

# JARNÁ ŠKOLA DOKTORANDOV UPJŠ 2024

---



ZBORNÍK VEDECKÝCH PRÍSPEVKOV

**10. ROČNÍK**

4. - 7. 6. 2024 STARÁ LESNÁ

**UNIVERZITA PAVLA JOZEFA ŠAFÁRIKA V KOŠICIACH**



**UNIVERZITA  
PAVLA JOZEFA ŠAFÁRIKA  
V KOŠICIACH**

**JARNÁ ŠKOLA DOKTORANDOV 2024**

Zborník príspevkov z 10. ročníka

**Monika Halánová (ed.)**

**Košice 2024**

## JARNÁ ŠKOLA DOKTORANDOV UPJŠ 2024

### Zborník vedeckých príspevkov

#### Zostavovateľka zborníka:

prof. MVDr. Monika Halánová, PhD. - *Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach*

#### Recenzenti:

doc. Mgr. Markéta Andričíková, PhD.; RNDr. Michaela Bačovčinová PhD.;  
doc. MUDr. Anna Birková, PhD.; RNDr. Jana Borzová, PhD.; JUDr. Peter Čopko, PhD.;  
MUDr. Kinga Dedinská, PhD.; doc. JUDr. Ing. Jaroslav Dolný, PhD.; Mgr. Tomáš Dvorský, PhD.;  
Mgr. Patrícia Fogelová, PhD.; doc. JUDr. Richard Geffert, Ph.D.; RNDr. Radka Gorejová, PhD.;  
MUDr. Vladimír Haň, PhD.; RNDr. Miloš Jakubčín, PhD.; doc. RNDr. Ladislav Janovec, PhD.;  
doc. PhDr. Štefan Jusko, PhD.; Mgr. Nikolas Király, PhD.; RNDr. Ivan Králik, PhD.;  
RNDr. Miriam Kupková, CSc.; doc. Mgr. Vladimír Lichner, PhD.; prof. PhDr. Ladislav Lovaš  
CSc.; doc. Mgr. Soňa Lovašová, PhD.; RNDr. Peter Ľuptáčik, PhD.; prof. RNDr. Tomas Madaras,  
PhD.; prof. Ing. Mária Mareková, CSc.; doc. JUDr. Peter Molitoris, PhD.;  
doc. Mgr. Alexander Onufrák PhD.; RNDr. Natália Pipová PhD.; doc. RNDr. Michal Stanko,  
DrSc.; doc. Mgr. Róbert Stojka, PhD.; doc. JUDr. Milan Sudzina, PhD.; Mgr. René Šebeňa, PhD.;  
RNDr. Martina Šemeláková, PhD.; JUDr. Dominik Šoltys, PhD.; RNDr. Ivana Špaková PhD.;  
doc. JUDr. Erik Štenpien, PhD.; PhDr. Lukáš Šutor, PhD.; RNDr. Róbert Tarasenko, PhD.;  
Mgr. Zuzana Tokárová, PhD.; JUDr. Veronika Tóthová, PhD.; doc. RNDr. Rastislav Varhač, PhD.;  
JUDr. Anna Vartašová, PhD.; Mgr. Oliver Zajac, PhD.; doc. MUDr. Martina Zavacká, PhD, MPH;  
RNDr. Milica Želinská, PhD.; doc. JUDr. Jana Žuľová, PhD.

Tento text je publikovaný pod licenciou Creative Commons 4.0 - Creative Commons Attribution-NonCommercial-No-derivates 4.0 („Uveďte pôvod – Nepoužívajte komerčne - Nespracováajte“)



Za odbornú a jazykovú stránku tejto publikácie zodpovedá autor. Rukopis neprešiel redakčnou ani jazykovou úpravou.

Dostupné od: 03.06.2024

Umiestnenie: [www.unibook.upjs.sk](http://www.unibook.upjs.sk)

ISBN 978-80-574-0329-6 (e-publikácia)

## Predslov

Doktorandské štúdium, ktoré v sebe spája aspekt vzdelávania a kvalitného výskumu má na Univerzite Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach dlhoročnú tradíciu. Doktorandi sa pri svojej práci na jednej strane opierajú o vedomosti a skúsenosti erudovaných školiteľov, na druhej strane sú práve doktorandi tí, ktorých každodenná práca prináša nové poznatky a dynamizuje vedeckú prácu výskumných tímov.

Na podporu vzdelávania a rozširovanie vedomostí slúži našim študentom dennej formy doktorandského štúdia aj Jarná škola doktorandov (JŠD), ktorá vytvára platformu na spoločné stretnutie doktorandov UPJŠ z rôznych odborov a výmenu poznatkov a skúseností. V tomto roku sa uskutočňuje už jej 10. ročník.

Prihlásených je 47 doktorandov zo všetkých piatich fakúlt univerzity, ktorí prednesú výsledky svojej doterajšej vedecko-výskumnej činnosti v dvoch sekciách podľa odborného zamerania. V rámci podujatia odznie aj 5 plenárnych prednášok, ktoré budú prezentovať odborníci z Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach a Univerzity Komenského v Bratislave a jeden workshop. V tomto ročníku sú zamerané najmä na vyvracanie mýtov a hoaxov, s ktorými je naša spoločnosť konfrontovaná čoraz viac.

Som presvedčená, že tak ako predchádzajúce aj tento ročník bude úspešný, že bude impulzom k možnému nadviazaniu kontaktov vedúcich k vzniku mladých interdisciplinárnych kolektívov v rámci univerzity, že účastníkov JŠD vnútorne obohatí a umožní im lepšie pochopiť výskumné smerovanie rovesníkov, že bude platformou na výmenu skúseností a prispeje k skvalitneniu doktorandského štúdia na Univerzite Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach.

Na záver si dovoľím vyjadriť pranie, aby bol tento ročník ešte lepší ako ten predchádzajúci a zároveň pokračoval v úspešnej tradícii Jarných škôl doktorandov UPJŠ.

prof. MVDr. Monika Halánová, PhD.  
prorektorka pre akademické kvalifikácie  
a doktorandské štúdium

<b>Sekcia LF / PF .....</b>	<b>6</b>
Molekulárna podstata angiogenézy pri vybraných patologických stavoch endometria uteru .....	7
Komparatívna analýza hormonálnej modulácie vybraných endometriálnych epiteliálnych bunkových línií .....	17
Experimentálne štúdium magnetických nanočastíc pre magnetickú separáciu DNA/RNA .....	27
Biodegradovateľné materiály na báze Zn .....	33
Posúdenie genetickej diverzity populácií druhu <i>Isotomiella minor</i> (Collembola, Isotomidae) obývajúceho urbánne a prírodné habitaty .....	38
Interakcie nových 2,6,9-trisubstituovaných akridínových derivátov s biomakromolekulami .....	48
Vplyv erytropoetínového receptora na platinovú chemoterapeutickú rezistenciu nádorových buniek ovariálneho adenokarcinómu .....	56
Scientometrické indexy: neaditívny prístup .....	61
O štruktúre priestoru trojzvukov .....	69
Vplyv modifikácie povrchu elektródy na elektrochemické stanovenie inzulínu .....	76
SLAMF receptory u vlasatobunkovej leukémie .....	83
Úloha kyseliny hyalurónovej v receptivite endometria .....	90
Je možné predikovať úspešnosť embryotransferu pomocou 3D fluorescenčnej analýzy? .....	96
Povrchovo modifikovaný materiál UiO-66-NH <sub>2</sub> ako nosič protinádorového liečiva .....	104
Antrachinónový profil vybraných zástupcov rastlín rodu <i>Hypericum</i> .....	111
Genetická variabilita roztočov čeľade Damaeidae (Acari, Oribatida) .....	118
Cytotoxické účinky antimykotika mikonazolu, insekticídu acetamipridu, a ich kombinácie na zdravé humánne epiteliálne bunky .....	123
Charakterizácia alternatívnych trombolýtik získaných riadenou evolúciou .....	131
Radiačné vplyvy kozmického žiarenia na pilotované misie a urýchľovanie kozmického žiarenia .....	137
Vplyv žihania na magnetické vlastnosti kompaktovaných a kompozitných materiálov na báze železa .....	144
Arg/Orn ako nový biomarker vazospazmov po subarachnoidálnom krvácaní .....	150
Stabilita radikálu v katalytickom centre ferylovej formy typu P cytochróm c oxidázy .....	157
Syntéza MOF materiálov ako heterogénnych katalyzátorov .....	164
<b>Sekcia PrF / FVS / FF .....</b>	<b>171</b>
Starostlivosť o seba ako nástroj na zvyšovanie zmysluplnosti života študentov .....	172
Reflexia osobností mesta Rožňava v rokoch 1923 – 1928 v archívnych dokumentoch .....	178
Zefektívňovanie trestného konania inšpirované civilnými inštitútmi .....	187
Rodinné faktory vo vzťahu k rizikovému správaniu detí a mládeže .....	192
Láska ako téma v súčasných slovenských piesňových textoch .....	198
Zákon o slobodnom prístupe k informáciám vs. Všeobecné nariadenie o ochrane údajov: právne kolízie a aplikačné problémy v praxi obcí .....	204

Vyhorenie a kontrafaktové myslenie .....	210
Súčasný pohľad na globálnu minimálnu daň .....	219
Poetika Karola Horáka v kontexte intermediálnych vzťahov .....	224
Alternatívne spôsoby výkonu volebného práva .....	232
Neplatnosť skončenia pracovného pomeru ako následok vady právneho úkonu .....	242
Korene proruského sentimentu v oblasti Juhovýchodnej Európy so zreteľom na obdobie 19. oročia – sonda do dizertačnej práce .....	249
Vodná diplomacia ako rozvíjajúci sa nástroj zahraničnej politiky 21. storočia.....	256
Masarykova kolónia bankových úradníkov v medzivojnových Košiciach so zreteľom na riešenie bytovej otázky jednotlivých sociálnych vrstiev.....	261
Porovnanie stratégií konceptu inteligentných miest v podmienkach Slovenskej republiky .....	273
Logický priestor faktov a jeho rozšírenie o rozmer lásky.....	279
Príprava a prijatie nového trestného zákona z roku 1950 .....	286
Dátová analýza judikatúry a legislatívy .....	293
AI revolúcia - integrácia technológií umelej inteligencie do psychologického výskumu .....	300
Postavenie Kriminálneho úradu finančnej správy pri odhaľovaní trestnej činnosti .....	307
O pojmoch opravný súd a Súdna oprava .....	316
<i>Dejiny dvoch Indií</i> v kontexte filozofie osvietenstva: Denis Diderot a jeho príspevky.....	322
Sekularizovaný štát v 21. storočí .....	327
K štylistickým aspektom Válkových prekladov Verlaina.....	334

## Sekcia LF / PF

## MOLEKULÁRNA PODSTATA ANGIOGENÉZY PRI VYBRANÝCH PATOLOGICKÝCH STAVOCH ENDOMETRIA UTERU

*Molecular basis of angiogenesis in selected pathological conditions of the uterine endometrium*

**Michaela Abrahamovská, Barbora Baranovičová, Peter Urdzík, Andrea Grešová, Miroslava Rabajdová, Mária Mareková**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej biochémie*

**Abstrakt:** Angiogenéza je definovaná ako tvorba ciev z už existujúcich ciev a cirkulujúcich endotelových prekursorov. Endometrium, vnútorná výstelka maternice, je dynamické tkanivo, ktoré prechádza pravidelnými cyklami rastu a regresie tkaniva a je jedno z mála tkanív, v ktorých je uskutočňovaný cyklus angiogenézy za fyziologických okolností. Vzhľadom na dynamické prostredie endometria je pravdepodobné, že zmeny v angiogénnom procese môžu prispieť k vzniku gynekologických patológií spojených so zápalom ako sú napr.: karcinóm endometria uteru, endometrióza, cysty alebo myómy maternice. Predkladaná publikácia poskytuje súhrn výsledkov pilotnej štúdie zameranej na analýzu angiogénnych markerov pri vybraných patológiách endometria maternice. Súhrn dát je tvorený zo sekvenančných údajov RNA v databázach Gene Expression Omnibus (GEO) so zameraním na angiogénne faktory (VEGF, PLGF, ANG1, TGF- $\beta$ , ENG, NRF-2 a NOTCH3) u pacientiek s rôznymi patológiami endometria *corpus uteri*. Rovnako z dát získaných po uskutočnení metódy kvantitatívnej Real-Time PCR zameranej na detekciu zmien génovej expresie angiogénnych molekúl, a tiež dát získaných po uskutočnení metódy ELISA, slúžiacej k sledovaniu zmien príslušných proteínov. Výsledky predkladanej štúdie potvrdili signifikantné rozdiely v expresii analyzovaných génov angiogénnych faktorov, ako aj nimi kódovaných proteínov, medzi sledovanými skupinami benígnych ochorení endometria *corpus uteri* a karcinómu endometria *corpus uteri*. Z analyzovaných proteínov boli sledované skupiny sigifikantne diferencované pomocou molekuly endoglin. Získané výsledky poskytujú informácie o patofyziologických mechanizmoch regulácie angiogenézy benígnych a malígnych stavov endometria. V budúcnosti môžu slúžiť ako potenciálne indikátory prípadných terapeutických cieľov, či účinnosti terapie.

**Keľúčové slová:** *Angiogénne faktory, karcinóm endometria corpus uteri, benígne ochorenia endometria corpus uteri*

**Abstract:** Angiogenesis is defined as the formation of vessels from pre-existing vessels and circulating endothelial precursors. The endometrium, the inner lining of the uterus, is a dynamic tissue that undergoes regular cycles of tissue growth and regression and is one of the few tissues that undergoes a cycle of angiogenesis under physiological circumstances. Due to the dynamic environment of the endometrium, it is likely that changes in the angiogenic process can contribute to the development of gynecological pathologies associated with inflammation, such as: endometrial carcinoma of the uterus, endometriosis, cysts or uterine fibroids. The presented publication provides a summary of the results of a pilot study focused on the analysis of angiogenic markers in selected pathologies of the uterine endometrium. The data summary is composed of RNA sequencing data in the Expression Omnibus (GEO) databases with a focus on angiogenic factors (VEGF, PLGF, ANG1, TGF- $\beta$ , ENG, NRF-2 and NOTCH3) in patients with various endometrial corpus uteri pathologies. Likewise, from the data obtained after performing the quantitative Real-Time PCR method aimed at detecting changes in the gene expression of angiogenic molecules, as well as the data obtained after performing the ELISA method, which serves to monitor changes in the relevant proteins. The results of the present study confirmed significant differences in the expression of the analyzed genes of angiogenic factors, as well as the proteins encoded by them, between the monitored groups of benign endometrial corpus uteri diseases and carcinoma of the corpus uteri endometrium. From the analyzed proteins, the monitored groups were significantly differentiated using the endoglin molecule. The obtained results provide information on the pathophysiological mechanisms of the regulation of



angiogenesis in benign and malignant endometrial conditions. In the future, they can serve as potential indicators of possible therapeutic goals or the effectiveness of therapy.

**Keywords:** *Angiogenic factors, corpus uteri endometrial carcinoma, benign endometrial corpus uteri diseases*

## Úvod

Fyziologicky prebieha vaskulárny vývoj pomocou angiogenézy a vaskulogenézy (Graham a kol., 2019; Okada a kol., 2016). Pre vaskulogenézu je typický *de novo* vznik vaskulatury, čo je charakteristické najmä pre embryonálny vývoj. Angiogenéza pochádza z gréckeho slova *Angio'gen'esis* a je definovaná ako tvorba ciev z už existujúcich ciev a cirkulujúcich endotelových prekursorov (Karizbodagh a kol., 2017). Endometrium, vnútorná výstelka maternice, je dynamické tkanivo, ktoré prechádza pravidelnými cyklami rastu a regresie tkaniva a je jedno z mála tkanív, v ktorom je v dospelosti uskutočňovaná angiogenéza za fyziologických podmienok (Zambuto a kol., 2019). Je zrejme, že angiogenéza zohráva kľúčovú úlohu v reprodukčných procesoch, ako je implantácia embrya, placentácia a regenerácia endometria po menštruácii. Vzhľadom na dynamické prostredie endometria je pravdepodobné, že zmeny v angiogénnom procese môžu prispieť k vzniku gynekologických patológií spojených so zápalom ako sú napr.: karcinóm endometria uteru, endometrióza, cysty alebo myómy maternice. Inflamatórne procesy následne vedú ku chronickým zápalovým reakciám, ktoré spôsobujú lokálnu hypoxiu tkaniva a podnecujú bunky ku kompenzácií nedostatku živín aktívnou tvorbou nových krvných ciev prostredníctvom angiogénnych procesov (Li a kol., 2022). V hypoxickom prostredí je inhibovaná hydroxylácia a degradácia hypoxiou indukovaného faktora-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) (Singh a kol., 2019), HIF-1 $\alpha$  môže dimerizovať, translokovať do jadra a transkripčne regulovať expresiu svojich cieľových génov vrátane proangiogénnych faktorov (Jiang a kol., 2020; Žyła a kol., 2014). Angiogénne rastové faktory, ako je vaskulárny endotelový rastový faktor (VEGF) a placentárny rastový faktor (PLGF), sa viažu na svoje príslušné receptory na endotelových bunkách a aktivujú signálne kaskády rastu a remodelácie ciev (Saharinen a kol., 2017). V dôsledku aktivácie signálnych dráh VEGF dochádza ku indukcii produkcie a uvoľňovania matrixových metaloproteináz (MMP), konkrétne MMP-2 a MMP-9 (Quintero-Fabián a kol., 2019). Aktivované MMP degradujú extracelulárnu matrix (ECM), čo umožňuje endotelovým bunkám migrovať na miesto potreby tvorby nových krvných ciev (Wang a Khalil, 2018). Rovnako je známy sekundárny účinok VEGF na reguláciu degradácie ECM prostredníctvom uvoľňovania prístupu k receptorom relevantných angiogénnych dráh, čo vedie k intenzívnejšej stimulácii angiogenézy (Žyła a kol., 2014). Transkripčný rastový faktor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) má rôzne účinky v procese angiogenézy, v závislosti od uskutočňovaného procesu a typu tkaniva (Guerrero a McCarty, 2017). Faktor TGF- $\beta$  je syntetizovaný v neaktívnej forme, lokalizovaný v ECM (Peng a kol., 2022). Aktivácia TGF- $\beta$  vyžaduje jeho uvoľnenie, ktoré môže byť spôsobené mechanickou aktiváciou alebo enzymatickou aktiváciou proteázami (Guerrero a McCarty, 2017). Aktivovaný TGF- $\beta$  sa viaže na svoje receptory umiestnené na povrchu endotelových buniek (Vander Ark a kol., 2018). Signálna dráha TGF- $\beta$  môže prebiehať prostredníctvom komunikácie s dvoma rôznymi receptormi - kinázou podobnému aktívovému receptoru 1 (ALK1) a kinázou podobnému aktívovému receptoru 5 (ALK5) (Schoonderwoerd a kol., 2020). ALK5 je exprimovaný vo väčšine buniek, zatiaľ čo ALK1 je exprimovaný výlučne v endotelových bunkách. ALK1 indukuje fosforyláciu cez Smad1/5/8, zatiaľ čo ALK5 indukuje fosforyláciu cez Smad2/3. Endoglin (ENG) slúži ako koreceptor pre ALK1, čím zvyšuje jeho signalizáciu po väzbe TGF- $\beta$  (Yu a Feng, 2019). ENG má pozitívne reguluje signalizáciu TGF- $\beta$ /ALK1, ale negatívne reguluje signalizáciu TGF- $\beta$ /ALK5. Ľudský notch homologický proteín 3 (NOTCH3) je súčasťou významnej signálnej dráhy vo vývoji a fyziológii početných ochorení (Katoh a Katoh, 2019). Receptory NOTCH, sú charakterizované ako transmembránové proteíny, pozostávajúce z extracelulárnej (Necd) domény s opakovaniami podobnými N-terminálnemu epidermálnemu rastovému faktoru (EGF), intracelulárnej (Nidc) domény a transmembránového segmentu, ktorý ich spája (Wang a kol., 2022). Signalizácia NOTCH je aktivovaná prostredníctvom signalizácie ligandu susednej bunky viažuceho sa na extracelulárnu časť receptora. Tvorba väzby ligand-receptor aktivuje štiepenie domény Nidc z proteínu receptora NOTCH3 (Palermo a kol.,

2014). Táto doména vstupuje do bunkového jadra a reguluje transkripciu génov podieľajúcich sa na udržiavaní funkcie a prežívania buniek hladkého svalstva ciev (VSMC) (Wang a kol., 2022). Ďalším významným faktorom procesu angiogenézy je transkripčný jadrový faktor 2 (NRF-2). Fyziologicky sa NRF-2 viaže na Kelch-like ECH asociovaný proteín 1 (KEAP1), ktorý sa viaže na CULLIN 3 (CUL3) a RING-box proteín 1 (RBX1)/E3-ubikvitín ligázu, za vzniku KEAP1/CUL3/ E3-ubikvitín ligáza komplexu RBX1, ktorá stimuluje NRF-2 k proteazomálnej degradácii (Baird a Yamamoto, 2020). V prítomnosti oxidačných stimulov indukuje väzba reaktívnych foriem kyslíka (ROS) na cysteinové zvyšky KEAP1 konformačnú zmenu v KEAP1 (Deshmukh a kol., 2017). To spôsobuje inhibíciu ubikvitinácie NRF-2, jeho translokáciu do jadra a väzbu na oblasti ARE umiestnené v promótorovej oblasti antioxidantných génov, čím sa indukuje ich transkripcia (Baird a Yamamoto, 2020). Dráha NRF-2/KEAP1 je dôležitá v bunkovej invázii, prostredníctvom inhibície apoptózy a stimulácie bunkovej proliferácie a chemorezistencie (Tossetta a kol., 2022). Po vytvorení nových krvných ciev rastové faktory, vylučované z endotelových buniek, priťahujú pericyty a bunky hladkého svalstva. Tie im poskytujú mechanickú podporu a reguláciu ich kontrakcie a dilatácie. Angiopoetín-1 (ANG-1) je vylučovaný z pericytov. Viaže sa na tyrozínkinázový receptor tunica Interna Endotelová bunková kináza-2 (Tie-2). Podieľa sa na remodelácii, stabilizácii a dozrievaní novovytvorených krvných ciev a inhibuje vaskulárny zápal (Saharinen a kol., 2017). Pochopenie vzájomných interakcií angiogénnych dráh, v kontexte patologických stavov endometria *corpus uteri*, dopĺňa informácie o základných molekulárnych mechanizmoch angiogenézy a vaskularizácie, potrebné pre vývoj nových terapeutických prístupov a indikácií. Benígne patologické stavy endometria *corpus uteri* sú spojené s rôznymi „procesnými štádiami“ angiogenézy, s rozdielnou symptomatológiou a nutnou terapeutickou indikáciou. Podobne pri karcinóme endometria hrá angiogenéza kľúčovú úlohu v progresii nádoru tým, že poskytuje vysoko metabolicky aktívnym karcinómom vaskulárne lôžko nevyhnutné pre ich proliferáciu, invazivitu a metastatický rast. Zmeny v expresii génov angiogénnych markerov a nimi kódovaných proteínov, reflektujú na prebiehajúce mechanizmy regulácie angiogenézy rôznych stavov endometria maternice, čo má potenciál poskytnúť dôležité informácie o ich patofyziologických mechanizmoch. Kľúčové zložky procesu angiogenézy majú potenciál nielen charakterizovať patofyziologické procesy maternice a prognosticky predikovať prítomnosť ochorenia endometria maternice, ale aj potenciálne posúdiť účinnosť indikovanej terapie.

