardiológmi a diabetológmi.

....a namiesto záveru ešte niekoľko spomienok na moje profesionálne pôsobenie.

Je fascinujúce byť pri zrode medicínskeho odboru. V roku 1980 som inšpirovaný prednáškou (a následne publikáciou) prof. Avogara [1] začal pôsobiť v poradni – v ambulancii pre poruchy metabolizmu lipidov. V tom čase sa lipoproteínovým metabolizmom zaoberalo len málo lekárov, lebo neexistovali relevantné lieky okrem spochybňovaného klofibrátu, neexistovala ani relevantná

biochemická diagnostika lipidového metabolizmu okrem celkového cholesterolu. V čase, keď som v roku 1992 písal prvú slovenskú monografiu Dyslipoproteinémia a ateroskleróza [3], bol už rozšírený rad liekov na liečbu dyslipoproteinémií (cholestyramín, probucol, bezafibrát, fenofibrát, gemfibrozil, lovastatin), ktoré sa začali významne spájať s procesom aterosklerózy. Druhá monografia Dyslipoproteinémia a ateroskleróza- základy klinickej lipidológie, ktorú som napísal v roku 2021 [4] už obsahovala nielen rad významných liekov na liečbu dyslipoproteinémií a aterosklerózy (statíny o rôznej účinnosti a pleiotropných účinkoch, lieky znižujúce apoB, apoCIII, Lp(a), ezetimib, inhibítory PCSK-9, kyselina bempedoová, Gemkabén a iné.), ale boli už známe aj rutinné postupy stanovovania rôznych lipoproteínových frakcií a apolipoproteínov jednotlivých lipoproteínov. Účinnou liečbou a monitorovaním jednot-

livých biochemických ukazovateľov sa umožnilo dosiahnuť (a dosahovať) cieľové hodnoty aterogénnych lipoproteínov, čím sa aj lipidológia zaradila medzi medicínske disciplíny ako samostatný pododbor [2].

LITERATÚRA

1. Avogaro, P., Bon, G.B., Casalato, G.: Need for new classification of lipoprotein derangements in human atherosclerosis. In *Lancet*. 1981, s. 1257
2. Orringer, C.E et al.: Clinical Lipidology : A subspeciality whose time has come. In *J Lipid Clin.*, 9, 2015, 634-639
3. Turay, J.: Dyslipoproteinémia a ateroskleróza. *Stapro Pardubice*, 1992, 140 s.
4. Turay, J.: Dyslipoproteinémia a ateroskleróza- základy klinickej lipidológie. A- medi: Bratislava, 2021, 110 s.

Pod'akovanie

SSKB ďakuje partnerom za podporu pri organizovaní pravidelného odborného podujatia s medzinárodnou účasťou XV. KONGRES SSKB 2024 pod záštitou Európskej federácie klinickej chémie a laboratórnej medicíny a ministerky zdravotníctva SR Zuzany Dolinkovej.

generálnym partnerom

*Beckman Coulter
Snibe Diagnostic*

partnerom

*Roche Slovensko, s.r.o.
Abbott
SIEMENS Healthineers*

vystavovateľom

*Bio G, spol.s r.o.
BIOHEM
BioVendor
DiaSorin
Erba Lachema s.r.o.
Eurolab Lambda
Harmony
Nestlé
Radiometer
Randox
Sarstedt
SEBIA Slovakia, s.r.o.
Shimadzu
STAPRO
Thermo Fisher Diagnostics*

konanej 6. - 8. októbra 2024 v Demänovskej Doline v Nízkych Tatrách.