## **Materiál a metódy**

### ***Biologický materiál***

Pilotná štúdia bola tvorená z experimentálnych skupín a to: Pacientiek (n=17) s histologicky potvrdeným benígnym ochorením tela maternice (BEN), pacientiek (n=27) s histologicky potvrdeným karcinómom endometria *corpus uteri* v 1. a 2. štádiu ochorenia (EC (1,2)) a pacientiek (n=8) s histologicky potvrdeným karcinómom endometria *corpus uteri* v 3. a 4. štádiu ochorenia (EC (3,4)). V spolupráci s II. Gynekologicko-pôrodnickou klinikou UPJŠ LF a UNLP bol biologický materiál (napr. tkanivo endometria uteru, periférna krv) odoberaný od pacientiek počas štandardne indikovaného diagnostického alebo liečebno-preventívneho výkonu. Na separáciu krvného séra bola krv centrifugovaná pri 3500 rpm/5 min/4 C. Biologický materiál bol následne uskladnený pri -80°C.

### ***Inicializačná analýza Gene Expression Omnibus (GEO) databáz***

Pre analýzu dát z Gene Expression Omnibus (GEO) databázy dostupnej na webovej stránke National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) boli stiahnuté tri súbory údajov: GSE185543, GSE135485 a GSE216872. Kompletný súbor obsahoval 50 pacientiek s benígnymi ochoreniami endometria *corpus uteri*, 40 pacientiek s karcinómom endometria *corpus uteri* v 1. a 2. štádiu ochorenia a 30 pacientiek s karcinómom endometria *corpus uteri* v 3. a 4. štádiu ochorenia. Všetky údaje boli normalizované na Transcripts per Million (TPM).

### ***Analýza relatívnej expresie špecifických génov antioxidantných enzýmov***

Nukleová RNA kyselina analyzovaných vzoriek bola izolovaná pomocou extrakcie guanidíniumtiokyanátom-fenol-chloroform, poskytnutým ako QIAzol Lysis Reagent od Qiagen. Merania koncentrácie a čistoty izolovaných vzoriek RNA sa uskutočnili pomocou Nanodrop LC 2000 (Thermo Scientific). K reverznej transkripcii mRNA do cDNA bola použitá komerčná súprava ProtoScript® II First Strand cDNA Synthesis Kit. Kvantifikácia génovej expresie bola detegovaná metódou kvantitatívnej Real-time PCR (qRT-PCR) s použitím súpravy SensiMix™ SYBR® No-ROX, použitím zodpovedajúcich špecifických sekvencií primerov pre príslušné gény. Na kvantifikáciu génovej expresie v reálnom čase, bol využitý termocyklér Rotor-Gene Q-PCR (Qiagene). Normalizácia výsledkov sa uskutočnila pomocou housekeeping génu  $\beta$ -aktínu. Analyzované vzorky boli pre každý požadovaný špecifický gén analyzované v technických duplikátoch.

### **Analýza vybraných proteínov metódou ELISA**

Na kvantitatívne enzymaticko-imunologické stanovenie špecifických proteínov angiogénnych markerov v sére boli použité komerčné súpravy: Human Angiopoetin 1 ELISA Kit (ANG1) (Abcam), Human CD105 (ENDOGLIN) ELISA Kit (Abcam), Human PLGF ELISA Kit (Abcam), Human TGF beta 1 súprava ELISA (Abcam), súprava pre ľudský VEGF ELISA (Abcam), súprava ELISA pre ľudský COUP transkripčný faktor 2 (NRF-2) (MyBioSource) a súprava ELISA pre ľudský neurogénny locus Notch Homolog Protein 3 (Notch 3) (MyBioSource). Testy boli vykonané podľa pokynov výrobcu uvedených v priložených protokoloch. Absorbancia bola meraná pomocou BioTek™ Synergy™ Hybrid Reader H4. Príslušné koncentrácie sledovaných proteínov boli kalkulované na základe nameraných absorbancií po zohľadnení faktora riedenia.

### **Štatistická analýza**

Získané údaje boli analyzované pomocou GraphPad Prism verzie 8 (GraphPad Software). Pri štatistickej analýze získaných údajov bol použitý ANOVA Kruskal–Wallis test. Za štatisticky významný rozdiel medzi analyzovanými skupinami sa považovali hodnoty  $p$  na úrovni štatistickej významnosti  $p \leq 0,05^*$ ;  $p \leq 0,01^{**}$ ;  $p \leq 0,001^{***}$  a  $p \leq 0,0001^{****}$ .

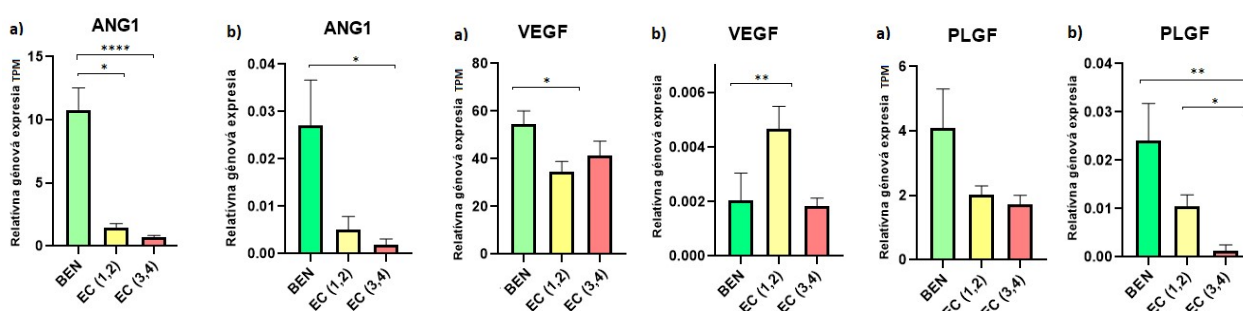
## **Výsledky a diskusia**

### **Relatívna expresia špecifických génov antioxidačných enzýmov**

Analýza GEO databáz, ako aj expresia špecifických génov angiogénnych faktorov pomocou qRT-PCR ukázala medzi sledovanými skupinami signifikantne rozdielne exprimácie. Vyhodnotenie dát z GEO databáz poukázalo na významne vyššie génové expresie ANG1 génu v skupine s pacientkami s BEN ( $11,37 \pm 1,744$  TPM) v porovnaní s pacientkami s EC (3,4) ( $0,7405 \pm 0,1012$ ;  $p < 0,0001$ ), ako aj v EC (1,2) ( $1,568 \pm 0,2384$ ;  $p=0,0312$ ).

Analýza qRT-PCR potvrdila analyzované výsledky z GEO databáz. Bolo zaznamenané zvýšenie relatívnej expresie génu ANG1 u pacientiek s BEN ( $0,0306 \pm 0,0077$ ) oproti obom skupinám pacientiek s EC, ktoré bolo štatisticky významné pri vyššom štádiu ochorenia ( $0,002100 \pm 0,0009$ ;  $p=0,026$ ) (Obr. 1). Analýza údajov z GEO databáz vyjadrila pokles expresie génu VEGF u pacientiek s EC v porovnaní u pacientiek s BEN ( $54,52 \pm 5,638$  TPM) so štatistickou významnosťou pri EC (1,2) ( $34,61 \pm 4,274$ ;  $p=0,0125$ ). Avšak analýza pomocou qRT-PCR detekovala signifikantné zvýšenie relatívnej expresie tohto génu VEGF u pacientiek s EC (1,2) ( $0,0047 \pm 0,0008$ ) v porovnaní s pacientkami s BEN ( $0,0020 \pm 0,0010$ ;  $p = 0,0053$ ), ako je zobrazené na obrázku č.1 (Obr. 1). Zvýšená expresia VEGF spolu so zníženou expresiou ANG1 pri karcinóme endometria môže poukazovať na snahu karcinómu o zvýšenie angiogenézy s cieľom podporiť rast a invazivitu nádoru (Hunag a kol., 2009), zatiaľ čo pri benígnych zápalových ochoreniach, je predpokladaná potreba stimulácie vaskulárnej stability a reparácie (Logsdon a kol., 2014), s čím koreluje detekcia zvýšenej expresie ANG1.

Pri analýze expresie génu PLGF (Obr. 1) bola zaznamenaná znížená expresia pri oboch skupinách EC oproti skupine BEN, ktorá však nebola štatisticky významná. Pri vyhodnotení údajov qRT-PCR bol u pacientok s EC (3,4) ( $0,0013 \pm 0,0005$ ) zaznamenaný signifikantný pokles relatívnej expresie PLGF v porovnaní s pacientkami s EC (1,2) ( $0,0106 \pm 0,0023$ ;  $p = 0,0281$ ), ako aj s pacientkami s BEN ( $0,0241 \pm 0,0077$ ;  $p = 0,0015$ ). Na rozdiel od VEGF je PLGF redundantný počas vývoja a homeostázy, avšak podieľa sa na zápalom indukovanej angiogenéze u niektorých ochorení, vrátane onkologických chorôb (Coenegrachts et al., 2013). Publikovaná štúdia Coenegrachts a kol., 2013, poukazuje na fakt, že zvýšená expresie génu PLGF koreluje s vyšším stupňom malignity (Coenegrachts a kol., 2013) príslušného ochorenia. Vyššie hladiny PLGF boli detekované aj v sére žien s histologicky potvrdenou endometriózou uteru (Scala et al., 2019). Nateraz nebola opublikovaná štúdia, ktorá by detekovala exprimáciu PLGF pri benígnom zápalovom ochorení maternice a karcinóme endometria *corpus uteri*. Jeho úloha v kontexte týchto ochorení je dvojznačná. Môže byť ovplyvnená mnohými faktormi vrátane genetických mutácií, epigenetických zmien a interakcií s inými signalizačnými dráhami (Zhou a kol., 2022).

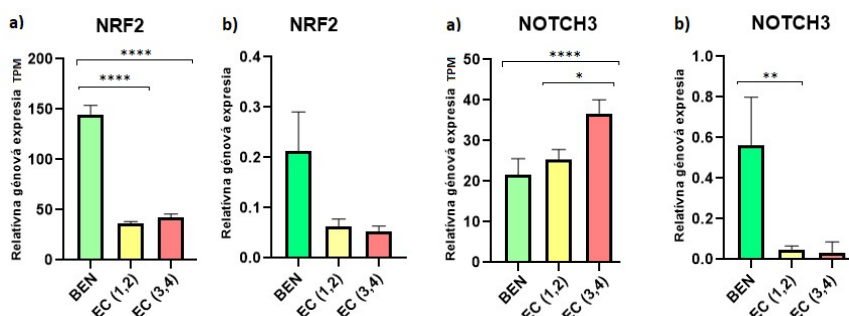


**Obr. 1** a) Relatívna expresia génu (TPM) ANG1 získaná analýzou GEO databáz. b) Relatívna expresia ANG1 pomocou qRT-PCR (vľavo). a) Relatívna expresia génu (TPM) VEGF získaná analýzou GEO databáz. b) Relatívna expresia VEGF pomocou qRT-PCR (v strede). a) Relatívna expresia génu (TPM) PLGF získaná analýzou GEO databáz. b) Relatívna expresia PLGF pomocou qRT-PCR (vpravo). BEN= benígne gynecologické ochorenia; EC (1,2) = karcinóm endometria v 1. a 2. štádiu; EC (3,4) = karcinóm endometria v 3. a 4. štádiu.

Podobný trend sme pozorovali aj pri géne NRF2. Dáta s GEO databáz poukázali na signifikantný rozdiel ( $p < 0,0001$ ), expresie génu NRF2 pri BEN ( $144,9 \pm 9,996$  TPM) oproti pacientkam s EC (1,2) ( $36,10 \pm 2,159$ ) aj EC (3,4) ( $42,16 \pm 5,342$ ). Pri analýze relatívnej expresie toho génu pomocou qRT-PCR sme zaznamenali podobný trend, avšak bez štatistickej významnosti (Obr. 2). Pri benígnych zápalových ochoreniach, môže byť zvýšená expresia NRF2 súčasťou reakcie reflektujúcej na prítomný proces zvýšeného oxidačného stresu (Iwabuchi a kol., 2015). NRF2 aktivuje expresiu antioxidantných génov, ktoré eliminujú ROS a chránia tkanivo maternice pred poškodením (Saha a kol., 2020). Tento proces je kľúčový v chronických zápalových reakciách, pri obnove redoxnej rovnováhy a podpore reparácie tkaniva. Pri onkologickom procese sú prítomné adaptačné mechanizmy, ktoré umožňujú nádorovým bunkám prežívať a proliferovať napriek vysokým úrovňam ROS (Kumari a kol., 2018). Mechanizmy rezistencie onko buniek na oxidačný stres, ktoré sú nezávislé od NRF2, respektíve inhibujúce NRF2-mediovanú signalizáciu, tak negatívne stimulujú podporu vlastnej onkogénnej aktivity (Galvagni a kol., 2024).

Pri géne špecifickom pre NOTCH3 bol trend expresie medzi jednotlivými skupinami v GEO databázach rozdielny oproti výsledkom qRT-PCR analýzy. Analýza GEO databáz ukázala signifikantne vyššiu expresiu u pacientov s EC (3,4) ( $36,71 \pm 3,371$  TPM) v porovnaní s pacientkami s EC (1,2) ( $25,46 \pm 2,405$  TPM;  $p < 0,0001$ ), ako aj v porovnaní s pacientkami s BEN ( $21,64 \pm 3,973$  TPM,  $p = 0,0366$ ). Naproti tomu analýza výsledkov qRT-PCR ukázala štatisticky signifikantne zníženie relatívnej expresie génu špecifického pre NOTCH3 ( $p = 0,0097$ ) pri pacientkach s EC (1,2) ( $0,0106 \pm 0,0023$ ) oproti BEN ( $0,0241 \pm 0,0023$ ) (Obr. 2). V prípade endometriálneho karcinómu môže zvýšená aktivácia Notch signalizácie podporovať proliferáciu a prežívanie nádorových buniek (Jonusiene a kol., 2021). Mechanizmy môžu zahŕňať interakciu s inými signalizačnými cestami, ako sú PI3K/AKT, MAPK, a Wnt/ $\beta$ -catenin. Daley-Brown a kol., 2017 vo svojej štúdií poukazujú na zvýšenú expresiu molekúl NOTCH3 pri endometriálnom karcinóme. Rovnako naznačujú, že zvýšená

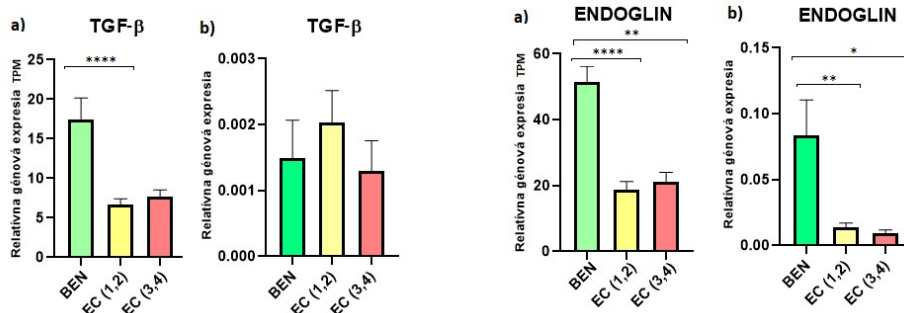
signalizácia Notch môže byť spojená s invazívnejšou proliferáciou endometriálneho karcinómu (Daley-Brown a kol., 2017). Spomínaná štúdia koreluje s výsledkom z analýzy GEO databáz predkladanej pilotnej štúdie, avšak nekoreluje s výsledkami qRT-PCR analýz. Holzer a kol., 2020 detekovali, zvýšenú expresiu NOTCH3 pri niektorých benígnych patologických stavoch endometria, ako je endometrióza (Holzer a kol., 2020).



**Obr. 2 a)** Relatívna expresia génu (TPM) NRF2 získaná analýzou GEO databáz. **b)** Relatívna expresia NRF2 pomocou qRT-PCR (vľavo). **a)** Relatívna expresia génu (TPM) NOTCH3 získaná analýzou GEO databáz. **b)** Relatívna expresia NOTCH3 pomocou qRT-PCR (vpravo). BEN= benigne gynekologické ochorenia; EC (1,2) = karcinóm endometria v 1. a 2. štádiu; EC (3,4) = karcinóm endometria v 3. a 4. štádiu.

Analýza expresie génu TGF- $\beta$  z GEO databáz poukázala na signifikantný výsledok na hladine významnosti ( $p < 0,0001$ ), s vyššími hodnotami expresie génu TGF- $\beta$  pri BEN ( $17,49 \pm 2,673$  TPM). Pri pacientkach s EC (1,2) boli hodnoty expresie nižšie ( $6,689 \pm 0,7347$  TPM). Pri analýze pomocou qRT-PCR bola relatívna expresia tohto génu vyššia pri EC (1,2) v porovnaní s EC (3,4), ako aj v porovnaní s BEN, avšak bez štatistickej významnosti. V skorých štádiách karcinogenézy pôsobí TGF- $\beta$  ako kľúčový nádorový supresor spúšťaním cytostázy a apoptózy. Pri pokročilom štádiu karcinómu, však stráca schopnosť nádorového supresora a indukuje progresiu nádoru a metastázovanie, čím získava funkciu onkogénneho faktora (Seoane a Gomis, 2017). Zvýšená expresia TGF  $\beta$  koreluje so zvýšenou hustotou mikrociev a zlou prognózou priebehu ochorenia (Zhu a kol., 2015; Syed 2016). Publikované štúdie popisujú schopnosť TGF- $\beta$  stimulovať expresiu VEGF (Cheng a kol., 2024). Tieto zistenia korelujú aj s nami získanými výsledkami, kde bol zaznamenaný rovnaký trend zmeny expresie týchto génov v rámci GEO databáz, ako aj pri špecifickej analýze expresie pomocou qRT-PCR. Rozdiely medzi výsledkami získanými z GEO databázy a výsledkami qRT-PCR analýz môžu byť ovplyvnené heterogenitou analyzovaných súborov ako aj biologickým kontextom a nádorovým mikroprostredím.

Pri hodnotení relatívnej expresie génu pre ENG pomocou GEO databáz sme zaznamenali významne zníženie v skupine s pacientkami s BEN ( $51,37 \pm 4,789$  TPM) v porovnaní s pacientkami s EC (3,4) ( $21,21 \pm 2,838$ ;  $p < 0,0001$ ), ako aj s EC (1,2) ( $18,81 \pm 2,413$ ;  $p=0,0060$ ). V tomto prípade sa trend expresie zhodoval s výsledkami analýz pomocou qRT-PCR. Bolo zaznamenané zvýšenie relatívnej expresie pri pacientkach s BEN ( $0,0834 \pm 0,0272$ ) v porovnaní s pacientkami s EC (1,2) ( $0,0136 \pm 0,0035$ ;  $p = 0,0093$ ), ako v porovnaní s pacientkami s EC (3,4) ( $0,009 \pm 0,0029$ ;  $p = 0,0143$ ) (obr. 3). ENG ako koreceptor pre TGF- $\beta$  zvyšuje fosforyláciu Smad, čím ovplyvňuje správanie endotelových buniek a angiogénu (Schoonderwoerd a kol., 2020). Početné štúdie poukazujú na zvýšenej expresie ENG pri nádorových ochoreniach (Zvrko a Vuckovic, 2023; Glitchev a kol., 2024; Lefkou a kol., 2023). Napriek stimulačnej funkcii ENG v procese angiogénu, je známa jeho funkcia v procese inhibície proliferácie a indukciu diferenciácie (Pérez-Gómez a kol., 2010). Nádorové bunky môžu inhibovať expresiu ENG, aby sa vyhli jeho potenciálne supresívnym účinkom. Znížená expresia ENG v karcinóme oproti benígnym zápalovým ochoreniam by mohla naznačovať, že angiogénne onkoproceny uprednostňujú TGF- $\beta$  Smad-nezávislé dráhy, ako sú MAPK (Mitogénne Aktivované Proteínové Kinázy) alebo PI3K/Akt/mTOR, ktoré prispievajú k onkogenéze zvyšovaním proliferácie a inhibíciou apoptózy (Baba a kol., 2022).



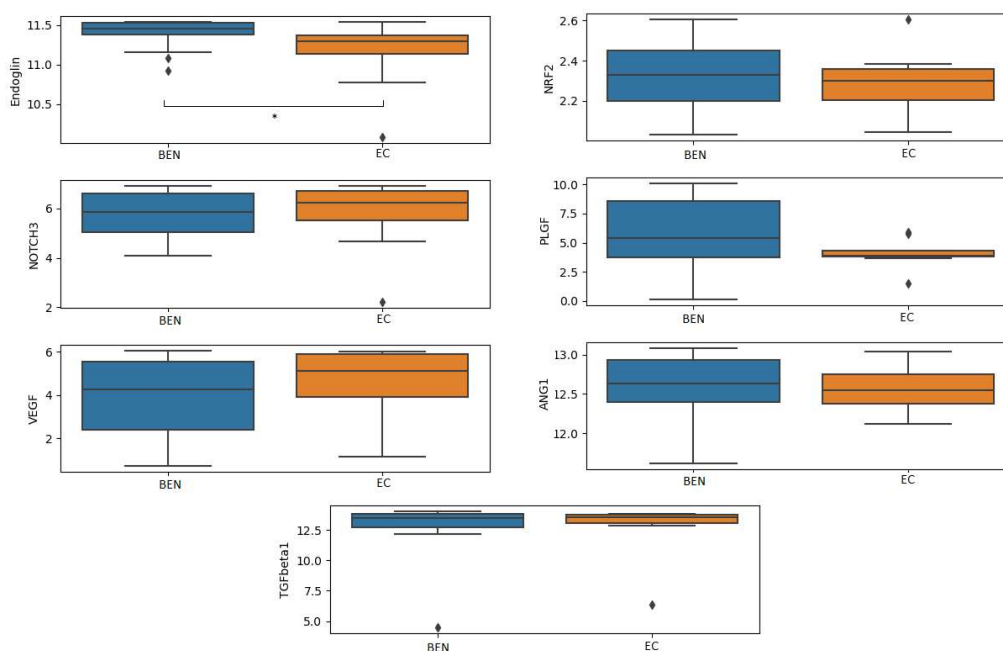
**Obr. 3 a)** Relatívna expresia génu (TPM) TGF- $\beta$  získaná analýzou GEO databáz. **b)** Relatívna expresia TGF- $\beta$  pomocou qRT-PCR (vľavo). **a)** Relatívna expresia génu (TPM) ENG získaná analýzou GEO databáz. **b)** Relatívna expresia ENG pomocou qRT-PCR (vpravo). BEN= benigne gynekologické ochorenia; EC (1,2) = karcinóm endometria v 1. a 2. štádiu; EC (3,4) = karcinóm endometria v 3. a 4. štádiu.

## Analýza vybraných proteínov metódou ELISA

Analýza vybraných proteínov v skupine pacientiek s BEN v porovnaní so skupinou pacientiek s EC preukázala signifikantné zmeny len v jednom zo sledovaných proteínov. Rozdelenie údajov po kvantilovej normalizácii v sledovaných skupinách je znázornené formou boxplotu na Obr. 4. Stredné hodnoty spolu so štandardnou odchýlkou (STD) sú zhrnuté v Tab. 1. Signifikantný rozdiel exprimácie v experimentálnych skupinách pacientiek bol pozorovaný v proteíne endoglin (BEN:  $11,668 \pm 0,785$ ; EC:  $11,145 \pm 0,430$ ) na hladine významnosti  $p=0,029$  (Tab.1). V literatúre sú obmedzené údaje pojednávajúce o detekcii zmien sérových koncentrácií angiogénnych proteínov pri nami sledovaných patológiách. Zvýšenie hladiny endoglinu pri benígnych ochoreniach uteru môže naznačovať jeho úlohu v reparačných procesoch a angiogenéze, ktorá je typická pre niektoré benigne stavy (Schoonderwoerd a kol., 2020).

**Tab. 1** Priemerné hodnoty po normalizácii údajov (MEAN), štandardné odchýlky (STD) a hodnoty významnosti (p-values) štatistického testu analyzovaných proteínov medzi skupinami.

Protein	BEN		EC		BEN vs EC
	Mean	STD	Mean	STD	Kruskal-Wallis test p-values
<b>ENDOGLIN</b>	11,668	0,785	11,145	0,430	0,029
<b>NRF-2</b>	2,379	0,252	2,289	0,156	0,512
<b>NOTCH3</b>	5,864	1,049	5,768	1,44	0,421
<b>PLGF</b>	6,353	2,762	4,082	1,22	0,19
<b>VEGF</b>	3,882	1,447	4,638	1,55	0,409
<b>ANG1</b>	12,655	0,366	12,567	0,288	0,485
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	13,152	1,541	12,769	2,28	0,966



Obr. 4 Boxplot analyzovaných proteínov v sledovaných skupinách. BEN=Benígne gynekologické ochorenia; EC= karcinóm endometria. Štatistická signifikancia Kruskal–Wallis testu:  $p * < 0.05$

## Záver

Analýza GEO databáz a kvantifikácia expresie špecifických génov angiogénnych faktorov pomocou qRT-PCR detekovali signifikantné rozdiely v expresii mRNA angiogénnych génov v skupinách pacientiek s benígnymi ochoreniami endometria uteru a karcinómu endometria uteru v rôznych štádiách. Využitím ELISA metódy pre analýzu zmien hladín angiogénnych proteínov, boli detekované signifikantné zmeny v hladinách exprimácie proteínu endoglin. Výsledky predkladanej pilotnej štúdie podporujú hypotézu, že aberácie v angiogenennom procese môžu byť spojené s patogenézou rôznych gynekologických ochorení. Súčasne naznačujú potenciálny význam angiogénnych molekúl v prognostickej predikcii prítomnosti ochorení endometria maternice, ako aj v sledovaní účinnosti indikovanej terapie patologických stavov endometria *corpus uteri*.

## Podakovanie

Táto práca bola realizovaná na základe grantovej podpory projektov *VEGA 1/0620/19*, *VEGA 1/0540/2021* a *VEGA 1/0435/23*, ktoré sú realizované v spolupráci s Gynekologicko-pôrodnickou klinikou UPJŠ LF a UNLP v Košiciach.

## Literatúra

BAIRD, L., YAMAMOTO, M., 2020. The Molecular Mechanisms Regulating the KEAP1-NRF2 Pathway. *Molecular and Cellular Biology* 40, e00099-20. <https://doi.org/10.1128/MCB.00099-20>

DALEY-BROWN, D. a kol., 2017. Type II endometrial cancer overexpresses NILCO: A preliminary evaluation. *Disease Markers* 2017.

DESHMUKH, P. a kol., 2017. The Keap1–Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. *Biophys Rev* 9, 41–56. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0244-4>.

GALVAGNI, F. a kol., 2024. NRF2 activation by cysteine as a survival mechanism for triple-negative breast cancer cells. *Oncogene* 2024 Apr 10. doi: 10.1038/s41388-024-03025-0.

GRAHAM, D. 2019. Vascular Physiology. In *Textbook of Vascular Medicine*, 13-22.

GUERRERO, P. A., MCCARTY, J.H., 2017. TGF- $\beta$  Activation and Signaling in Angiogenesis, in: Simionescu, D., Simionescu, A. (Eds.), *Physiologic and Pathologic Angiogenesis - Signaling Mechanisms and Targeted Therapy*. InTech. <https://doi.org/10.5772/66405>.

HINE, C.M., MITCHELL, J.R., 2012. NRF2 and the Phase II Response in Acute Stress Resistance Induced by Dietary Restriction. *J Clin Exp Pathol* S4, 7329. <https://doi.org/10.4172/2161-0681.S4-004>.

HOLZER, I. a kol., 2020. GRN, NOTCH3, FN1, and PINK1 expression in eutopic endometrium—potential biomarkers in the detection of endometriosis—a pilot study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37, 2723-2732.

HUANG, J. a kol., 2009. Angiopoietin-1/Tie-2 activation contributes to vascular survival and tumor growth during VEGF blockade. *International journal of oncology*, 34(1), 79-87.

CHENG, Y. H. a kol., 2024. A Preliminary Investigation of the Roles of Endometrial Cells in Endometriosis Development via In Vitro and In Vivo Analyses. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 3873.

IWABUCHI, T. a kol., 2015. Oxidative stress and antioxidant defense in endometriosis and its malignant transformation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.

JIANG, X. a kol., 2020. The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *J Exp Clin Cancer Res* 39, 204. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01709-5>.

JONUSIENE, V., SASNAUSKIENE, A. 2021. Notch and endometrial cancer. *Notch Signaling in Embryology and Cancer: Notch Signaling in Cancer*, 47-57.

KARIZBODAGH, M. P. a kol., 2017. Implantation Window and Angiogenesis. *Journal of Cellular Biochemistry*. 118(12), 4141–4151. doi:10.1002/jcb.26088.

KATOH, M., KATOH, M., 2019. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation (Review). *Int J Mol Med*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4418>.

KUMARI, S. a kol., 2018. Reactive oxygen species: a key constituent in cancer survival. *Biomarker insights*, 13, 1177271918755391.

LI, B. a kol., 2022. Hypoxia alters the proteome profile and enhances the angiogenic potential of dental pulp stem cell-derived exosomes. *Biomolecules*, 12(4), 575.

LOGSDON, E. A. a kol., 2014. A systems biology view of blood vessel growth and remodelling. *Journal of cellular and molecular medicine*, 18(8), 1491-1508.

OKADA, H. a kol., 2014 Regulation of decidualization and angiogenesis in the human endometrium: a mini overview. *Journal of Obstetrics and Gynecology Research*. 40 (5), 1180-1187.

PÉREZ-GÓMEZ, E. a kol., 2010. The role of the TGF- $\beta$  coreceptor endoglin in cancer. *The Scientific World Journal*, 10, 2367-2384.

QUINTERO-FABIÁN, S. a kol., 2019. Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. *Front. Oncol.* 9, 1370. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01370>.

SAHA, S. a kol., 2020. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation." *Molecules* 25, no. 22: 5474.



- SAHARINEN, P. a kol., 2017. Therapeutic targeting of the angiopoietin–TIE pathway. *Nat Rev Drug Discov* 16, 635–661. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.278>.
- SEOANE, J., A GOMIS, R. R. 2017. TGF- $\beta$  family signaling in tumor suppression and cancer progression. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 9(12), a022277.
- SCHOONDERWOERD, M.J.A. a kol., 2020. Endoglin: Beyond the Endothelium. *Biomolecules* 10, 289. <https://doi.org/10.3390/biom10020289>.
- SINGH, N. a kol., 2019. Inflammation and cancer. *Annals of African medicine*. 18(3), 121.
- SYED, V. 2016. TGF- $\beta$  signaling in cancer. *Journal of cellular biochemistry*, 117(6), 1279-1287.
- TOSSETTA, G. a kol., 2022. Role of NRF2 in Ovarian Cancer. *Antioxidants* 11, 663. <https://doi.org/10.3390/antiox11040663>.
- VANDER ARK, A. a kol., 2018. TGF- $\beta$  receptors: In and beyond TGF- $\beta$  signaling. *Cellular Signalling* 52, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.09.002>.
- WANG, W. a kol., 2022. Significant Roles of Notch O-Glycosylation in Cancer. *Molecules* 27, 1783. <https://doi.org/10.3390/molecules27061783>.
- WANG, X. a kol., 2018. Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease, in: *Advances in Pharmacology*. Elsevier, pp. 241–330. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.08.002>.
- ZHOU, B. a kol., 2022. Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 95.
- ZHU, J. a kol., 2015. TGFBI protein high expression predicts poor prognosis in colorectal cancer patients. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(1), 702.
- ŻYŁA, M.M. a kol., 2014. The role of angiogenic factors in endometrial cancer. *pm* 2, 122–126. <https://doi.org/10.5114/pm.2014.42714>.

# KOMPARATÍVNA ANALÝZA HORMONÁLNEJ MODULÁCIE VYBRANÝCH ENDOMETRIÁLNYCH EPITELIÁLNYCH BUNKOVÝCH LÍNIÍ

*Comparative analysis of hormonal modulation of selected endometrial epithelial cell lines*

**Peter Artimovič, Eva Kriváková, Miroslava Rabajdová, Mária Mareková**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska Fakulta*

**Abstrakt:** Predkladaná pilotná štúdia sa venuje komparatívnej analýze vplyvu estrogénu a progesterónu na vybrané endometriálne epiteliálne bunkové línie RL95-2 (receptívna línia) a AN3CA (nereceptívna línia), ktoré reprezentujú modely pre receptívne, resp. nereceptívne endometrium. Hlavným cieľom štúdie bola analýza vplyvu hormónov na expresiu kľúčových génov zodpovedných za metabolizmus kyseliny hyalurónovej: *CD44*, hyaluronansyntáza 3 (*HAS3*), hyaluronidáza 2 (*HYAL2*) a transmembránový proteín 2 (*TMEM2*). Do analýzy boli zahrnuté aj špecifické gény ovplyvňujúce receptivitu endometria: E-kadherín (*CDH1*) a leukémii inhibujúci faktor (*LIF*). Uskutočnené experimenty preukázali, že už nízke koncentrácie estrogénu významne modulujú expresiu génu *TMEM2*. Pri zvýšených koncentráciách estrogénu boli zaznamenané významné zmeny v expresii génov *HYAL2* a *HAS3*, špecificky v receptívnej bunkovej línii RL95-2, čo poukazuje na úlohu ich génových produktov v procese zmeny výšky výstelky uteru – endometria. Zvýšené koncentrácie estrogénu spôsobili zníženie hladín expresie *CDH1*, ktorý ovplyvňuje receptivitu endometria maternice a podporuje medzibunkovú adhéziu. Analýza vplyvu progesterónu na hladiny mRNA vybraných génov preukázala jeho významný vplyv na zvýšenie expresie génov adhézných molekúl *CD44* a *CDH1*, čo vedie k zvýšeniu adhézných vlastností epitelu, kritických pre úspešnú implantáciu embrya. Analýza dát z databázy Gene Expression Omnibus vyzdvihla významný vplyv mRNA hladín jadrových receptorov pre estrogén a progesterón na molekulárne mechanizmy regulujúce metabolizmus epitelových buniek endometria. Výsledky štúdie zdôrazňujú úlohu kyseliny hyalurónovej v modulácii receptivity endometria a poukazujú na alternatívne možnosti štúdia patofyziologických zmien v receptivite endometria maternice.

**Kľúčové slová:** *estrogén, progesterón, receptivita endometria, kyselina hyalurónová, neplodnosť*

**Abstract:** The presented pilot study focuses on a comparative analysis of the influence of estrogen and progesterone on selected endometrial epithelial cell lines RL95-2 (receptive line) and AN3CA (non-receptive line), which represent models for receptive and non-receptive endometrium, respectively. The main objective of the study was to analyze the influence of hormones on the expression of key genes responsible for hyaluronic acid metabolism: *CD44*, hyaluronan synthase 3 (*HAS3*), hyaluronidase 2 (*HYAL2*), and transmembrane protein 2 (*TMEM2*). The analysis also included specific genes affecting endometrial receptivity: E-cadherin (*CDH1*) and leukemia inhibitory factor (*LIF*). The experiments demonstrated that even low concentrations of estrogen significantly modulate the expression of the *TMEM2* gene. At increased concentrations of estrogen, significant changes in the expression of the *HYAL2* and *HAS3* genes were observed, specifically in the receptive cell line RL95-2, highlighting the role of their gene products in the process of changing the thickness of the uterine lining – the endometrium. Increased concentrations of estrogen caused a reduction in *CDH1* expression levels, which affects the receptivity of the uterine endometrium and promotes intercellular adhesion. The analysis of the effect of progesterone on mRNA levels of selected genes showed its significant impact on increasing the expression of adhesion molecule genes *CD44* and *CDH1*, leading to an increase in the adhesive properties of the epithelium, critical for successful embryo implantation. Data analysis from the Gene Expression Omnibus database highlighted the significant impact of mRNA levels of nuclear receptors for estrogen and progesterone on the molecular mechanisms regulating the metabolism of endometrial epithelial cells. The results of the study emphasize the role of hyaluronic acid in modulating endometrial receptivity and point to

alternative possibilities for studying pathophysiological changes in the receptivity of the uterine endometrium.

**Keywords:** *estrogen, progesterone, endometrial receptivity, hyaluronic acid, infertility*

## Úvod

Neploďnosť, ktorá podľa Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO, World Health Organisation) v súčasnosti postihuje viac ako 10% ženskej populácie, vzniká aj v dôsledku heterogénnych zmien funkcie výstelky maternice – endometria (Zaninovic a Rosenwaks, 2020). Endometrium maternice zohráva kľúčovú úlohu v reprodukcii, najmä pri implantácii embrya, ktorej úspešnosť sa odvíja od vnímavosti, resp. receptivity endometria. Receptivita endometria je prechodná fáza, v ktorej epitel endometria prechádza špecifickými zmenami, aby umožnil adhéziu blastocysty a následnú implantáciu. Táto fáza je kriticky dôležitá, keďže aj malé zmeny na molekulárnej úrovni môžu významne ovplyvniť úspešnosť procesu implantácie (Blanco-Breindel a kol., 2023). Pochopenie molekulárnych základov receptivity endometria má preto zásadný význam pre pokroky v reprodukčnej medicíne a riešenie problému neploďnosti. Estrogén a progesterón predstavujú kľúčové reprodukčné hormóny, riadiace cyklické zmeny endometria. Estrogén prevažuje v proliferačnej fáze, počas ktorej stimuluje rast a proliferáciu endometria. Po ovulácii stúpajú hladiny progesterónu iniciujúce sekrečnú fázu, ktorá je charakterizovaná diferenciaciou endometria a prípravou na potenciálnu implantáciu embrya (Makieva a kol., 2018). Presná regulácia týchto hormónov zabezpečuje prechod endometria fázami proliferácie, diferenciacie a receptivity, čím sa zdôrazňuje úloha estrogénu a progesterónu v úspešnosti reprodukčného procesu. Narušenie schopnosti endometria stať sa vnímavým môže prameniť z hormonálnej nerovnováhy ale aj z rozdielov v hormonálnych odpovediach endometriálnych buniek (Hernández-Vargas a kol., 2020). Kyselina hyalurónová tvoriaca esenciálnu zložku medzibunkovej hmoty, zohráva významnú úlohu v bunkových procesoch, ako je proliferácia, migrácia a adhézia, ktoré sú kľúčové pre remodeláciu a obnovu tkaniva počas menštruačného cyklu (Knudtson a kol., 2019). Z toho dôvodu existuje predpoklad hormonálnej regulácie jej hladín (AM Afify a kol., 2006). Okrem toho, interakcia medzi kyselinou hyalurónovou a jej povrchovými receptormi, ako je CD44, uľahčuje prilnutie blastocysty k endometriu. Tento účinok je využívaný v technikách asistovanej reprodukcie aplikáciou kyseliny hyalurónovej do kultivačného média embrya (tzv. EmbryoGlue®), avšak klinické štúdie v tejto oblasti neposkytujú jednoznačné výsledky o jej pozitívnom vplyve (Karadbhajne a More, 2022; Safari a kol., 2015). Vzhľadom na zložitý vzťah medzi kyselinou hyalurónovou, hormonálnou reguláciou a receptivitou endometria môže pochopenie jej presnej úlohy a mechanizmov jej regulácie poskytnúť cenné poznatky o patofyziológii neploďnosti. Cieľom tejto štúdie je porovnanie vplyvu estrogénu a progesterónu na expresiu mRNA špecifických génov regulujúcich metabolizmus kyseliny hyalurónovej a génov modulujúcich receptivitu endometria v modeli receptívnej (RL95-2) a nereceptívnej (AN3CA) endometriálnej epiteliálnej bunkovej línie. Receptivita týchto buniek je daná schopnosťou adhézie stromálnych JAR buniek voči spomínaným bunkovým líniam (Hohn a kol., 2000).

## Materiál a Metodika

### **Bunkové kultúry:**

Bunky RL95-2 boli kultivované v rastovom médiu DMEM/F12 (Dulbecco's modified Eagle's medium/Nutrient mixture F-12) bez fenolovej červene obsahujúcom 10% FBS (Fetal Bovine Serum), inzulín s koncentráciou 0,005 mg/ml, 1% penicilín/streptomycín a 1mM HEPES (kyselina 2-[4-(2-hydroxyetyl)piperazín-1yl]etánsulfónová). Bunky AN3CA boli kultivované v rastovom médiu MEM (Minimum Essential Medium) suplementovanom 10% FBS, pyruvátom sodným s koncentráciou 1mM, 1X neesenciálnymi aminokyselinami, 1% penicilínom/streptomycínom a 1mM HEPES. Bunky boli inkubované za štandardných podmienok (5% CO<sub>2</sub>, 95% vlhkosť, 37 °C). Neovplyvnené bunkové línie slúžili, ako kontrolná skupina v porovnaní s experimentami, kde bol sledovaný vplyv estrogénu a progesterónu v rozličných koncentráciách.

### ***Efekt estrogénu a progesterónu na metabolickú aktivitu RL95-2 a AN3CA buniek:***

Na určenie vplyvu vybraných hormónov na metabolickú aktivitu RL95-2 a AN3CA buniek bol vykonaný metabolický MTT test. Bunky RL95-2 a AN3CA boli nasadené na 24-jamkovú platničku. Po nasadení boli bunky kultivované 24h do dosiahnutia približne 60% konfluencie a následne synchronizované výmenou média za médium bez FBS po dobu 16h. Po uplynutí doby kultivácie boli k bunkám pridávané hormóny estrogén a progesterón, v koncentráciách: 10 nanomolárnej (nM) /50 nM/100 nM, v médiu obsahujúcom aktívnym uhlím filtrované FBS.

Bunky boli inkubované 24h, 48h, 72h a 120h a následne bola do každej jamky pridaná žltá soľ MTT (3-(4,5-dimetyltiazozyl)-2,5-difenyltetrazolium bromid) vo finálnej koncentrácii 0,25 mg/ml. Počas 3h metabolizovali bunky žltú soľ MTT pomocou mitochondriálnych oxidoreduktáz na nerozpustný formazán. Následne bolo do každej jamky pridaných 100  $\mu$ l 10% Triton X-100 v 0,1 M HCl na rozpustenie formazánových kryštálov a bunky boli inkubované približne 15 min. Bunkový lyzát bol prenesený na 96-jamkovú platničku a absorbancia bola nameraná pri vlnovej dĺžke 570 nm na prístroji BioTek Synergy HTX Multimode Reader (Biotek, Winooski, VT, USA).

### ***Analýza génovej expresie metódou RT-qPCR:***

Celková RNA bola po 24h izolovaná z ovplyvnených (10 nM/50 nM/100 nM) a neovplyvnených (kontrolná skupina) buniek z daných bunkových línií pomocou činidla TRIzol (Qiagen) a RNeasy Micro súpravy (Qiagen) podľa protokolu výrobcu. Meranie koncentrácie a čistoty izolovaných vzoriek RNA sa uskutočnilo pomocou prístroja Nanodrop LC 2000 (Thermo Scientific). Na transkripciu mRNA do cDNA bola použitá komerčná súprava ProtoScript® II First Strand cDNA Synthesis kit (New England Biolabs). Kvantitatívna PCR (qPCR) bola realizovaná na termocykléri LightCycler 480 II (Roche) použitím TaqMan testov génovej expresie (Applied Biosystems). Relatívna génová expresia vybraných génov bola vypočítaná pomocou  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  Livakovej metódy normalizáciou na *GAPDH* ako referenčný housekeeping gén (Livak a Schmittgen, 2001).

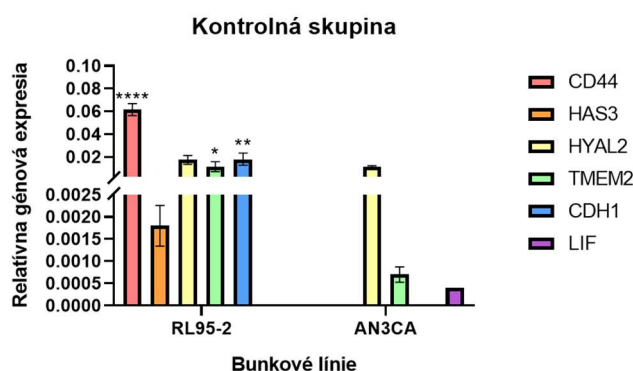
### ***Štatistická analýza:***

Získané údaje boli analyzované pomocou programu GraphPad Prism verzie 8 (GraphPad Software). Pri štatistickej analýze získaných dát bola po overení Gaussovej distribúcie dát použitá jednosmerná ANOVA s Bonferroniho korekciou pre viacero porovnaní a nepárový t-test s Welchovou korekciou. Za štatisticky významný rozdiel medzi analyzovanými skupinami sa považovali hodnoty p na úrovni štatistickej významnosti \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$ . Dáta zobrazené na obrázkoch č. 2 a 3, vznikli transformáciou hodnôt relatívnej génovej expresie ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ) aplikáciou  $y = \log_2(y)$  ako transformačnej funkcie. Výsledkom sú grafy zobrazujúce násobok zmeny génovej expresie v porovnaní s kontrolnou skupinou, ktorej prislúcha hodnota na grafe charakterizovaná rovnicou  $\log_2(1) = 0$ .

## **Výsledky a diskusia**

Predkladaná pilotná štúdia bola zameraná na analýzu vplyvu estrogénu a progesterónu na expresiu mRNA špecifických génov regulujúcich metabolizmus kyseliny hyaluronovej (napr. *CD44*, *HAS3*, *HYAL2* a *TMEM2*) a génov regulujúcich metabolizmus receptivity endometria (napr. *CDH1* a *LIF*) v modeli receptívnej (RL95-2) a nereceptívnej (AN3CA) endometriálnej epiteliálnej bunkovej línie. Hyaluronansyntáza 3 (*HAS3*) predstavuje gén, kódujúci primárny enzým zodpovedný za syntézu kyseliny hyaluronovej. Gény *HYAL2* (hyaluronidáza 2) a *TMEM2* (transmembránový proteín 2) kódujú enzýmy zo skupiny hyaluronidáz, ktoré sa zúčastňujú na degradácii kyseliny hyaluronovej (Unfer a kol., 2021). Publikované štúdie, popisujú kľúčovú úlohu receptora *CD44* pri interakcii blastocysty s endometriálnym epitelom, na základe čoho bol zahrnutý do panelu analyzovaných génov v predkladanej štúdii (AM Afify a kol., 2006; Berneau a kol., 2019). E-kadherín, kódovaný génom *CDH1* má esenciálnu úlohu v medzibunkovej adhézii, ktorá je nevyhnutná pre integritu epitelovej vrstvy endometria (Ochoa-Bernal a Fazleabas, 2020). V rámci štúdie boli analyzované aj mRNA hladiny leukémiu inhibujúceho faktora (*LIF*), vzhľadom na jeho významnú úlohu v mediácii odpovede endometriálnych buniek na progesterón a jeho prínos k príprave receptívneho endometria (Makieva a kol., 2018). Neovplyvnené bunkové línie slúžili, ako kontrolná skupina v porovnaní

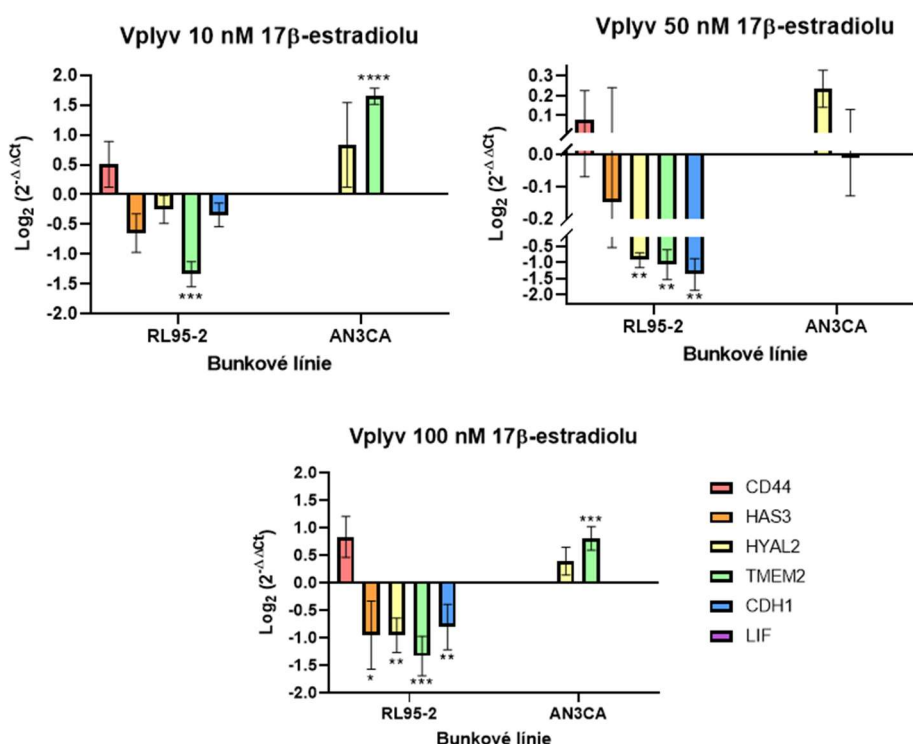
s experimentmi, kde bol sledovaný vplyv estrogénu a progesterónu v rozličných koncentráciách, ako je zobrazené na obrázku č. 1. Boli detegované signifikantné rozdiely hladín expresie adhézných molekúl *CD44* a *CDH1*, čo potvrdzuje receptívny fenotyp bunkovej línie RL95-2. Výsledky uskutočnených analýz, preukázali signifikantný rozdiel v expresii *TMEM2*, naznačujúci možný pozitívny dopad degradácie povrchového hyaluronanu na bunkovú receptivitu. Predmetnú hypotézu o možnom pozitívnom dopade degradácie povrchového hyaluronanu na bunkovú receptivitu podporuje aj redukovaná expresia *HAS3* v kontexte receptívnej línie RL95-2. Úroveň expresie mRNA *LIF* génu, v prípade línie RL95-2 bola úplne absentujúca, zatiaľ čo v línii AN3CA boli zaznamenané len minimálne hladiny *LIF* mRNA ( $0,004 \pm 0,0001$ ). Down-regulovaná expresia *LIF* v oboch skúmaných bunkových líniiach naznačuje, že v sekrečnej fáze endometria môžu byť hlavnými producentmi *LIF* stromálne bunky endometria, a nie bunky endometriálneho epitelu (Chung a kol., 2016).



**Obr. 1** Relatívna expresia analyzovaných génov v rámci bunkových línii RL95-2 a AN3CA. *HAS3* – hyaluronansyntáza 3, *HYAL2* – hyaluronidáza 2, *TMEM2* – transmembránový proteín 2, *CDH1* – E-kadherín, *LIF* – leukémiu inhibujúci faktor. Štatisticky bola porovnaná expresia génov medzi jednotlivými bunkovými líniami (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ). Chybové úsečky zobrazujú  $\pm$  SD.

V rámci predkladanej komparatívnej analýzy sme sa zamerali na sledovanie efektov rôznych koncentrácií estrogénu a progesterónu na moduláciu génovej expresie vybraných génov. Vychádzajúc z existujúcich literárnych údajov, boli zvolené tri rozličné koncentrácie (10 nM/50 nM/100 nM), reprezentujúce typické hormonálne fluktuácie počas menštruačného cyklu (Hart a kol., 2023). V experimentoch zameraných na sledovanie vplyvu estrogénu na mRNA expresiu vybraného panelu génov, bol použitý  $17\beta$ -estradiol (E2), ktorý predstavuje dominujúcu formu estrogénu v kontexte reprodukčných procesov človeka, vyznačujúc sa najvyššou biologickou účinnosťou (Pabbidi a kol., 2018). Pri 10 nM koncentrácii E2, ktorá korešponduje s úvodnými fázami proliferačnej fázy menštruačného cyklu, sme zaznamenali signifikantné ovplyvnenie expresie génu *TMEM2*, ako demonštruje obrázok č. 2. Opačný účinok 10 nM E2 na expresiu *TMEM2* v receptívnej (RL95-2) a nereceptívnej bunkovej línii (AN3CA) naznačuje možný význam redukcie hladiny mRNA tohto génu ako optimálnej bunkovej reakcie na stimuláciu estrogénom v kontexte podpory prípravy receptívneho endometria. Následné päťnásobné zvýšenie koncentrácie E2 spôsobilo v receptívnej línii signifikantný pokles v expresii génov *TMEM2* a *HYAL2*, zatiaľ čo zmeny v expresii *HAS3* neboli štatisticky významné. Okrem toho bol zaznamenaný výrazný pokles E-kadherínu, indukovaný schopnosťou E2 aktivovať proliferáciu endometriálnych buniek cez fosfatidylinozitol-3-kinázovú (PI3K) signalizačnú dráhu, ktorá podporuje epitelovo-mezenchýmovou tranzíciu a indukuje transkripčné represory E-kadherínu, ako sú Snail, Slug a Twist (Xu a kol., 2019). Po pridaní 50 nM E2, nereceptívna bunková línia nevykázala štatisticky signifikantné zmeny v expresii skúmaných génov. V predkladanej štúdii predpokladáme, že 100 nM koncentrácia E2 reprezentuje vrchol proliferačnej fázy pozorovaný *in vivo*. Pri použití 100 nM koncentrácie E2, boli pozorované podobné efekty na zmenu v mRNA hladinách vybraných génov ako pri predchádzajúcich koncentráciách. Navyše bola zaznamenaná signifikantná zmena v expresii *HAS3* génu. Redukciu v expresii *HAS3*, *HYAL2*, *TMEM2* a *CDH1* vplyvom E2, je možné celkovo považovať za signifikantnú zmenu, charakteristickú pre receptívnu bunkovú líniu v modelovej situácii proliferačnej fázy. Rozdiel v

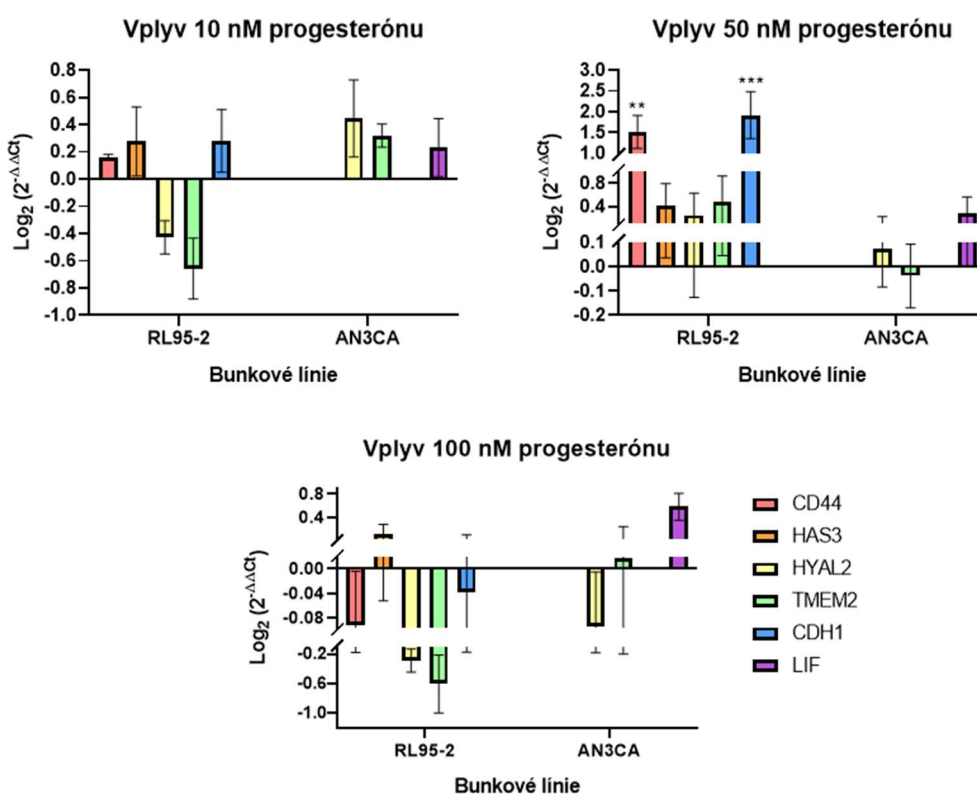
reakcii bunkových línií je zdôraznený zvýšením mRNA hladín *TMEM2*, ktoré sa javí ako špecifické pre nereceptívne bunky. Redukcia expresie génov zapojených do degradácie a syntézy hyaluronanov v epitelových bunkách môže podporiť proces narastajúcej výšky endometria pozorovanej počas proliferačnej fázy, pričom tento proces predstavuje klinicky relevantnú histomorfologickú zmenu (Blanco-Breindel a kol., 2023). Pokles hyaluronidáz v epitelových bunkách na vrchole proliferačnej fázy zároveň obmedzuje degradáciu hyaluronanu v medzibunkovej hmote a stabilizuje výšku endometria (Park a kol., 2021). V rámci experimentov zameraných na estrogén nebolo zaznamenané štatisticky významné zníženie expresie *CD44*, ktoré by v kontexte receptivity endometria mohlo mať negatívny vplyv na úspešnosť implantačného procesu.



**Obr. 2** Zmeny v expresii analyzovaných génov v rámci bunkových línií RL95-2 a AN3CA po hormonálnej modulácii estrogénom E2. *HAS3* – hyaluronansyntáza 3, *HYAL2* – hyaluronidáza 2, *TMEM2* – transmembránový proteín 2, *CDH1* – E-kadherín, *LIF* – leukémiu inhibujúci faktor. Štatisticky bola porovnávaná zmena v génovej expresii hormonálne stimulovaných a nestimulovaných buniek (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ). Chybové úsečky zobrazujú  $\pm$  SD.

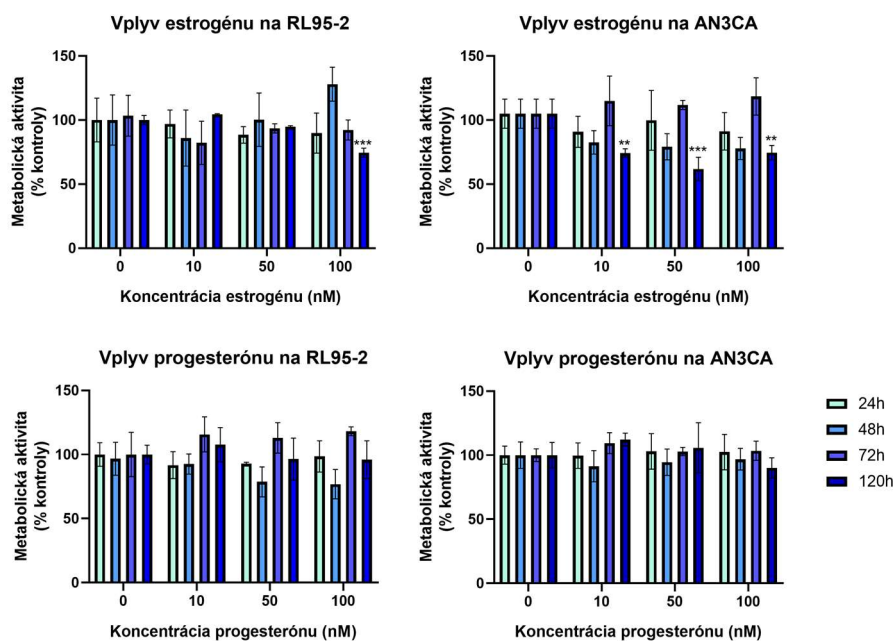
Na sledovanie vplyvu progesterónu na mRNA expresiu vybraného panelu génov bol použitý progesterón označovaný ako P4, vzhľadom na jeho prirodzený výskyt v ľudskom organizme (Makieva a kol., 2018). Pri použití 10 nM koncentrácie P4 boli detegované zmeny v expresii mRNA špecifických génov v oboch bunkových líniách, ktoré však zo štatistického hľadiska neboli významné, ako zobrazuje obrázok č. 3. Totožné výsledky boli zaznamenané aj pri aplikácii 100 nM koncentrácií P4, ktoré modelovali podmienky iniciácie sekrečnej fázy v prostredí *in vivo* (Maybin a Critchley, 2015). Naopak, pri koncentrácii 50 nM P4 sme pozorovali štatisticky významné zmeny v expresii mRNA génov s nosnou funkciou pre ovplyvnenie receptivity endometria, a to: *CD44* a *CDH1*. V predkladanej pilotnej štúdií predpokladáme, že 100 nM koncentrácia progesterónu zodpovedá procesu iniciácie sekrečnej fázy v prostredí *in vivo*, a preto koncentrácia 50 nM progesterónu, by mohla navodzovať a simulovať podmienky receptívneho endometria. Výrazné zvýšenie expresie mRNA génov *CDH1* a *CD44* v dôsledku pôsobenia progesterónu poukazuje na kľúčovú úlohu týchto adhézných molekúl počas receptívnej fázy. Je známe, že *CD44* slúži ako kotviaci receptor pre blastocystu pokrytú hyaluronanom, čím je zásadný pre adhéziu embrya, zatiaľ čo zvýšenie *CDH1* naznačuje pokles endometriálnej plasticity, čo poukazuje na stabilizačnú úlohu tohto proteínu (Berneau a kol., 2019). Nadmerná expresia *CD44*, je považovaná za marker rakovinových kmeňových buniek a je spojená s mezenchýmovým migračným a invazívnym fenotypom. Táto informácia podporuje význam *CD44* v kontexte invazívnej povahy implantácie

embrya (Wang a kol., 2018). Zníženie hladiny CDH1 po úspešnej adhézii blastocysty je preto nevyhnutné pre nasledujúcu epitelovo-mezenchýmovú tranzíciu, ktorá je kľúčová pre implantáciu. Mechanizmus, ktorým sa dosiahne zníženie CDH1 a podporí implantácia, zahŕňa aktiváciu PI3K signalizačnej dráhy prostredníctvom interakcie kyseliny hyalurónovej s receptorom CD44 (Herishanu a kol., 2011; Xu a kol., 2019). Tieto poznatky nám umožňujú naďalej považovať zvýšenú expresiu CDH1 za ďalší podporný faktor v procese receptivity endometria. Predložené výsledky podporujú receptívny fenotyp bunkovej línie RL95-2 a zdôrazňujú odlišnosti medzi vybranými bunkovými líniami, reprezentujúcimi vhodné modely pre štúdium implantačných procesov v asistovanej reprodukcii.



**Obr. 3** Zmeny v expresii analyzovaných génov v rámci bunkových línii RL95-2 a AN3CA po hormonálnej modulácii progesterónom. *HAS3* – hyaluronansyntáza 3, *HYAL2* – hyaluronidáza 2, *TMEM2* – transmembránový proteín 2, *CDH1* – E-kadherín, *LIF* – leukémiu inhibujúci faktor. Štatisticky bola porovnávaná zmena v génovej expresii hormonálne stimulovaných a nestimulovaných buniek (\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ). Chybové úsečky zobrazujú  $\pm$  SD.

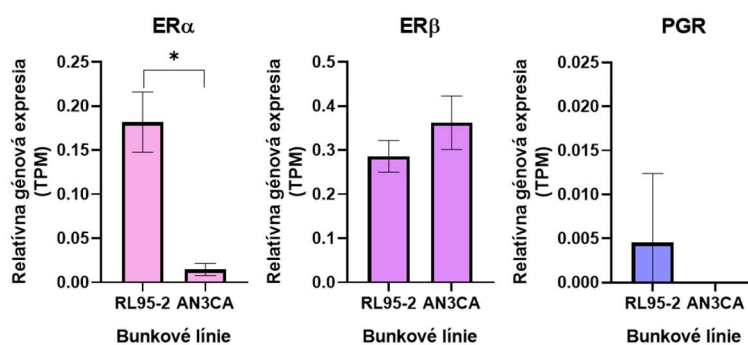
V procese menštruačného cyklu sú bunky endometria vystavené cyklickým hormonálnym zmenám, ktoré sa líšia nielen z kvantitatívneho hľadiska, ale aj z hľadiska doby pôsobenia (Maybin a Critchley, 2015). Analýzy zmien génovej expresie, realizované po 24-hodinovej inkubácii, detegovali bazálne informácie o okamžitých hormonálnych efektoch. Avšak, s cieľom hlbšie charakterizovať dynamiku vplyvu hormonálnej regulácie na expresiu vybraných génov, bolo nevyhnutné rozšíriť časový rámec vplyvu vybraných hormónov na metabolizmus epitelových buniek endometria. V dôsledku toho bol uskutočnený MTT test, charakterizujúci vplyv vybraných hormonálnych koncentrácií na metabolickú aktivitu buniek v rôznych časových intervaloch – konkrétne po 24, 48, 72 a 120 hodinách (Obr. 4).



**Obr. 4** Vplyv estrogénu a progesterónu na metabolickú aktivitu buniek vyjadrenú ako % kontroly. Štatisticky boli porovnávané hormonálne stimulované a nestimulované bunkové línie v jednotlivých časoch (\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ). Chybové úsečky zobrazujú  $\pm$  SD.

Získané výsledky MTT testu preukázali rozdiely oproti zisteniam uvedeným v literatúre, ktoré konštatovali pozitívny vplyv E2 na metabolickú aktivitu RL95-2 (Che a kol., 2019). Prezentované výsledky sa odlišujú aj od publikovanej štúdie zaoberajúcej sa vplyvom estrogénu na bunkovú líniu AN3CA, ktorej závery identifikovali pozitívny vplyv estrogénu na metabolickú aktivitu AN3CA buniek (Sun a kol., 2018). Odlišnosti od výsledkov publikovanej štúdie boli zaznamenané aj v rámci analýzy vplyvu rozličných koncentrácií progesterónu na prežívanie vybraných bunkových línií (Kim a kol., 2013). Avšak, výrazné účinky boli pozorované pri dlhodobom vplyve estrogénu na AN3CA líniu, kde sme zaznamenali pokles metabolickej aktivity po 120 hodinách pri všetkých troch testovaných koncentráciách. Výsledky v citovaných publikáciách nepšpecifikujú konfluenciu pri ktorej boli bunky ovplyvňované hormónmi, čo môže byť jedným z dôvodov odlišných výsledkov v MTT teste. Tieto rozdiely v reakciách buniek možno taktiež pripísať variabilite v expresii hormonálnych receptorov medzi jednotlivými bunkovými líniami. S cieľom overiť túto hypotézu, boli analyzované sekvenčné dáta z databázy Gene Expression Omnibus (GEO), konkrétne súbory GSE214872 a GSE171032, prostredníctvom nástroja GEO2R. Výsledné hodnoty, poskytnuté GEO2R vyjadrujú génovú expresiu v jednotkách transcript per million (TPM), ktoré vzniknú prvotnou normalizáciou dĺžky génu a následnou normalizáciou hĺbky sekvenovania (Zhao a kol., 2020). Analýza, ktorej výsledky sú vizualizované na obrázku 5, identifikovala významné rozdiely v mRNA expresii génu estrogénového receptora  $\alpha$  ( $ER\alpha$ ) medzi bunkovými líniami, ktorý je mediátorom pozitívneho vplyvu E2 na proliferáciu buniek (Fuentes a Silveyra, 2019). Predpokladáme, že vyššie hladiny génovej expzie pro-apoptického estrogénového receptora  $\beta$  ( $ER\beta$ ) môžu modulovať pozitívne účinky E2 na proliferáciu prostredníctvom receptora  $ER\alpha$  v prípade RL95-2 a zároveň by mohli byť príčinou pozorovaného štatisticky významného poklesu prežívania bunkových línií AN3CA po 120 hodinách expzie (Chimento a kol., 2022; Treeck a kol., 2019). Limitovaná alebo absentujúca expresia progesterónového receptora (PGR) znižuje intenzitu jeho vplyvu na prežívanie buniek, čo sa odrazilo v absencii významných zmien v MTT teste. Zvýšená expresia  $ER\alpha$  podporuje expresiu PGR a preto môžu byť pozorované výsledky MTT testu skreslené vplyvom dysfunkčnej estrogénovej signalizácie (Kim a kol., 2013).





**Obr. 5** Relatívna génová expresia receptorov pre estrogén a progesterón v rámci jednotlivých bunkových línií. *ER $\alpha$*  – estrogénový receptor  $\alpha$ , *ER $\beta$*  – estrogénový receptor  $\beta$ , *PGR* – Progesterónový receptor, TPM – transcript per million. Štatisticky bola porovnaná expresia medzi jednotlivými líniami (\*  $p < 0,05$ ). Chybové úsečky zobrazujú  $\pm$  SD.

Na základe odlišností v expresii jadrových receptorov plánujeme tieto výsledky overiť pomocou RT-qPCR reakcie a ozrejmiť tak pozorované rozdiely v MTT teste, ktoré mohli byť spôsobené aj odlišnosťami medzi jednotlivými bunkovými pasážami.

## Záver

Získané výsledky z predkladanej pilotnej štúdie poskytujú nové informácie o hormonálnej modulácii endometriálnych epiteliálnych bunkových línií, pričom sa osobitná pozornosť venuje účinkom estrogénu a progesterónu na reguláciu špecifických génov, ktoré sú nevyhnutné pre fyziologický metabolizmus kyseliny hyalurónovej a ovplyvnenie procesu receptivity endometria. Získané výsledky vplyvu estrogénu na expresiu mRNA génov *HAS3*, *HYAL2*, *TMEM2* a *CDH1* v receptívnej línií RL95-2 poukazujú na ich úlohu v procese zmeny výšky výstelky uteru – endometria, čím modulujú efektivitu implantačného procesu embrya. Analýza vplyvu progesterónu na hladiny mRNA vybraných génov preukázala jeho signifikantný vplyv v rámci receptívnej RL95-2 bunkovej línie na zvýšenie expresie génov adhézných molekúl *CD44* a *CDH1*, ktoré sú dôležité v medzibunkovej adhézii, nevyhnutnej pre zachovanie integrity epitelovej vrstvy endometria a úspešnej adhúzie blastocysty. Analýza dát z databázy Gene Expression Omnibus podporila význam vplyvu mRNA hladín jadrových receptorov pre estrogén a progesterón na molekulárne mechanizmy regulujúce metabolizmus epitelových buniek endometria. Získané výsledky poukazujú na potenciál kyseliny hyalurónovej pri modulácii receptivity endometria a zdôrazňujú esenciálnu nutnosť cielených štúdií modulácie metabolizmu kyseliny hyalurónovej v endometriu matrice s cieľom zvýšenia úspešnosti procesov asistovanej reprodukcie.

## Pod'akovanie

Táto práca vznikla na základe podpory z projektov VEGA 1/0747/24, VEGA 1/0435/23 a APVV-22-0357.

## Literatúra

AM Afify, S Craig, AF Paulino, 2006. Temporal variation in the distribution of hyaluronic acid, CD44s, and CD44v6 in the human endometrium across the menstrual cycle. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 14, 328–333.

Berneau, S.C., Ruane, P.T., Brison, D.R., Kimber, S.J., Westwood, M., Aplin, J.D., 2019. Investigating the role of CD44 and hyaluronate in embryo-epithelial interaction using an in vitro model. *MHR Basic Sci. Reprod. Med.* 25, 265–273. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaz011>

Blanco-Breindel, M.F., Singh, M., Kahn, J., 2023. Endometrial Receptivity, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

- Che, Q., Xiao, X., Xu, J., Liu, M., Lu, Y., Liu, S., Dong, X., 2019.  $17\beta$ -Estradiol promotes endometrial cancer proliferation and invasion through IL-6 pathway. *Endocr. Connect.* 8, 961–968. <https://doi.org/10.1530/EC-19-0258>
- Chimento, A., De Luca, A., Avena, P., De Amicis, F., Casaburi, I., Sirianni, R., Pezzi, V., 2022. Estrogen Receptors-Mediated Apoptosis in Hormone-Dependent Cancers. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 1242. <https://doi.org/10.3390/ijms23031242>
- Chung, T.-W., Park, M.-J., Kim, H.S., Choi, H.-J., Ha, K.-T., 2016. Integrin  $\alpha V\beta 3$  and  $\alpha V\beta 5$  are required for leukemia inhibitory factor-mediated the adhesion of trophoblast cells to the endometrial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 469, 936–940. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.12.103>
- Fuentes, N., Silveyra, P., 2019. Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* 116, 135–170. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>
- Hart, A.R., Khan, N.L.A., Dissanayake, K., Godakumara, K., Andronowska, A., Eapen, S., Heath, P.R., Fazeli, A., 2023. The Extracellular Vesicles Proteome of Endometrial Cells Simulating the Receptive Menstrual Phase Differs from That of Endometrial Cells Simulating the Non-Receptive Menstrual Phase. *Biomolecules* 13, 279. <https://doi.org/10.3390/biom13020279>
- Herishanu, Y., Gibellini, F., Njuguna, N., Hazan-Halevy, I., Keyvanfar, K., Lee, E., Wilson, W., Wiestner, A., 2011. CD44 signaling via PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways protects CLL cells from spontaneous and drug induced apoptosis through MCL-1. *Leuk. Lymphoma* 52, 1758–1769. <https://doi.org/10.3109/10428194.2011.569962>
- Hernández-Vargas, P., Muñoz, M., Domínguez, F., 2020. Identifying biomarkers for predicting successful embryo implantation: applying single to multi-OMICs to improve reproductive outcomes. *Hum. Reprod. Update* 26, 264–301. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz042>
- Hohn, H.-P., Linke, M., Denker, H.-W., 2000. Adhesion of trophoblast to uterine epithelium as related to the state of trophoblast differentiation: In vitro studies using cell lines. *Mol. Reprod. Dev.* 57, 135–145. [https://doi.org/10.1002/1098-2795\(200010\)57:2<135::AID-MRD4>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1098-2795(200010)57:2<135::AID-MRD4>3.0.CO;2-9)
- Karadbhajne, P., More, A., 2022. Effect of Hyaluronic Acid-Enriched Media in Embryo Implantation. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.27083>
- Kim, J.J., Kurita, T., Bulun, S.E., 2013. Progesterone Action in Endometrial Cancer, Endometriosis, Uterine Fibroids, and Breast Cancer. *Endocr. Rev.* 34, 130–162. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1043>
- Knudtson, J.F., McLaughlin, J.E., Santos, M.T., Binkley, P.A., Tekmal, R.R., Schenken, R.S., 2019. The Hyaluronic Acid System is Intact in Menstrual Endometrial Cells in Women With and Without Endometriosis. *Reprod. Sci.* 26, 109–113. <https://doi.org/10.1177/1933719118766257>
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C(T)}$  Method. *Methods San Diego Calif* 25, 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Makieva, S., Giacomini, E., Ottolina, J., Sanchez, A.M., Papaleo, E., Viganò, P., 2018. Inside the Endometrial Cell Signaling Subway: Mind the Gap(s). *Int. J. Mol. Sci.* 19, 2477. <https://doi.org/10.3390/ijms19092477>
- Maybin, J.A., Critchley, H.O.D., 2015. Menstrual physiology: implications for endometrial pathology and beyond. *Hum. Reprod. Update* 21, 748–761. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv038>

- Ochoa-Bernal, M.A., Fazleabas, A.T., 2020. Physiologic Events of Embryo Implantation and Decidualization in Human and Non-Human Primates. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 1973. <https://doi.org/10.3390/ijms21061973>
- Pabbidi, M.R., Kuppusamy, M., Didion, S.P., Sanapureddy, P., Reed, J.T., Sontakke, S.P., 2018. Sex differences in the vascular function and related mechanisms: role of 17 $\beta$ -estradiol. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* 315, H1499–H1518. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00194.2018>
- Park, S.-R., Kim, S.-R., Im, J.B., Park, C.H., Lee, H.-Y., Hong, I.-S., 2021. 3D stem cell-laden artificial endometrium: successful endometrial regeneration and pregnancy. *Biofabrication* 13, 045012. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ac165a>
- Safari, Somayyeh, Razi, M.H., Safari, Samira, Razi, Y., 2015. Routine use of EmbryoGlue(®) as embryo transfer medium does not improve the ART outcomes. *Arch. Gynecol. Obstet.* 291, 433–437. <https://doi.org/10.1007/s00404-014-3416-0>
- Sun, P., Mao, X., Gao, M., Huang, M., Chen, L., Ruan, G., Huang, W., Braicu, E.I., Sehouli, J., 2018. Novel endocrine therapeutic strategy in endometrial carcinoma targeting estrogen-related receptor  $\alpha$ ; by XCT790 and siRNA. *Cancer Manag. Res.* 10, 2521–2535. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S168043>
- Treec, O., Diepolder, E., Skrzypczak, M., Schüler-Toprak, S., Ortmann, O., 2019. Knockdown of estrogen receptor  $\beta$  increases proliferation and affects the transcriptome of endometrial adenocarcinoma cells. *BMC Cancer* 19, 745. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5928-2>
- Unfer, V., Tilotta, M., Kaya, C., Noventa, M., Török, P., Alkatout, I., Gitas, G., Bilotta, G., Laganà, A.S., 2021. Absorption, distribution, metabolism and excretion of hyaluronic acid during pregnancy: a matter of molecular weight. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 17, 823–840. <https://doi.org/10.1080/17425255.2021.1931682>
- Wang, L., Zuo, X., Xie, K., Wei, D., 2018. The Role of CD44 and Cancer Stem Cells, in: Papaccio, G., Desiderio, V. (Eds.), *Cancer Stem Cells: Methods and Protocols*. Springer, New York, NY, pp. 31–42. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7401-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7401-6_3)
- Xu, R., Won, J.-Y., Kim, C.-H., Kim, D.-E., Yim, H., 2019. Roles of the Phosphorylation of Transcriptional Factors in Epithelial-Mesenchymal Transition. *J. Oncol.* 2019, e5810465. <https://doi.org/10.1155/2019/5810465>
- Zaninovic, N., Rosenwaks, Z., 2020. Artificial intelligence in human in vitro fertilization and embryology. *Fertil. Steril.* 114, 914–920. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.09.157>
- Zhao, S., Ye, Z., Stanton, R., 2020. Misuse of RPKM or TPM normalization when comparing across samples and sequencing protocols. *RNA* 26, 903–909. <https://doi.org/10.1261/rna.074922.120>

# EXPERIMENTÁLNE ŠTÚDIUM MAGNETICKÝCH NANOČASTÍC PRE MAGNETICKÚ SEPARÁCIU DNA/RNA

*Experimental study of magnetic nanoparticles for magnetic separation DNA/RNA*

Michael BARUTIAK

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta*

**Abstrakt:** Práca sa zaoberá problematikou aplikácie magnetických nanočastíc ako separačných činidiel nukleových kyselín v RT-PCR testovaní. Opisuje a zároveň približuje mechanizmus viazania nukleových kyselín na magnetické nanočastice. Jedným z hlavných cieľov práce je navrhnuť také nanočasticové systémy, ktoré by svojimi špecifickými vlastnosťami ako je tvar, veľkosť magnetického momentu, či prítomnosť ligandu na povrchu nanočastíc, urýchlili separáciu nukleových kyselín a zvýšili množstvo naviazaného genetického materiálu počas RT-PCR testovania. Potenciál magnetických nanočastíc viazať DNA/RNA molekuly je preskúmaný na nanočasticách typu Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> obalených SiO<sub>2</sub> so špecifickým organickým ligandom na povrchu. Tento typ nanočastíc je zároveň charakterizovaný z hľadiska štruktúry, morfológie a magnetických vlastností.

**KLúčové slová:** *Magnetické nanočastice, separácia DNA/RNA, PCR, nukleové kyseliny, špecifické ligandy.*

**Abstract:** The thesis deals with the application of magnetic nanoparticles as nucleic acid separation reagents in RT-PCR assays. It describes theoretically this method, its advantages and disadvantages, and also presents the mechanism of binding of nucleic acids to magnetic nanoparticles. One of the main objectives of the work is to design such nanoparticle systems that, by their specific properties such as shape, magnetic moment magnitude, or the presence of ligand on the nanoparticle surface, would accelerate the separation of nucleic acids and increase the amount of bound genetic material during RT-PCR testing. The potential of magnetic nanoparticles to bind DNA/RNA molecules is investigated on SiO<sub>2</sub>-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-type nanoparticles with a specific organic ligand on the surface. This type of nanoparticles is also characterized in terms of structure, morphology and magnetic properties.

**Keywords:** *Magnetic nanoparticles, DNA/RNA separation, PCR, nucleic acids, specific ligands.*

## Nanočastice využívané na detekciu nukleových kyselín

Magnetické nanočastice (MNP) majú vlastnosti magnetických častíc aj nanočastíc (NP), ktoré vieme označiť v rozmedzí od 1 do 100 nm a v magnetickom poli vytvárajú odozvu. MNP majú vysoký pomer plochy povrchu k objemu, vysokú rýchlosť väzby s detekčnými látkami a môžu vykonávať magneticky ovládateľnú agregáciu a disperziu, vďaka čomu je predkoncentrácia, čistenie a separácia nukleových kyselín jednoduchá a ľahká. MNP majú dobrú disperzibilitu, ktorá dokáže viazať biomolekuly rýchlo a efektívne. Väzba je reverzibilná a agregácia a disperzia MNP môžu byť kontrolované. V neprítomnosti vonkajšieho magnetického poľa sú častice nemagnetické a sú rovnomerne suspendované v roztoku, zatiaľ čo keď sa aplikuje vonkajšie magnetické pole, častice vykazujú magnetické správanie a môžu sa oddeliť od zvyšku suspenzie. Aktívne látky, ako sú bioaktívne adsorbenty alebo iné ligandy pripojené k povrchu MNP, môžu byť kombinované so špecifickými biomolekulami, ako sú enzýmy, DNA, proteíny, a separované pôsobením vonkajšieho magnetického poľa. Táto metóda vykazuje/poskytuje vysokú špecifickosť, rýchlu separáciu a dobrú reprodukovateľnosť. MNP môžu byť aplikované aj v biosenzoroch za účelom zlepšenia citlivosti detekcie nukleových kyselín (Tang *et al.*, 2020a; Yajima *et al.*, 2022). Medzi rôznymi typmi nanočastíc ponúkajú kovové nanočastice charakteristické vlastnosti, ako je zosilnenie optického signálu, poskytujúce silný rozptyl viditeľného svetla pri interakcii, čo možno použiť na biosnímanie (Jans and Huo, 2012). MNP majú dobrú disperzibilitu a schopnosť rýchlo a účinne viazať biomolekuly. Častice sú rovnomerne dispergované v roztoku bez vonkajšieho magnetického poľa, avšak po aplikácii vonkajšieho magnetického poľa MNP agregujú (Obr. 1), čo umožňuje separáciu

naviazaných biomolekúl, ako sú enzýmy, DNA a proteíny z roztoku. Tento prístup ponúka vysokú špecifickosť, rýchlu separáciu a dobrú reprodukovateľnosť. Je široko používaný v niekoľkých biotechnológiách a medicínskych oblastiach. Z tohto hľadiska predstavujú MNP užitočný a jednoduchý systém na efektívnu predkoncentráciu, purifikáciu a separáciu nukleových kyselín vďaka ich elektrochemickým, fluorescenčným alebo magnetickým rezonančným vlastnostiam (Jans and Huo, 2012; Tang *et al.*, 2020b).

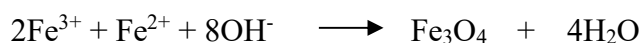


**Obr. 1** Agregácia MNP po aplikácii vonkajšieho magnetického poľa.

Separácia a obohatenie nukleových kyselín z klinických vzoriek sú nevyhnutné na detekciu vírusov a baktérií pomocou polymerázovej reťazovej reakcie (PCR). V súčasnosti boli vyvinuté rôzne mikrometrové magnetické častice potiahnuté oxidom kremičitým na zlepšenie účinnosti, citlivosti detekcie a trvania purifikačných postupov PCR (Akutsu *et al.*, 2004). V porovnaní s magnetickými časticami potiahnutými oxidom kremičitým s veľkosťou mikrometra majú MNP potiahnuté oxidom kremičitým väčší povrch a mohli by efektívnejšie separovať/na svoj povrch viazať DNA a RNA zo vzoriek. Citlivosť purifikácie nukleových kyselín sa významne zvýšila s vývojom MNP obalených organickými ligandmi (Hossain *et al.*, 2020; Hu, Chen and Chen, 2020). Modifikované MNP boli použité na extrakciu vírusových (HBV, HCV a HIV) nukleových kyselín a ich následnú amplifikáciu. Pozitívne nabité maghemitové NP potiahnuté oxidom kremičitým a rôznymi organickými ligandami vykazovali vysokú rýchlosť získavania DNA. Najsilnejšie izolačné systémy poukázali na úlohu veľkosti a zeta potenciálu nanočastíc v mechanizme viazania DNA. Hoci sa ukázalo, že MNP by sa mohli účinne použiť na separáciu vírusových nukleových kyselín, stále je potrebná ďalšia štúdia na zlepšenie ich stability, povrchovej funkcionalizácie, väzby ligandov a účinnosti magnetickej separácie pri aplikácii vonkajšieho magnetického poľa (Haddad *et al.*, 2016).

### Charakterizácia magnetických nanočastíc na báze Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> obalených SiO<sub>2</sub> s organickým ligandom

Magnetické jadro Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> bolo syntetizované metódou ko-precipitácie. Príslušné množstvá Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> a Fe(SO<sub>4</sub>).7H<sub>2</sub>O boli rozpustené v destilovanej vode v stechiometrickom pomere 2:1. Roztok sa zahrial na 60 °C a potom sa rýchlo pridalo 15 ml NH<sub>4</sub>OH. Čierna zrazenina sa zachytila sedimentáciou, premyla vodou a vysušila pri izbovej teplote. Molárne pomery sa upravili tak, aby veľkosť pripravených nanočastíc bola približne do 10 nm (Mandel *et al.*, 2011). Postup syntézy je opísaný nasledovne:



K získaným nanočasticiam Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> sa pridalo TEOS, aby sa získali nanočastice s jadrom a obalom z oxidu kremičitého, na ktorý sa potom naviazali rôzne ligandy. Pripravili sa štyri rôzne vzorky označené ako S2, S3, S7 a S12, kde vo vzorke S2 je 3-(aminopropyl)triethoxysilán (APTES) C<sub>9</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>Si, S3 je (3-merkaptopropyl)trimetoxysilán (MPTMS) HS(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>Si(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, vo vzorke S7 je fenyl-3-aminopropyltrimetoxysilán (FAPTMS) C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>Si(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> a vo vzorke S12 je 3-(trimetoxysilyl)propylmetakrylát (MMSP) H<sub>2</sub>C=C(CH<sub>3</sub>)CO<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>Si(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. Ako východisko pre syntézu boli použité dvojvrstvové vzorky, ktorých štruktúrna charakterizácia potvrdila, že jadro tvoria

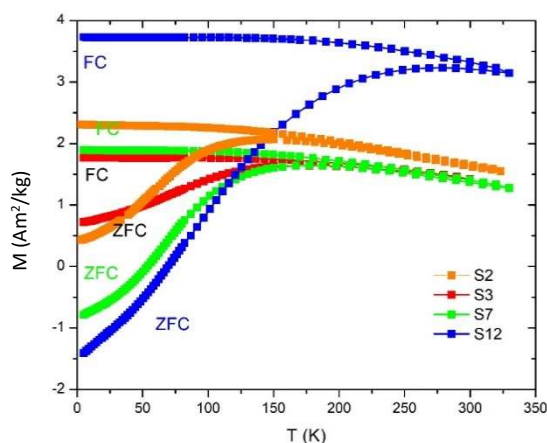
magnetické nanočastice  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  obalené vrstvou  $\text{SiO}_2$ . Následne na túto základnú vzorku boli modifikované rôzne organické ligandy. Základ pre všetky štyri ligandované vzorky je totožný.

Detailná morfológická analýza vzoriek S1, S2, S3, S7 a S12 poukazuje na približne sférický tvar nanočastíc. Tieto nanočastice v prípade vzorky S1 dosahujú veľkosť  $19,8 \text{ nm} \pm 1,2 \text{ nm}$ , S2 dosahujú veľkosť  $59,61 \text{ nm} \pm 1,08 \text{ nm}$ , v prípade vzorky S3  $23,1 \text{ nm} \pm 1,1 \text{ nm}$ , vo vzorke S7  $56 \text{ nm} \pm 1,06 \text{ nm}$  a v prípade vzorky S12  $77,4 \text{ nm} \pm 1,10 \text{ nm}$ .

Merania XRD sa uskutočnili v reflexnom režime s použitím Bragg-Brentanovej reflexnej geometrie a potvrdili prítomnosť kubickej fázy  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Analýza difrakčného profilu sa vykonala pomocou Williamsovej-Hallovej metódy. Difrakčný profil sa potom modeloval pomocou Lorentzovej funkcie. Merala sa štandardná vzorka Si, aby sa určila rozlišovacia funkcia pozadia prístroja. Pribeh regresnej priamky opisuje mikronarastajúce napätie  $\varepsilon$  a priemernú veľkosť zrna  $D$ ,  $11,0 \pm 2,1 \text{ nm}$  a  $(37,5 \pm 19,0) \times 10^{-4}$ .

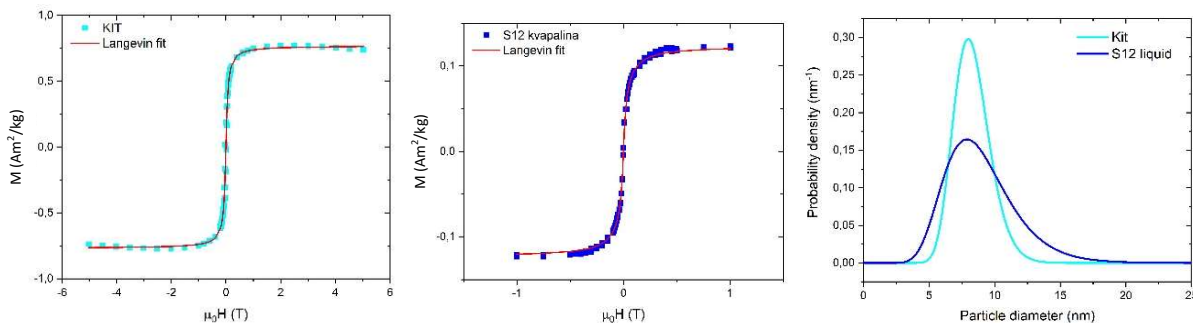
Meranie magnetických vlastností sa uskutočnilo na magnetometri MPMS 5XL na báze SQUID, Quantum Design, v teplotnom rozsahu od 2 K do 330 K a v jednosmernom poli do 50 000 Oe. Vzorka v práškovom stave bola zabezpečená proti pohybu a vložená do plastového držiaka. Vzorka S12 sa merala aj v kvapalnej forme s koncentráciou 20 mg práškovej vzorky v 1 ml fyziologického roztoku s  $\text{pH} = 7$ .

Z nameraných magnetických výsledkov sme vytvorili graf kriviek ZFC-FC (Obr. 2) našich štyroch nameraných vzoriek. Pri všetkých štyroch nameraných dát môžeme vidieť náznak prítomnosti silných medzičasticových interakcií, čo naznačuje FC plató (Poddar *et al.*, 2005; Peddis *et al.*, 2009). Krivky majú podobný tvar pre vzorky S2, S3 a S7, čo nám hovorí o podobnom magnetickom správaní, ktoré sa líši od vzorky S12. Keďže magnetické jadrá sú rovnaké pre všetky tri vzorky, dané rozdiely v tvaroch kriviek pripisujeme ligandom, ktoré sú viazané na magnetické jadrá a sú odlišné pre každú vzorku. Interakcie medzi časticami sa okrem iného prejavujú posunom maxim ZFC k vyšším teplotám. Preto môžeme očakávať silnejšie interakcie pre vzorku S12 ako pre vzorky S2, S3 a S7, pričom pre dané tri vzorky sú podobne silné (porovnateľné). Na silu interakcií medzi časticami má vplyv aj vzdialenosť medzi nanočasticami. Na základe daných výsledkov predpokladáme, že obal vo vzorke S2, S3 a S7 má približne rovnakú veľkosť a je hrubší ako vo vzorke S12. Kvôli tenšiemu obalu pri vzorke S12 sú častice bližšie pri sebe, a keďže dipólová interakcia medzi momentmi častíc klesá s tretou mocninou ich vzdialenosti, bližšie nanočastice majú silnejšiu vzájomnú interakciu, ako je to v prípade vzorky S12, ktorej sila interakcie je väčšia v porovnaní so vzorkami S2, S3 a S7, čo posúva maximálnu teplotu ZFC k vyšším teplotám. Zároveň je magnetizácia vzorky S12 väčšia ako magnetizácia vzoriek S2, S3 a S7, čo je v súlade s našou hypotézou, pretože v prípade magnetizácie vzoriek S2, S3 a S7 sa magnetický moment jadier delí väčším množstvom nemagnetickej zložky, ktorou je v tomto prípade obal, ktorý je väčší ako vo vzorke S12.



**Obr. 2** Teplotná závislosť magnetizácie meraná v režimoch ZFC/FC pri 100 Oe pre 4 rôzne vzorky s organickými ligandmi. Modrý symbol predstavuje vzorku S12, oranžový symbol vzorku S2, červený symbol vzorku S3 a modrý symbol vzorku S7 (Barutiak *et al.*, 2023).

V našej práci sme porovnali magnetické vlastnosti nanočastíc používaných v komerčnom PCR KIT-e s magnetickými vlastnosťami nami pripravenej vzorky S12 (Obr. 3). Z nami nameraných hodnôt vidíme, že krivky sú kvalitatívne veľmi podobné, čo naznačuje porovnateľnú magnetickú veľkosť použitých magnetických nanočastíc  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , ale magnetizácia komerčnej vzorky je odlišná. Predpokladáme, že nižšia hodnota magnetizácie vo vzorke S12 ako v komerčnom KITE je spôsobená nižšou koncentráciou magnetických nanočastíc v meranom kvapalnom roztoku, keďže výrobca komerčného KIT-u koncentráciu neuvádza.



Obr. 3 Porovnanie magnetických vlastností nanočastíc použitých v komerčnej PCR súprave s magnetickými vlastnosťami našej vzorky S12 meranej v kvapalnej forme.

### Schopnosť študovaných nanočastíc viazať RNA

Vykonalí sme protokol extrakcie RNA pomocou MNP a fluorescenčný test vytesnenia etídiumbromidu na našich vzorkách S1, S2, S3 a S12 aby sme zistili potenciál našich vzoriek viazať RNA. Na skúmanie schopnosti študovaných nanočastíc  $\text{SiO}_2\text{@MNP}$  extrahovať RNA sa použil jednoduchý väzobno-preplachovací-elučný protokol. Prebehla inkubácia 1 mg/ml RNA v zmesi s 80  $\mu\text{l}$   $\text{SiO}_2\text{@MNP}$  (40 mg/ml) a s väzobným pufrom obsahujúcim PEG 20 000. Je známe, že PEG sa adsorbuje na kremík prostredníctvom vodíkovej väzby s povrchovými silanolovými skupinami. Preto možno očakávať kompetitívne vytlačenie RNA z povrchu NP. RNA naviazaná na  $\text{SiO}_2\text{@MNP}$  sa extrahovala pomocou vonkajšieho magnetického poľa, po extrakcii nasledovalo stanovenie koncentrácie RNA v eluovanom roztoku. Z meraní nám vyšli hodnoty ktoré môžete vidieť v tabuľke 1 v časti Separation efficiency.

Tab. 1:

$\text{SiO}_2\text{@MNP}$	Biological activity	
	Binding potential $\text{EC}_{50}$ (mg/mL)	Separation efficiency (%)
S1	13.48	7.43
S12	5.233	2.27
S3	3.958	0.42
S2	1.759	66.79

Schopnosť študovaných nanočastíc viazať RNA:

Etídium bromid, kationové farbivo, ktoré interaguje silne a špecificky s RNA a DNA, sa široko používa v spektrofluorimetrických štúdiách, pre nápadné zvýšenie fluorescenci (Olmsted and Kearns, 1977). Schopnosť študovaných MNP viazať RNA sa zisťovala pomocou fluorescenčného testu vytesnenia etídiumbromidu (EtBr). EtBr bol rozpustený a bol pripravený 1 mM zásobný roztok v 10 mM roztoku TRIS-0,1 mM EDTA (pH 8,0, DNA, bez RNA). RNA bola rozpustená na koncentráciu 1 mg/ml v 10 mM fosfátovom pufrí (pH 7,4) a sonifikovaná 10 min. Koncentrácia RNA bola stanovená pomocou UV-VIS spektroskopie ( $\epsilon_{260} = 7800 \text{ l/M.cm}$ ). Zásobný roztok RNA bol potom zriedený pomocou 10 mM TRIS-EDTA pufru na 50  $\mu\text{g/ml}$ . Najprv sa roztoky RNA a EtBr inkubovali v pomere 5:1. Potom sa študované nanočastice  $\text{SiO}_2\text{@MNP}$  pridali ku komplexom RNA-EtBr v širokom rozsahu koncentrácií (pomer  $\text{SiO}_2\text{@MNP}$  k RNA-EtBr sa pohyboval od 500:1 do 1:200). Intenzita fluorescencie EtBr sa merala v 96-jamkovej platni po 30 minútach inkubácie v tme pri 25

°C pomocou čítačky Synergy Mx (BioTech) (Obr. č.10). Excitačná vlnová dĺžka bola 545 nm a emisné spektrá sa detekovali v rozsahu 595 – 700 nm. Vzorky bez NP predstavovali kontrolu (100 %) (Bednarikova *et al.*, 2023).

Meranie študovaných SiO<sub>2</sub>@MNP (S1, S12, S3, S2) pri Fluorescenčnom teste vytesnenia etídiumbromidu viedlo k odstráneniu EtBr pozorovanému ako pokles intenzity fluorescencie. Väzba študovaných SiO<sub>2</sub>@MNP na RNA viedla k poklesu fluorescencie EtBr v závislosti od koncentrácie. Z koncentračnej závislosti sa vypočítala hodnota EC<sub>50</sub>. Táto hodnota udáva koncentráciu MNP s 50 % účinnosťou odstránenia EtBr z povrchu RNA (Tab. 1, Binding potential EC<sub>50</sub>).

Z nameraných výsledkov môžeme povedať že z testovaných vzoriek sa javí najlepšie vzorka S2 s najnižšou hodnotou EC<sub>50</sub> a najvyššou RNA separačnou schopnosťou z pomedzi našich vzoriek (Tab. 1).

## Záver

Cieľom práce bolo oboznámiť sa s tematikou magnetických nanočastíc ako separátorov nukleových kyselín a navrhnúť také nanočastice, ktoré by značne urýchlili a zefektívili proces separácie. Boli pripravené magnetické nanočastice s jadrom Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> pokryté obalom z oxidu kremičitého SiO<sub>2</sub>, na ktorý boli naviazané rôzne organické ligandy.

Nami syntetizované nanočastice boli charakterizované z hľadiska štruktúry, morfológie a magnetických vlastností. Magnetické vlastnosti boli skúmané pomocou SQUID magnetometri na štyroch nami pripravených vzorkách S2, S3, S7 a S12 a na vzorke nanočastíc z komerčnej súpravy určenej na RT-PCR. Pomocou Langevinovej funkcie boli fitované veľkosti častíc v roztoku ako aj ich veľkostná distribúcia. Toto meranie bolo dôležité pre stanovenie nevyhnutnej koncentrácie nanočastíc v roztoku, čo je dôležité pre porovnávanie našich vzoriek s komerčným KIT-om ktorý sa používa pri štandardných RT-PCR testoch.

Pomocou röntgenovej difrakcie bolo potvrdené, že vzorky S2, S3, S7 a S12 majú rovnaké magnetické jadrá zložené z Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> a obalu SiO<sub>2</sub> a jednotlivé rozdiely v magnetickom správaní boli spôsobené prítomnosťou rôznych ligandov na ich povrchu. SEM pozorovania potvrdili sférický tvar nanočastíc. Zetapotenciál všetkých študovaných vzoriek (okrem vzorky S2) potvrdzuje dostatočne veľké záporné hodnoty, ktoré hovoria o ich dobrej koloidnej stabilite.

Nakoniec bol preskúmaný ich potenciál viazať DNA/RNA molekuly a to protokolom extrakcie RNA pomocou MNPs a fluorescenčným testom vytesnenia etídiumbromidu. Z daných metodík nám ako najlepšie vyšli nanočastice S2, ktoré dokonca pri protokole extrakcie RNA pomocou MNP vykazovali o 60% lepšiu účinnosť separácie ako nanočastice S1, ktoré ligand neobsahujú.

Výsledky tejto práce majú význam pre ďalší výskum a návrh experimentov, ktoré umožnia nájsť magnetické nanočastice, ktoré budú mať rovnaké, prípadne lepšie separačné vlastnosti ako nanočastice používané v komerčnom KIT-e na magnetickú separáciu pomocou RT-PCR.

## Literatúra

Akutsu, J. *et al.* (2004) 'Development of an integrated automation system with a magnetic bead-mediated nucleic acid purification device for genetic analysis and gene manipulation', *Biotechnology and Bioengineering*, 86(6), pp. 667–671. Available at: <https://doi.org/10.1002/bit.20049>.

Barutiak, M. *et al.* (2023) 'Comparison of magnetic properties of magnetic beads for magnetic separation', in, p. 040001. Available at: <https://doi.org/10.1063/5.0136666>.

Bednarikova, Z. *et al.* (2023) 'Silica-magnetite nanoparticles: Synthesis, characterization and nucleic acid separation potential', *Surfaces and Interfaces*, 39, p. 102942. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2023.102942>.



- Haddad, Y. *et al.* (2016) 'The Isolation of DNA by Polycharged Magnetic Particles: An Analysis of the Interaction by Zeta Potential and Particle Size', *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4), p. 550. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms17040550>.
- Hossain, S. *et al.* (2020) 'A simple *in situ* synthesis of iron oxide magnetic nanoparticles embedded in thermosensitive polymer for DNA capture', *Journal of Materials Research*, 35(18), pp. 2441–2450. Available at: <https://doi.org/10.1557/jmr.2020.192>.
- Hu, W.-P., Chen, Y.-C. and Chen, W.-Y. (2020) 'Improve sample preparation process for miRNA isolation from the culture cells by using silica fiber membrane', *Scientific Reports*, 10(1), p. 21132. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78202-8>.
- Jans, H. and Huo, Q. (2012) 'Gold nanoparticle-enabled biological and chemical detection and analysis', *Chem. Soc. Rev.*, 41(7), pp. 2849–2866. Available at: <https://doi.org/10.1039/C1CS15280G>.
- Mandel, K. *et al.* (2011) 'Synthesis and stabilisation of superparamagnetic iron oxide nanoparticle dispersions', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 390(1–3), pp. 173–178. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.09.024>.
- Olmsted, J. and Kearns, D.R. (1977) 'Mechanism of ethidium bromide fluorescence enhancement on binding to nucleic acids', *Biochemistry*, 16(16), pp. 3647–3654. Available at: <https://doi.org/10.1021/bi00635a022>.
- Peddis, D. *et al.* (2009) 'Magnetism in Nanoparticles: Beyond the Effect of Particle Size', *Chemistry – A European Journal*, 15(32), pp. 7822–7829. Available at: <https://doi.org/10.1002/chem.200802513>.
- Poddar, P. *et al.* (2005) 'Inter-particle interactions and magnetism in manganese–zinc ferrite nanoparticles', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 288, pp. 443–451. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2004.09.135>.
- Tang, C. *et al.* (2020a) 'Application of magnetic nanoparticles in nucleic acid detection', *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1), p. 62. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00613-6>.
- Tang, C. *et al.* (2020b) 'Application of magnetic nanoparticles in nucleic acid detection', *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1), p. 62. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00613-6>.
- Yajima, S. *et al.* (2022) 'Photo-Cross-Linked Probe-Modified Magnetic Particles for the Selective and Reliable Recovery of Nucleic Acids', *ACS Omega*, 7(15), pp. 12701–12706. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c07012>.

# BIODEGRADOVATEĽNÉ MATERIÁLY NA BÁZE ZN

## *Zn based biodegradable materials*

Viktória Čákyová, Radka Gorejová, Renáta Oriňaková

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

**Abstrakt:** Za posledných 20 rokov sa čoraz viac pozornosti venuje biologicky odbúrateľným kovom, ako sú zliatiny na báze horčíka (Mg), železa (Fe) a zinku (Zn). Z týchto kovov je zinok nevyhnutným stopovým prvkom, ktorý je potrebný pre stovky enzýmov a signálnych dráh. Zn sa podieľa aj na fyziologických činnostiach, ako je metabolizmus kostí, proangiogenéza a mineralizácia kostného tkaniva. Okrem toho štandardný elektródový potenciál Zn (-0,763 V) sa nachádza medzi potenciálom Mg (-2,37 V) a Fe (-0,44 V) so strednou rýchlosťou degradácie, ktorá spĺňa požiadavky na rýchlosť degradácie pri súbežnej obnove kostného tkaniva v mieste implantácie takéhoto materiálu v tele. Zliatiny na báze Zn sa ako vstrebateľný kov môžu rozpúšťať v ľudskom tele pri hojení kostného a cievneho tkaniva. Vďaka svojim vynikajúcim vlastnostiam majú zliatiny na báze Zn sľubné uplatnenie v rôznych biodegradovateľných implantovateľných zariadeniach (Liu et al., 2022). V tejto štúdií sme postupne pripravili relatívne nové biologicky odbúrateľné zliatiny Zn-Ag metódou práškovej metalurgie a študovali sme korózne správanie týchto materiálov.

**KLúčové slová:** zinok, rýchlosť degradácie, korózne správanie, biologicky odbúrateľný kov

**Abstract:** Over the past 20 years, there has been increasing attention toward biodegradable metals, such as alloys based on magnesium (Mg), iron (Fe), and zinc (Zn). Among these metals, zinc is an essential trace element required for hundreds of enzymes and signaling pathways. Zinc also plays a role in physiological processes such as bone metabolism, proangiogenesis, and mineralization of bone tissue. Additionally, the standard electrode potential of zinc (Zn at -0.763 V) falls between the potentials of magnesium (Mg at -2.37 V) and iron (Fe at -0.44 V), with a moderate degradation rate. This makes it suitable for concurrent bone tissue regeneration at the site of implantation of such materials in the body. Zinc-based alloys, as absorbable metals, can dissolve within the human body during the healing of bone and vascular tissue. Due to their excellent properties, these zinc-based alloys hold promise for various biodegradable implantable devices. In this study, we systematically prepared relatively novel biodegradable Zn-Ag alloys using powder metallurgy and investigated their corrosion behavior.

**Keywords:** zinc, degradation rate, corrosion behavior, biodegradable metal

## Úvod

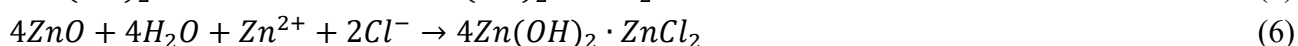
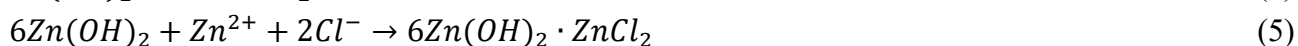
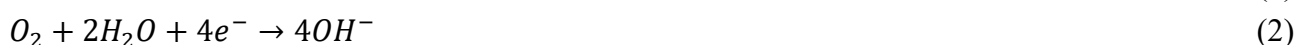
V poslednom čase sa venuje značná pozornosť vývoju kovových biodegradovateľných materiálov, ktoré sú určené na použitie ako podpora pri hojení kostného tkanivá. Tieto materiály majú slúžiť ako dočasná výstuž pre poranenú kosť a po splnení svojej funkcie sa majú postupne rozpúšťať *in vivo*. Hlavná výhoda implantátov vyrobených z degradovateľných materiálov spočíva v eliminácii potreby sekundárneho chirurgického zákroku na ich odstránenie, čo je problém spojený s inertnými materiálmi, ako je nehrdzavejúca oceľ alebo zliatiny na báze titánu. Kovové degradovateľné materiály (napríklad železo, horčík, zinok alebo ich zliatiny, prípadne kompozity) majú priaznivé mechanické a degradačné vlastnosti v prostredí podobnom ľudskému telu. Spomedzi nich biodegradovateľné materiály na báze zinku preukázali veľký potenciál pre klinické použitie v blízkej budúcnosti vďaka ich primeranému degradačnému správaniu vo fyziologických podmienkach v spojení s ich dobrou biokompatibilitou. Zinok je základný prvok, ktorý zohráva úlohu v širokom spektre biochemických procesov, taktiež je prirodzene prítomný v tele a podieľa sa na procesoch obnovy tkanív, vrátane hojenia kostí (Kádár et al., 2024).

Ideálny implantát vyrobený z degradovateľných materiálov by mal mať dobré mechanické vlastnosti a primeranú rýchlosť degradácie. Aby implantát dobre plnil svoju funkciu, jeho vlastnosti sa musia čo najviac približovať vlastnostiam nahrádzaného tkaniva. Kovové biodegradovateľné materiály využívané v ortopedických aplikáciách by mali spĺňať nasledujúce požiadavky:

- Mali by si zachovať mechanickú integritu počas 3-6 mesiacov a úplne degradovať do 12-24 mesiacov.
- Medza klzu by mala byť vyššia ako 200 MPa.
- Medza pevnosti v ťahu by mala byť vyššia ako 300 MPa.
- Počas procesu degradácie by nemali vznikať žiadne škodlivé vedľajšie produkty korózie (X. Yang et al., 2024).

Biokompatibilita zinku a jeho zliatin je z hľadiska jeho použitia v biomateriáloch veľmi dôležitá. Mnohé testy *in vivo* ukazujú prijateľnú biokompatibilitu v prípade čistého zinku (Drelich et al., 2017; Mostaed et al., 2018). Avšak vysoké koncentrácie iónov zinku môžu byť cytotoxické a ovplyvniť správanie buniek. Preto je kontrola rýchlosti uvoľňovania zinku rozhodujúca pri navrhovaní bezpečných biomateriálov (Liu et al., 2023). Vzhľadom na slabé mechanické vlastnosti čistého Zn je potrebné ho legovať pridaním iných prvkov, ako napríklad Fe, Mn, Mg, Al, Cu, Ag (Li et al., 2020). Legovanie striebrom nielenže zlepšuje mechanické vlastnosti tohto materiálu, ale ako antimikrobiálny prvok je vhodný na prípravu biodegradovateľných implantátov s účinnými antibakteriálnymi vlastnosťami. Striebro je všeobecne známe pre svoje silné antibakteriálne účinky proti rôznym druhom baktérií a často sa využíva na prevenciu a liečbu infekcií (Shnawah et al., 2013). Keď sa implantát stretne s biologickým systémom, na rozhraní medzi implantátom a tkanivom dochádza k reakciám. Preto je pochopenie a presné vyhodnotenie korózneho správania implantátov dôležité na zabezpečenie spoľahlivosti implantátov vyrobených z biodegradovateľných kovov.

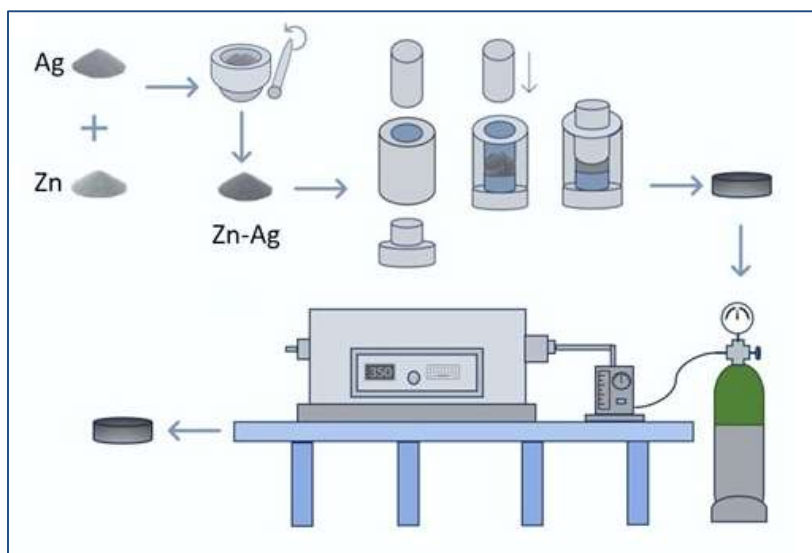
Korózia zinku vo fyziologických podmienkach podlieha procesom opísaným týmito reakciami (Kádár et al., 2024):



Cieľom tejto práce bolo preskúmať korózne správanie biomateriálov na báze Zn pomocou metódy potenciodynamickej polarizácie. Vzorka obsahujúca 100 hm.% Zn bola označená ako Zn, vzorka obsahujúca 98 hm.% Zn a 2 hm.% Ag ako Zn-2Ag, vzorka obsahujúca 96 hm.% Zn a 4 hm.% Ag ako Zn-4Ag a vzorka obsahujúca 94 hm.% Zn a 6 hm.% Ag ako Zn-6Ag.

## Materiál a metódy

Zn-Ag prášok bol vytvorený zmiešaním práškového Zn (99,99 % čistota, Centralchem, Slovensko) a práškového Ag (99,99 % čistota, Thermo scientific, Nemecko) v príslušnom hmotnostnom pomere Zn:Ag. Pripravené zmesné Zn-Ag prášky boli zlisované do tabliet valcovitého tvaru s priemerom 1,3 cm za použitia lisovacieho tlaku o hodnote 600 MPa. Týmto spôsobom získané kompakty boli následne spekané v argónovej ochrannej atmosfére s rýchlosťou prúdenia 4 l min<sup>-1</sup> postupným zahrievaním z laboratórnej teploty na konečnú teplotu 350°C s rýchlosťou ohrevu 5 °C min<sup>-1</sup>. Pričom po dosiahnutí teploty 350°C bola táto teplota udržiavaná po dobu 1 hodiny a následne boli vzorky chladené rýchlosťou 10° min<sup>-1</sup> do opätovného dosiahnutia laboratórnej teploty. Tento proces je schematicky znázornený na obrázku 1. Spekané tablety boli následne brúsené s použitím brúsnych papierov s drsnosťou 600P, 1200P a 2400 P z každej strany.



Obrázok 1 Postup prípravy Zn a Zn-Ag tabliet metódou práškovej metalurgie

### Dynamická korózia:

Na vyhodnotenie rýchlosti korózie Zn-Ag vzoriek boli využité potenciodynamické polarizačné merania. Ďalej bolo použité trojelektrodové zapojenie s Ag/AgCl/KCl ( $3 \text{ mol dm}^{-3}$ ) elektródou ako referenčnou elektródou, Pt elektródou ako pomocnou elektródou a študovaná vzorka v koróznej cele bola použitá ako pracovná elektróda. Vzorky boli pred meraním čistené pomocou ultrazvuku po dobu 10 minút v acetóne a následne v etanole. Všetky merania boli uskutočnené pomocou multikanálového potenciostatu Autolab M204 (Metrohm, Herisau, Švajčiarsko) s rýchlosťou skenu  $0,1 \text{ mV s}^{-1}$ . Ako korózne médium bol použitý Hanksov roztok ( $8,00 \text{ g dm}^{-3}$  NaCl;  $0,40 \text{ g dm}^{-3}$  KCl;  $0,14 \text{ g dm}^{-3}$  CaCl<sub>2</sub>;  $0,06 \text{ g dm}^{-3}$  MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O;  $0,06 \text{ g dm}^{-3}$  NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O;  $0,35 \text{ g dm}^{-3}$  NaHCO<sub>3</sub>;  $1 \text{ g dm}^{-3}$  glukóza;  $0,6 \text{ g dm}^{-3}$  KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;  $0,10 \text{ g dm}^{-3}$  MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) v objeme 45 ml s hodnotou pH =  $7,4 \pm 0,2$ , ktorý bol počas celej doby merania termostatovaný na teplotu  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ . Počas experimentu bol zabezpečený rovnomerný prístup roztoku elektrolytu k celému povrchu vzorky s plochou  $1 \text{ cm}^2$ , ktorá bola zabezpečená použitím koróznej cely. Potenciál nezaťaženej obvodu (OCP) bol stabilizovaný pred každým meraním počas doby 60 minút. Po meraní OCP bola stanovená rýchlosť korózie metódou Tafelovej extrapolácie z potenciodynamických polarizačných kriviek meraných v rozsahu od počiatočného potenciálu  $-1,27 \text{ V}$  až po konečný potenciál  $-0,75 \text{ V}$ . Rýchlosť korózie bola vypočítaná na základe hodnôt koróznej prúdovej hustoty ( $j_{kor}$ ), získaných Tafelovou extrapoláčnou metódou, z rovnice:

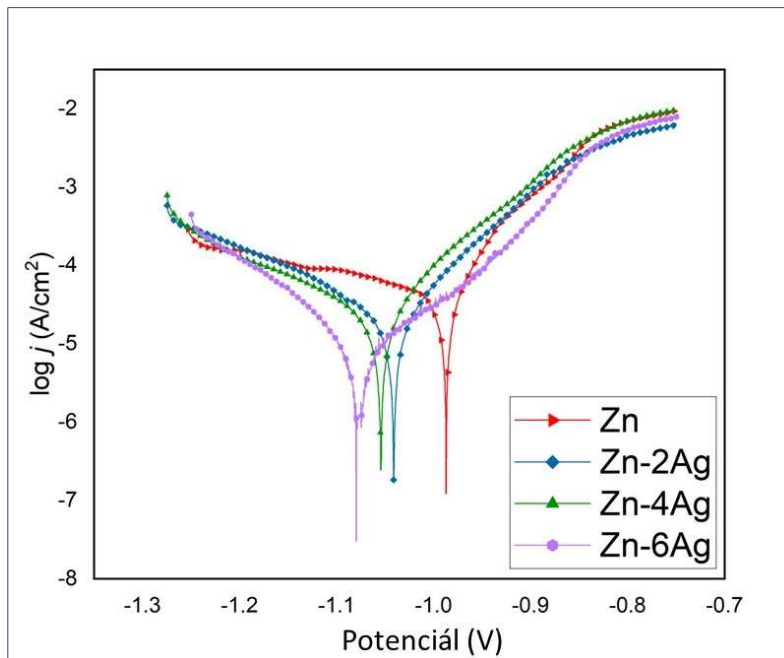
$$CR = \frac{j_{kor} \times K \times EW}{\rho} \quad (7)$$

Kde  $CR$  je rýchlosť degradácie ( $\text{mm rok}^{-1}$ ),  $j_{kor}$  je korózna prúdová hustota ( $\mu\text{A cm}^{-2}$ ),  $K$  je konštanta ( $3,27 \times 10^{-3}$ ) určujúca výsledné jednotky  $CR$ ,  $EW$  je ekvivalentná váha ( $32,69 \text{ g eq}^{-1}$  pre Zn) a  $\rho$  je hustota vzorky ( $\text{g cm}^{-3}$ ).

### Výsledky a diskusia

Potenciodynamické polarizačné krivky vzoriek sú zobrazené na obrázku 2. Koróznny potenciál ( $E_{kor}$ ) a korózna prúdová hustota ( $j_{kor}$ ) boli vypočítané z prieniku extrapolovaných katodických a anodických Tafelových kriviek. V tabuľke 1 sú zobrazené hodnoty  $E_{kor}$ ,  $j_{kor}$ ,  $i_{kor}$ , rýchlosť korózie a polarizačný odpor pre jednotlivé vzorky. Hodnoty korózneho potenciálu  $E_{kor}$  klesali so stúpajúcim obsahom striebra pričom najnižšia hodnota korózneho potenciálu bola dosiahnutá pri vzorke Zn-6Ag ( $-1,079 \text{ V}$ ). Rýchlosť korózie bola vypočítaná podľa vzťahu 2 a hodnoty sú zobrazené v tabuľke 1. Podľa uskutočnených potenciodynamických meraní najrýchlejšie korodovala vzorka Zn s hodnotou rýchlosti korózie  $0,353 \text{ mm rok}^{-1}$ , čo je 5,5 krát rýchlejšie ako vzorka Zn-6Ag s rýchlosťou korózie  $0,068 \text{ mm rok}^{-1}$ . Vo všeobecnosti s rastúcim množstvom prídavku Ag vo vzorke sa rýchlosť korózie vzoriek znižovala, čo možno vidieť na obrázku 2. Tento trend bol pozorovaný aj v prípade koróznych

potenciálov. Štandardný elektródový potenciál poskytuje informáciu o tendencii kovu podliehať oxidácii alebo redukcii. Striebro (Ag) má kladnejší štandardný elektródový potenciál ako zinok (Zn) čo znamená, že Ag sa v porovnaní so Zn ťažšie oxiduje. Z toho vyplýva, že s prídavkom striebra k zinku by sa potenciál zliatin Zn-Ag mal posúvať smerom ku kladným hodnotám avšak korózný potenciál sa s prídavkom striebra posúva k zápornejším hodnotám, čo je spôsobené vznikom intermetallickej fázy  $\text{AgZn}_3$ , ktorej štandardný elektródový potenciál je zápornejší ako Zn a teda sa prednostne oxiduje (Roesner et al., 2024).



Obrázok 2 Potenciodynamické krivky zaznamenané v Hanksovom roztoku pri teplote 37°C

Tabuľka 1 Elektrochemické korózne parametre zaznamenané v Hanksovom roztoku pri teplote 37°C s rýchlosťou skenu 0,1 mV s<sup>-1</sup>

Vzorka	$E_{kor}$ (V)	$J_{kor}$ (A/cm <sup>2</sup> )	Polarizačný odpor (Ω)	Rýchlosť korózie (mm/rok)
Zn	-0,973 ± 0,01	$2,16 \times 10^{-5} \pm 7,50 \times 10^{-6}$	474,0 ± 69,4	0,353 ± 0,12
Zn-2Ag	-1,044 ± 0,01	$1,03 \times 10^{-5} \pm 4,03 \times 10^{-6}$	2673,3 ± 827,7	0,170 ± 0,07
Zn-4Ag	-1,066 ± 0,01	$8,28 \times 10^{-6} \pm 1,67 \times 10^{-6}$	1592,2 ± 280,7	0,136 ± 0,03
Zn-6Ag	-1,079 ± 0,01	$4,48 \times 10^{-6} \pm 9,06 \times 10^{-7}$	4403,7 ± 1250,5	0,068 ± 0,02

## Záver

Biomateriály na báze zinku sa v poslednej dobe ukázali ako sľubné nové typy bioresorbovateľných kovov použiteľných na ortopedické zariadenia, kardiovaskulárne stenty a iné lekárske aplikácie. V porovnaní s inými rozložiteľnými kovovými biomateriálmi (t.j. na báze Mg alebo Fe) majú biomateriály Zn vhodnejšiu rýchlosť korózie bez vývoja plynného vodíka. Avšak vzhľadom na nedostatočné mechanické vlastnosti Zn vzniká potreba po legovaní napríklad v našom prípade striebrom Ag. Rýchlosť korózie vzoriek klesala s narastajúcim hmotnostným % striebra vo vzorke. Najrýchlejšie teda korodovala vzorka Zn a to s rýchlosťou 0,353 mm rok<sup>-1</sup>. Najpomalšie zas vzorka Zn-6Ag s rýchlosťou korózie 0,068 mm rok<sup>-1</sup>.

## Podakovanie

Táto práca bola podporená Agentúrou pre podporu výskumu a vývoja (projekt číslo APVV-20-0278), grantom Medzinárodného výšehradského fondu (projekt číslo 22310096) a Interným výskumným grantom Prírodovedeckej fakulty Univerzity P. J. Šafárika (VVGS-2023-2550).

## Literatúra

Drelich, A. J., Zhao, S., Guillory, R. J., Drelich, J. W., & Goldman, J. (2017). Long-term surveillance of zinc implant in murine artery: Surprisingly steady biocorrosion rate. *Acta Biomaterialia*, 58, 539–549. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.05.045>

Kádár, C., Gorejová, R., Kubelka, P., Oriňaková, R., & Orbulov, I. N. (2024). Mechanical and Degradation Behavior of Zinc-Based Biodegradable Metal Foams. *Advanced Engineering Materials*. <https://doi.org/10.1002/adem.202301496>

Liu, Y., Du, T., Qiao, A., Mu, Y., & Yang, H. (2022). Zinc-Based Biodegradable Materials for Orthopaedic Internal Fixation. In *Journal of Functional Biomaterials* (Vol. 13, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jfb13040164>

Mostaed, E., Sikora-Jasinska, M., Drelich, J. W., & Vedani, M. (2018). Zinc-based alloys for degradable vascular stent applications. In *Acta Biomaterialia* (Vol. 71, pp. 1–23). Acta Materialia Inc. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.03.005>

Shnawah, D. A., Sabri, M. F. M., Badruddin, I. A., Said, S. B. M., Ariga, T., & Che, F. X. (2013). Effect of ag content and the minor alloying element fe on the mechanical properties and microstructural stability of Sn-Ag-Cu solder alloy under high-temperature annealing. *Journal of Electronic Materials*, 42(3), 470–484. <https://doi.org/10.1007/s11664-012-2343-8>

Yang, H., Jia, B., Zhang, Z., Qu, X., Li, G., Lin, W., Zhu, D., Dai, K., & Zheng, Y. (2020). Alloying design of biodegradable zinc as promising bone implants for load-bearing applications. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14153-7>

Yang, X., Bao, W., Xiang, T., Cai, Z., Liu, X., & Xie, G. (2024). Biodegradable Zn–Mn–Li alloy with a promising balance of mechanical property and corrosion resistance. *Journal of Materials Research and Technology*, 30, 1852–1863. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2024.03.202>

Li, H. F., Shi, Z. Z., & Wang, L. N. (2020). Opportunities and challenges of biodegradable Zn-based alloys. *Journal of Materials Science and Technology*, 46, 136–138. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2019.12.014>

Liu, Q., Li, A., Liu, S., Fu, Q., Xu, Y., Dai, J., Li, P., & Xu, S. (2023). Cytotoxicity of Biodegradable Zinc and Its Alloys: A Systematic Review. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/jfb14040206>

Roesner, M., Zankovic, S., Kovacs, A., Benner, M., Barkhoff, R., & Seidenstuecker, M. (2024). Mechanical Properties and Corrosion Rate of ZnAg<sub>3</sub> as a Novel Bioabsorbable Material for Osteosynthesis. *Journal of Functional Biomaterials*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/jfb15020028>

# POSÚDENIE GENETICKEJ DIVERZITY POPULÁCIÍ DRUHU *ISOTOMIELLA MINOR* (COLLEMBOLA, ISOTOMIDAE) OBÝVAJÚCEHO URBÁNNE A PRÍRODNÉ HABITATY

*Assessment of the genetic diversity of populations of *Isotomiella minor* (Collembola, Isotomidae) inhabiting urban and natural habitats*

Mária Fedičová

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

**Abstrakt:** Kombináciou mitochondriálneho (COI) a nukleárneho (28S rDNA) markeru sme posúdili genetickú variabilitu populácií *Isotomiella minor* (Schäffer, 1896) (Collembola) na regionálnej geografickej úrovni. Preskúmaných bolo 13 populáciách z kontrastných prostredí, deväť z nich obývalo rôzne typy habitatov v meste Košice a štyri populácie pochádzali z prírodných krasových lokalít situovaných Západných Karpatoch. Pozorované genetické vzdialenosti medzi populáciami varírovali od 0,09 % do 10,70% (konkatenovaný súbor dát). Jedince prírodných populácií boli vo fylograme zoskupené do subklastrov podľa príslušných lokalít, pričom jedince urbánnych populácií tvorili zmiešané subklastre. Celkovo bolo prostredníctvom delimitačných metód identifikovaných deväť kandidátskych kryptických skupín (MOTUs), ktoré korešpondovali s topológiou fylogramu. Taktiež bol pozorovaný súlad medzi MOTUs skupinami a ich rozšírením v daných geografických regiónoch. Výsledky naznačujú, že fenomén krypticizmu môže byť odhalený aj u bežných druhov chvostoskokov, obzvlášť v heterogénnych prostrediach takých ako je urbánno-prírodný systém.

**KLúčové slová:** *genetická variabilita, kryptická diverzita, urbánno-prírodné prostredie, populačná genetika, chvostoskokoky*

**Abstract:** We combined mitochondrial (COI) and nuclear (28S rDNA) markers to assess genetic variation in *Isotomiella minor* (Schäffer, 1896) (Collembola) at a regional geographic level. Thirteen populations from contrasting environments were examined, nine populations inhabited different habitat types in the city of Košice and four populations originated from natural karst sites located in the Western Carpathian Mountains. Observed genetic distances between populations varied from 0.09% to 10.70% (concatenated dataset). Individuals of natural populations were grouped into subclusters in the phylogram according to their respective localities, while individuals of urban populations formed mixed subclusters. In total, nine candidate cryptic groups (MOTUs) were identified through delimitation methods that corresponded to the topology of the phylogram. Correspondence was also observed between MOTUs groups and their distribution in given geographic regions. The results suggest that phenomenon of crypticism can be detected in common species of springtails, especially in heterogeneous environments such as urban-natural systems.

**Keywords:** *genetic variability, cryptic diversity, urban-natural ecosystem, population genetics springtails*

## Úvod

Chvostoskoky (Collembola, Hexadpoda) sú drobné článkonožce žijúce najmä v pôde, kde tvoria abundantnú zložku pôdnej mezofauny. Nachádzame ich na všetkých kontinentoch od Arktídy až po Antarktídu, pričom v Európe sa vyznačujú vysokou druhovou diverzitou (Potapov et al. 2023). Hoci bolo doteraz popísaných približne 9 500 druhov chvostoskokov (Bellinger et al. 1996-2024), diverzita tejto skupiny je omnoho vyššia vzhľadom na fenomén kryptickej speciácie, ktorý sa považuje za formu skrytej diverzity a je to bežný jav pozorovaný u viacerých rodov v rámci tejto skupiny (napr. Felderhoff et al. 2010, Porco et al. 2012a, Raschmanová et al. 2017, von Saltzwedel et al. 2017, Zhang et al. 2018a, Kováč et al. 2023 a iné). Autori štúdií vedú diskusiu v zmysle kryptická diverzita vs. genetická variabilita, pričom niektorí sa prikláňajú k názoru existencie kryptických druhov, zatiaľ čo pri určitých taxónoch pretrváva predpoklad vysokej genetickej variability, nakoľko dôkazy o vymedzení druhov nemusia vždy byť dostatočné (Fernández & Giribet 2014).

Viacere druhy zo skupiny Collembola sa vyznačujú pomerne vysokou vnútrodruhovou genetickou variabilitou (Cicconardi et al. 2010, Torricelli et al. 2010, von Saltzwedel et al. 2016, 2017 a iný). Mnohé štúdie však aplikujú molekulárny prístup v kombinácii s nemolekulárnymi – morfológickými či ekofyziologickými metódami (Parimuchová et al. 2017, Raschmanová et al. 2017, Sun et al. 2017, Zhang et al. 2018b) a užitočne tak prispievajú k objasneniu problematiky krypticizmu. Rovnako kombinácia mitochondriálnych a nukleárných markerov môže výrazne napomôcť pri odhaľovaní kryptických druhov (Porco et al. 2012b, von Saltzwedel et al. 2017, Skarzyński et al., 2018; Striuchkova et al., 2022 a ďalší).

Značná genetická variabilita terestrických článkonožcov môže byť do istej miery ovplyvnená aj environmentálnymi faktormi. Práve špecifické podmienky habitatu môžu podmieňovať silné selekčné tlaky, ktoré vedú následne k speciácii (Bickford et al. 2007). Collembola môžeme nájsť v rôznych typoch habitatov, prírodných aj urbánnych, preto existuje predpoklad, že špecifické podmienky týchto kontrastných prostredí by mohli mať značný vplyv na ich genetickú variabilitu. V posledných rokoch narastá počet štúdií odhaľujúcich genetickú štruktúru pôdnych článkonožcov z urbánnych habitatov (napr. Keller & Largiadèr 2003, Ramirez et al. 2010, Striuchkova et al. 2022, Xu et al. 2023, Striuchkova 2023), avšak populačnej genetike bezstavovcov na urbánno-prírodnej škále bola venovaná menšia pozornosť.

Druh *Isotomiella minor* (Schäffer, 1896) (Collembola), predstavuje drobnú (veľkosť tela do 1,1 mm), nepigmentovanú, slepú formu. Tento euedafický druh je svojim životom viazaný na hlbšie vrstvy pôdneho prostredia a je teda citlivejší na sucho (Agrell 1941, Potapov 2001). Má široké (holarktické) geografické rozšírenie a môžeme ho nájsť v rôznych typoch habitatov (eurytopný) od nížin až po horské oblasti, zahrňujúc aj urbánne prostredie (Potapov 2001). Aj napriek tomu, že *I. minor* patrí medzi dobre morfológicky a ekologicky charakterizované druhy, informácie o jeho genetickej štruktúre/variabilite takmer chýbajú (von Saltzwedel et al. 2016). Vzhľadom na absenciu týchto molekulárných údajov, a relatívne vysokú abundanciu bol druh *Isotomiella minor* zvolený za modelový taxón pre túto štúdiu. Cieľmi tejto štúdie sú: (1) posúdenie genetickej variability *I. minor* z kontrastných urbánno-prírodných prostredí, a (2) odhalenie novej kryptickej speciácie.

## Metodika a materiál

### Dizajn štúdie

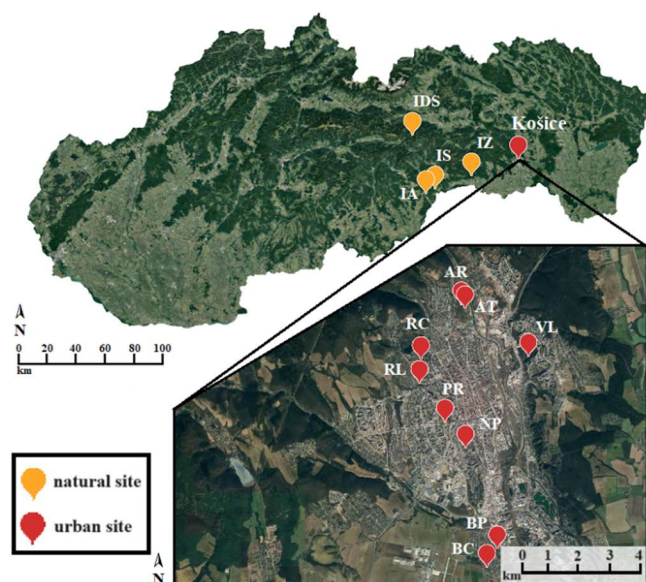
Trináť populácií druhu *Isotomiella minor* bolo vybraných z dvoch kontrastných ekosystémov pozostávajúcich z prírodných a urbánnych habitatov. Šlo o populácie obývajúce stanovištia ako ruderál (AR, PR), trávnik (AT), cintorín (BC, RC), park (BP, NP) a fragment lesa (RL, VL) v mestskej aglomerácii mesta Košice, (~ 240 km<sup>2</sup> a ~ 239 000 obyvateľov) a populácie z prírodných krasových lokalít, špecifické habitaty v blízkosti vchodov jaskýň a dno tiesňavy v Slovenskom krase (IS, IA, IZ) a Slovenskom raji (IDS) (Tab. 1, Obr. 1). Maximálna geografická vzdialenosť medzi urbánnym a prírodným stanovišťom (AT – IDS) bola ~ 71 km. Geografické vzdialenosti medzi urbánnymi stanovišťami boli menšie ako medzi prírodnými (0,7 – 8,0 km, resp. 7,0 – 53,0 km). Minimálna vzdialenosť v rámci urbánnych habitatov bola medzi lokalitami BC a BP (~ 0,7 km), a v rámci prírodných habitatov medzi lokalitami IA a IS (~ 7 km).



**Tab. 1** Prehľad stanovišť/populácií, dátum zberu, geografické súradnice a počet molekulárne analyzovaných vzoriek/jedincov druhu *I. minor*

Stanovište	N	Dátum odberu	Geogr. súradnice
<i>Urbánne</i>			
AR – Ruderálny habitat, Anička (Košice)	2	21 Okt 2021	48°44' 52.617"N 21°15'5.185"E
AT – Trávnik, Anička (Košice)	7	21 Okt 2021	48°44'48.762"N, 21°15'11.121"E
BC – Cintorín (Košice - Barca)	7	21 Okt 2021	48°40'23.512"N, 21°15'44.923"E
BP – Park (Košice - Barca)	5	21 Okt 2021	48°40'42.466"N, 21°16'1.115"E
NP – Park (Košice)	4	21 Okt 2021	48°42'25.737"N, 21°15'11.821"E
PR – Ruderálny habitat, Starý pivovar (Košice)	6	21 Okt 2021	48°42'52.429"N, 21°14'39.718"E
RC – Cintorín Rozália (Košice)	4	21 Okt 2021	48°43'56.473"N, 21°14'2.451"E
RL – Fragment lesa, Račí potok (Košice)	4	21 Okt 2021	48°43'32.050"N, 21°14'0.144"E
VL – Fragment lesa, Výmol' (Košice)	11	21 Okt 2021	48°43'59.546"N, 21°16'49.022"E
<i>Prírodné</i>			
IA – Pred vchodom Ardotskej jaskyne	4	15 Nov 2017	48°31'16"N, 20°25'14"E
IS – Pred vchodom jaskyne Silická ľadnica	4	4 Nov 2017	48°32'55"N, 20°30'12"E
IZ – Dno Zádielskej tiesňavy	3	15 Nov 2017	48°37'20"N, 20°54'54"E
IDS – Pred vchodom Dobšinskej ľadovej jaskyne	9	4 Nov 2017	48°52'05"N, 20°18'14"E

N – počet jedincov, (skratky miest odberu sú uvedené v sekcii Materiál a metodika)

**Obr. 1** Mestské a prírodné stanovišťa druhu *Isotomiella minor* (skratky stanovišť pozri v časti Metódy)

Pri zbere pôdnych vzoriek boli dodržané podmienky licencie č. 2661/2017-6.3. Ministerstva životného prostredia Slovenskej republiky. Na ober pôdnych vzoriek bola využitá sonda s priemerom 3,6 cm a vzorka bola odobratá z hĺbky 10 cm. Jedince Collembola boli extrahované z pôdnej vzorky pomocou vysoko-gradientového extraktora podľa metódy Crossleyho & Blaira (1991). Na molekulárne analýzy sa použilo celkovo 70 jedincov/vzoriek (2 – 11 vzoriek na populáciu, Tab. 1), ktoré boli skladované v etanole (96,6 %) pri teplote -20 °C.

### Extrakcia, amplifikácia a sekvenácia DNA

Všetky laboratórne práce s DNA sa vykonávali s použitím sterilných špičiek s filtrom aby sa zabránilo kontaminácii. Pomocou súpravy DNeasy Blood and Tissue Kit od spoločnosti QIAGEN (Valencia, CA, USA) sa z jedincov použitím modifikovaného protokolu výrobcu extrahovala celková genómová DNA ktorá sa následne uskladnila pri teplote -20 °C. Na určenie genetickej diverzity medzi populáciami druhu *Isotomiella minor* sme sa pokúsili získať sekvencie zo štyroch molekulárnych markerov vrátane mitochondriálnych génov COI (podjednotka 1 cytochróm c oxidáza) a 16S rDNA, ako aj jadrovej 18S rDNA a 28S rDNA (oblasť D1 – D2). Využili sme konkrétne tieto primery: LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') a HCO2198 (5'-TAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') pre gén COI (Folmer et al. 1994); N1-J-12585b (5'-

CCCTTACGAATTTGAATATATATATCC-3') a Coll\_LRN-13486 (5'-CCGTGCWAA GGTAGCATAAT-3') pre 16S rDNA (Simon et al. 1994); 28S rD1. 2a (5'-CCC SSGTAATTTAAGCATATTA-3') a 28SboutR (5'-CCCACAGCGCCAGTTCTGCTTACC-3') pre 28S rDNA (Whiting 2002); 18SF (5'-GTTCGATTCCGGAGGGA-3') a 18SbiR (5'-GAG TCTCGTTCGTTATCGGA-3') pre 18S rDNA (Whiting et al. 1997).

PCR týchto molekulárnych markerov bola vykonaná pomocou kitu Unis Taq (TopBio s.r.o., Praha, Česká republika), za použitia štandardných reakčných objemov. Reakcia sa uskutočnila v termocykléri TProfessional TRIO Thermocycler (Biometra) a podmienky PCR zahŕňali počiatočný aktivačný krok pri 94 °C počas 2 min, po ktorom nasledovalo 35 amplifikačných cyklov denaturácie pri 94 °C počas 30 s, anealingu pri 43 - 45 °C (COI)/45 °C (16S)/55 °C (28S, 18S) počas 30 až 45 s v závislosti od markera, elongácie pri 72 °C počas 1 min a záverečného elongačného kroku pri 72 °C počas 2 min. Prítomnosť PCR produktu bola overená za pomoci elektroforézy a následne boli produkty enzymaticky prečistené pomocou ExoI-FastAP (Thermo Fisher Scientific) a zaslané do spoločnosti Eurofins Genomic (Ebersberg, Nemecko) na priamu sekvenáciu pomocou Sangerovej metódy.

Chromatogramy boli skontrolované a manuálne upravené pomocou programu Chromas Ver. 2.6.6. (Technelysium Pty Ltd, <http://technelysium.com.au/wp/>). Sekvencie boli taktiež overené ako DNA chvostoskokov pomocou vyhľadávania GenBank BLASTn (algoritmus MegaBlast s predvoleným nastavením priniesol alignmenty len s inými chvostoskokmi s hodnotou  $E < 4 \times 10^{-115}$ ). Nakoľko ORF sekvencií COI bol správny a žiadne z nich neobsahovali stop kodóny ani indely, predpokladalo sa, že všetky sú pravé mitochondriálne a nie jadrové kópie.

### Analýza molekulárnych dát

Alignmenty DNA sekvencií boli vytvorené zvlášť pre jednotlivé markery, rovnako aj pre konkatenovaný súbor dát (COI + 28S rDNA) pomocou metódy ClustalW (Thompson et al. 1994) v programe MEGA X (Kumar et al., 2018). Na vytvorenie haplotypových súborov, ktoré boli použité pri metóde vymedzenia druhov, bol využitý program DNAsp (Rosas et al. 2017). Párové nekorigované genetické vzdialenosti „p-distances“ v rámci populácií ako aj medzi populáciami (Nei & Kumar 2000) boli vyrátané v programe MEGA X. Pomocou rovnakého modelu v tomto programe bol vytvorený „Neighbour-Joining“ (NJ) fylogram za účelom preskúmania vzťahov medzi populáciami (Sanitou & Nei 1987). Robustnosť uzlov sa hodnotila pomocou bootstrapovej reanalýzy 1000 pseudoreplikátov (Felsenstein 1985) a ako outgroup boli využité relevantné sekvencie druhu *Folsomia candida* (HQ732049 - COI a JN981046 - 28S rDNA, GenBank).

Potenciálna kryptická diverzita sa hodnotila delimitačnými metódami vymedzenia druhov na jednom lokuse (COI), metódou „Automatic Barcode Gap Discovery“ (ABGD) na základe genetických vzdialeností a metódou „Poisson Tree Processes“ (bPTP) na základe evolučného modelu (Zhang et al. 2013). V prípade ABGD metódy bol použitý celý súbor dát, zatiaľ čo pri metóde bPTP sa zredukoval na jedinečné haplotypy. Metóda ABGD zoskupila sekvencie do kandidátskych druhov pomocou detekcie „barcoding gaps“ s použitím online verzie (Puillandre et al. 2011, <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/>). Predbežná vnútrodruhová divergencia sa pohybovala od 0,001 ( $P_{\min}$ , divergencia jedného nukleotidu) do 0,14 ( $P_{\max}$ , prahová hodnota) podľa Porco et al. (2014). Šírka relatívnej medzery bola nastavená na 1,5, 20 rekurzívnych krokov a 40 binov pre grafický histogram vzdialeností, nekorigované „p-distance“ pre výpočet vzdialenosti a ostatné parametre ako predvolené. Nezakorenený „maximum likelihood“ (ML) fylogram bol vygenerovaný v programe IQ-TREE (Trifinopoulos et al. 2016) a implementovaný na webovom serveri bPTP (<http://species.h-its.org/ptp/>) podľa predvolených parametrov.

### Výsledky

Na molekulárne analýzy bolo použitých 70 jedincov (50 z urbánnych a 20 z prírodných habitatov). Amplifikovali sa štyri markery, z ktorých boli pre ďalšie analýzy úspešné len dva, a to mitochondriálny gén COI a nukleárna 28S rDNA. Rovnako sa pri niektorých analýzach využil

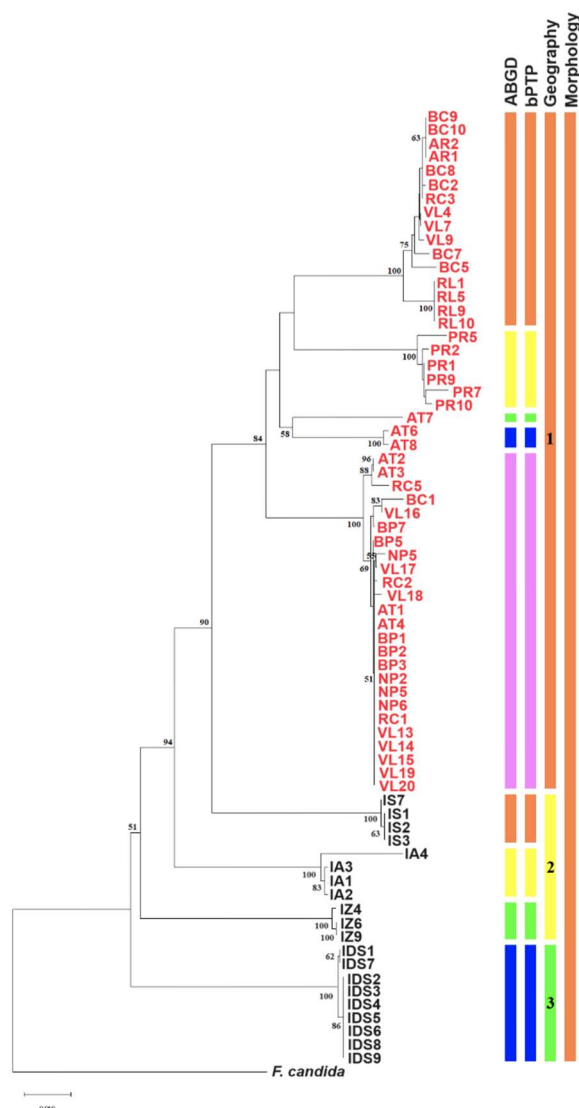
konkatenovaný súbor dát týchto markerov (COI + 28S). Konečná dĺžka alignmentov bola 497 bp (COI), 744 bp (28S) a 1247 bp (COI + 28S).

Vnútro populačné genetické vzdialenosti na základe konkatenovaného súboru dát sa pohybovali v rozmedzí od 0,0 % do 3,39 % a medzipopulačné genetické vzdialenosti od 0,09 % do 10,70 % (Tab. 2). Vo všeobecnosti boli urbánne populácie variabilnejšie (najmä AT a RC) v porovnaní s prírodnými. V rámci prírodných populácií mala populácia IA najvyššiu úroveň vnútro populačnej genetickej diverzity v porovnaní s ostatnými.

Na Obr. 2 je znázornený fylogram vytvorený zhlukovou analýzou NJ na základe konkatenovaného súboru dát, ktorý je doplnený o molekulárne operačné taxonomické jednotky (MOTUs, „molecular operational taxonomic units“). Jedince prírodných populácií sa zhlukovali na základe príslušných habitatov, zatiaľ čo jedince urbánnych populácií tvorili zmiešané subklastre. MOTUs, vytvorené za pomoci oboch delimitačných metód zodpovedali topológii NJ fylogramu (Obr. 2). Každá metóda odhalila 9 MOTUs. Histogram analýzy ABGD na základe COI (nepublikovaný) poukázal na výrazný (0,072 široký) „barcoding gap“.

**Tab. 2** Genetické vzdialenosti (p-distances v %) *Isotomielly minor* v urbánno - prírodnom systéme na základe konkatenovaného súboru dát (skratky stanovíšť sú uvedené v časti Materiál a metodika)

Populácie	V rámci populácií (%)	Medzi populáciami (%)											
		AR	AT	BC	BP	NP	PR	RC	RL	VL	IA	IDS	IS
<i>Urbánne</i>													
AR	0.00												
AT	3.39	5.60											
BC	2.80	1.10	5.26										
BP	0.06	5.85	2.30	5.14									
NP	0.12	5.85	2.33	5.14	0.09								
PR	0.53	5.91	6.00	6.50	5.93	5.94							
RC	3.26	4.52	3.19	4.24	1.67	1.70	6.60						
RL	0.00	0.89	5.81	1.81	6.10	5.98	5.90	4.83					
VL	2.56	4.31	3.19	4.6	1.62	1.64	5.94	2.45	4.62				
<i>Prírodné</i>													
IA	1.10	8.39	8.26	8.51	8.20	8.30	7.54	8.15	8.61	8.20			
IDS	0.06	10.13	9.92	10.22	9.80	9.81	9.72	9.92	10.70	9.87	9.25		
IS	0.04	8.14	7.65	8.14	7.12	7.13	8.68	7.46	8.14	7.39	7.75	10.33	
IZ	0.11	9.21	9.53	9.40	9.57	9.60	9.41	9.50	9.21	9.46	8.40	9.25	9.77



**Obr. 2** "Neighbour-joining" fylogram populácií *Isotomiella minor* na základe konkatenovaného súboru dát. Ako outgroup bola použitá *Folsomia candida* (HQ732049 + JN981046). Na výpočet evolučných vzdialeností sa použila metóda p-distances. Hodnoty Bootstrapu väčšie ako 50 % (1000 opakovaní) sú zobrazené vedľa vetiev. Strom je zobrazený v mierke, pričom dĺžky vetiev sú v rovnakých jednotkách ako evolučné vzdialenosti použité na konštrukciu stromu (skratky miest odberu vzoriek sú uvedené v časti Metódy; červenou farbou sú označené urbánne jedince, čiernou farbou prírodné jedince). Vymedzenie MOTU na základe molekulárnej analýzy ABGD a bPTP (súbor údajov COI), geografia (1 - mesto Košice, 2 - Slovenský kras, 3 - Slovenský raj) a morfológia

## Diskusia

Chvostoskok *Isotomiella minor* sa považuje za ubikvistický, kozmopolitný druh, ktorý sa rozmnožuje partenogeneticky (Potapov 2001). Aj keď je v súčasnosti tento druh pomerne dobre morfológicky a ekologicky definovaný, populačné štúdie zamerané na genetickú diverzitu, či možnú prítomnosť kryptickej speciácie v rámci druhu *I. minor* však stále chýbajú. Avšak nedávna štúdia autorov von Saltzwedel et al. (2016) poukazuje na to, že tento druh chvostoskoka môže pozostávať z komplexu kryptických druhov.

V našej štúdii molekulárne analýzy potvrdili genetickú odlišnosť populácií druhu *Isotomiella minor* a scenár krypticizmu bol naznačený. V rámci medzipopulačných genetických vzdialeností bol prekročený „threshold“ genetickej variability, tzn. hodnota 8 % stanovená Hoggom & Hebertom (2004). V prípade medzipopulačných hodnôt genetickej variability na báze markera COI bolo pozorované prekročenie aj novo stanovenej prahovej hodnoty 14 %, ktorú modifikovali autori Porco et al. (2014). Spomínané prahové hodnoty boli odhadnuté pre skupinu chvostoskokov ako celok, ich aplikovanie v tejto štúdii môže byť diskutabilné a druhovo špecifické. Autori von Saltzwedel et al.

(2016) pozorovali podobné hodnoty genetickej variability ako sme zaznamenali my u prírodných populácií v našej štúdií.

Metódy využité v tejto štúdií (ABGD a bPTP) rozpoznali deväť kandidátskych kryptických skupín (MOTUs) u *Isotomiella minor* so zreteľným „barcoding gap“. Výrazný „barcoding gap“ bol taktiež pozorovaný u viacerých druhov Collembola (napr. Raschmanova et al. 2017, Sun et al. 2017, Zhang et al. 2018b), čo poukazuje na to, že práve „barcoding gap“ by mohol byť relevantným dôkazom pri vymedzení druhov. Okrem zhody navrhnutých MOTUs s topológiou fylogramu bola zistená tiež zhoda s rozšírením daných skupín v troch rozdielnych geografických oblastiach: Slovenský kras (3 MOTUs), Slovenská raj (1 MOTU) a mesto Košice (5 MOTUs). Medzi týmito skupinami neboli pozorované žiadne diagnostické morfologické rozdiely. V rámci prírodných populácií bola zaznamenaná väčšia geografická vzdialenosť a teda je tam predpoklad dlhodobej izolácie prírodných populácií čo môže viesť postupne ku kryptickej speciácii až vzniku nových druhov. Geneticke odlišenie populácií *I. minor* možno vysvetliť efektom zakladateľa, ktorý bol u prírodných populáciách výraznejší. Je známe, že špecifické podmienky inverzných vchodov jaskýň a tiesňav môžu vplyvom silnej selekcie (napr. teplotou) viesť ku kryptickej speciácii (Raschmanová et al. 2017).

## Záver

Táto štúdia predstavuje originálne molekulárne dáta v rámci populácií ubikvistického druhu *Isotomiella minor* na urbánno-prírodnej škále, získaných na základe kombinácie dvoch molekulárnych markerov, mitochondriálneho a nukleárneho. Vo všeobecnosti populácie obývajúce kontrastné prostredia môžu byť geneticky odlišné, pričom tieto rozdiely môžu vysvetliť - pôsobenie silnej selekcie a genetický drift. Napriek tomu, že u 13 preskúmaných populácií druhu *I. minor* z troch geografických oblastí neboli pozorované morfologické rozdiely, molekulárne analýzy podporili genetickú diferenciáciu týchto populácií a rovnako bol navrhnutý scenár kryptickej speciácie, bolo identifikovaných deväť MOTUs. Tento výskum má určité limity, a teda zvýšenie počtu vzoriek, či zahrnutie ďalších molekulárnych markerov, ako sú napríklad vysoko variabilné mikrosatelity, by mohli vniesť viac svetla do problematiky kryptickej speciácie populácií *I. minor* v urbánno-prírodnom systéme.

## PodĎakovanie

PodĎakovanie patrí Natálii Raschmanovej a Martine Žurovcovej za odbornú pomoc a vedenie pri získavaní a analyzovaní molekulárnych dát.

*Práca bola podporená projektmi VEGA 1/0438/22 a APVV-21-0379*

## Literatúra

Agrell, J. (1941). Zur Ökologie der Collembolen, Untersuchungen im schwedischen Lappland. *Opuscula Entomologica* 3, 1–236

Bellinger PF, Christiansen KA, Janssens F (1996–2023) Checklist of the Collembola of the World. <http://www.collembola.org> Accessed Mar 2024

Bickford D, Lohman DJ, Sodhi NS, Ng PKL, Meier R, Winker K, Ingram KK, Das I (2006). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 22: 148–155.

Cicconardi F, Nardi F, Emerson BC, Frati F, Fanciulli PP (2010) Deep phylogeographic divisions and long-term persistence of forest invertebrates (Hexapoda: Collembola) in the North-Western Mediterranean basin. *Mol Ecol* 19(2):386–400. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04457.x>

- Crossley DA Jr, Blair JM (1991) A high-efficiency, „low-technology“ Tullgren-type extractor for soil microarthropods. *Agric Ecosyst Environ* 34(1–4):187–192. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(91\)90104-6](https://doi.org/10.1016/0167-8809(91)90104-6)
- Felderhoff KL, Bernard EC, Moulton JK (2010) Survey of *Pogonognathellus* Börner (Collembola: Tomoceridae) in the Southern Appalachians based on morphological and molecular data. *Ann Entomol Soc Am* 103(4):472–491. <https://doi.org/10.1603/AN09105>
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39(4):783–791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>
- Fernández R, Giribet G (2014) Phylogeography and species delimitation in the New Zealand endemic, genetically hypervariable harvestman species, *Aoraki denticulata* (Arachnida, Opiliones, Cyphophthalmi). *Invert Syst* 28(4):401–414. <http://dx.doi.org/10.1071/IS14009>
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol* 3(5), 294–299
- Hogg ID, Hebert PDN (2004) Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes. *Can J Zool* 82(5):749–754. <https://doi.org/10.1139/z04-041>
- Keller I, Largiadèr CR (2003) Recent habitat fragmentation caused by major roads leads to reduction of geneflow and loss of genetic variability in ground beetles. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 270: 417–423
- Kováč Ľ, Žurovcová M, Raschmanová N, Jureková N, Papáč V, Parimuchová A (2023) Troglomorphic adaptations on the northern European frontier: the phylogeny of the cave *Pseudosinella* (Hexapoda, Collembola) in the Western Carpathians. *Front Ecol Evol* 11(1169911). <https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1169911>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35(6):1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Nei M, Kumar S (2000) *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York
- Parimuchová A, Kováč Ľ, Žurovcová M, Miklisová D, Paučulová L (2017) A glacial relict collembolan in the Carpathian caves – population variability or a species complex? *Arthropod Syst Phylogeny* 75, 351–362. <https://doi.org/10.3897/asp.75.e31911>
- Porco D, Potapov M, Bedos A, Busmachiu G, Weiner WM, Hamra-Kroua S, Deharveng L (2012a) Cryptic Diversity in the ubiquitous species *Parisotoma notabilis* (Collembola, Isotomidae): a long-used chimeric species? *PLoS One* 7(9):e46056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046056>
- Porco D, Bedos A, Greenslade P, Janion C, Skarżynski D, Stevens MI, van Vuuren BJ, Deharveng L (2012b) Challenging species delimitation in Collembola: cryptic diversity among common springtails unveiled by DNA barcoding. *Invertebr Syst* 26(6):470–477. <https://doi.org/10.1071/IS12026>
- Porco D, Skarżynski D, Decaens T, Hebert PDN, Deharveng L (2014) Barcoding the Collembola of Churchill: A molecular taxonomic reassessment of species diversity in a sub-Arctic area. *Mol Ecol Resour* 14(2):249–261. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12172>

- Potapov M (2001) Synopses on Palaearctic Collembola: Isotomidae. Abh. And lungenund Berichte des Naturkundemuseums Görlitz., Berlín
- Potapov AM., Guerra CA, van den Hoogen J et al. (2023) Globally invariant metabolism but density-diversity mismatch in springtails. Nat Commun 14:674. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36216-6>
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G (2011) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. Mol Ecol 21(8):1864–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- Ramirez GIJ, Henao HC, Obando RG, Galindo CRY 2010 Genetic variability of five *Periplaneta americana* L. (Dyctioptera: Blattidae) populations in southwestern Colombia using the AFLP molecular marker technique. Neotropical Entomology 39: 371–378.
- Raschmanová N, Žurovcová M, Kováč I, Paučulová L, Šustr V, Jarošová A, Chundelová D (2017) The cold-adapted population of *Folsomia manolachei* (Hexapoda, Collembola) from a glaciated karst doline of Central Europe: evidence for a cryptic species? J Zool Syst Evol Res 55(1):19–28. <https://doi.org/10.1111/jzs.12150>
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. Mol Biol Evol 34(12):3299–3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
- Saitou N, Nei M (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 4(4):406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. Ann Entomol Soc Am 87(6), 651–701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>
- Skarżyński D, Piwnik A, Porco D (2018) Integrating morphology and DNA barcodes for species delimitation within the species complex *Xenylla maritima* (Collembola: Hypogastruridae). Arthropod Syst Phylogeny 76(1):31–43. <https://doi.org/10.3897/asp.76.e31935>
- Striuchkova A, Malykh I, Potapov M, Kuznetsova N (2022) Sympatry of genetic lineages of *Parisotoma notabilis* s. l. (Collembola, Isotomidae) in the East European Plain. ZooKeys 1137:1–15. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1137.95769>
- Striuchkova AV (2023) Distribution of Genetic Lineages of *Parisotoma notabilis* (Collembola) in the Urbanistic Gradient. Russ J Ecol 54(4):347–351. <https://doi.org/10.1134/S1067413623040112>
- Sun X, Zhang F, Ding Y, Davies TW, Li Y, Wu D (2017) Delimiting species of *Protaphorura* (Collembola: Onychiuridae): integrative evidence based on morphology, DNA sequences and geography. Sci Rep 7:8261. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08381-4>
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res 22(22):4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Torricelli G, Frati F, Convey P, Telford M, Carapelli A (2010) Population structure of *Friesea grisea* (Collembola, Neanuridae) in the Antarctic Peninsula and Victoria Land: evidence for local genetic

differentiation of pre-Pleistocene origin. *Antarct Sci* 22(6):757–765. <https://doi.org/10.1017/S0954102010000775>

Trifinopoulos J, Nguyen LT, von Haeseler A, Minh BQ (2016) W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Res* 44(W1):W232–W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>

von Saltzwedel H, Scheu S, Schaefer I (2016) Founder events and pre-glacial divergences shape the genetic structure of European Collembola species. *BMC Evol Biol* 16:16–148. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0719-8>

von Saltzwedel H, Scheu S, Schaefer I (2017) Genetic structure and distribution of *Parisotoma notabilis* (Collembola) in Europe: Cryptic diversity, split of lineages and colonization patterns. *PLoS ONE* 12(2):e0170909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170909>

Whiting MF, Carpenter JC, Wheeler QD, Wheeler WC (1997) The Strepsiptera Problem: Phylogeny of the Holometabolous Insect Orders Inferred from 18S and 28S Ribosomal DNA Sequences and Morphology. *Syst Biol* 46(1):1–68. <https://doi.org/10.1093/sysbio/46.1.1>

Whiting MF (2002) Mecoptera is paraphyletic: multiple genes and phylogeny of Mecoptera and Siphonaptera. *Zool Scr* 31(1):93–104. <https://doi.org/10.1046/j.0300-3256.2001.00095.x>

Xu T, Zhou K, Ye W, Huang Y, Zhang Y, Zhu S, Ruan H, Liu H (2023) Genetic diversity and gene flow of the soil arthropod (*Scolopendra mutilans*) in urban landscapes: The roles of rivers, mountains and fragmentation. *Insect Conserv Divers* 17(2):203–214. <https://doi.org/10.1111/icad.12677>

Zhang SB, Maguire D, Zhang M, Zhang A, Zhang L, Swarts S, Okunieff P (2013) Maternal bias in mouse radiosensitivity: the role of the mitochondrial PTP. *Adv Exp Med Biol* 789:251–256. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7411-1\\_34](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7411-1_34)

Zhang B, Chen TW, Mateos E, Scheu S, Schaefer I (2018a) Cryptic species in *Lepidocyrtus lanuginosus* (Collembola: Lepidocyrtidae) are sorted by habitat types. *Pedobiologia* 67:12–19. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2018.03.001>

Zhang F, Jantarit S, Nilsai A, Stevens MI, Ding Y, Satasook Ch (2018b) Species delimitation in the morphologically conserved *Coecobrya* (Collembola: Entomobryidae): A case study integrating morphology and molecular traits to advance current taxonomy. *Zool Scr* 47(3):342–356. <https://doi.org/10.1111/zsc.12279>



# INTERAKCIE NOVÝCH 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH AKRIDÍNŮVÝCH DERIVÁTOV S BIOMAKROMOLEKULAMI

*Interactions of novel 2,6,9-trisubstituted acridine derivatives with biomacromolecules*

Adrián Gucký, Oksana Ozhelevska, Jan Korábečný, Mária Kožurková

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta*

**Abstrakt:** Akridínové deriváty predstavujú jedny z najvšestrannejších zlúčenín vo viacerých oblastiach modernej farmakoterapie. Ich široké spektrum biologickej aktivity vyplýva najmä zo schopnosti interakcie ich planárneho azaheterocyklického skeletu s rozličnými biomakromolekulami (nukleové kyseliny, enzýmy, transportné proteíny...). Akridínové deriváty patria medzi nízkomolekulové látky, ktoré predstavujú najatraktívnejšie súčasné chemoterapeutiká. V našej štúdii sme využili rôzne spektroskopické metódy (UV-Vis spektroskopia, fluorescenčná spektroskopia, cirkulárny dichroizmus) a teplotné denaturačné štúdie na skúmanie interakcií medzi tromi novými 2,6,9-trisubstituovanými akridínovými derivátmi **K2445-K2447** a DNA z teľacieho týmusu (ctDNA). Okrem toho sme sledovali inhibičnú účinnosť študovaných zlúčenín voči topoizomerase I (Topo I) ako jednému z kľúčových enzýmov v karcinogéze. Naše výsledky preukázali, že deriváty **K2445-K2447** sú schopné viazať sa na ctDNA a zároveň vykazujú značnú inhibičnú aktivitu voči Topo I, vďaka čomu sú vhodné pre ďalší výskum ich protirakovinovej aktivity.

**Kľúčové slová:** akridín, interakcie, DNA, topoizomerase I, inhibícia

**Abstract:** Acridine derivatives represent one of the most versatile compounds in multiple fields of current pharmacotherapy. Their broad spectrum of biological activity stems particularly from the ability of the planar azaheterocyclic ring to interact with various biomacromolecules (nucleic acids, enzymes, transport proteins...). Acridine derivatives belong to the class of low-molecular-weight ligands, the most attractive modern chemotherapeutics. In our study, we have employed different spectroscopic methods (UV-Vis spectroscopy, fluorescence spectroscopy, circular dichroism) and thermal denaturation studies to investigate the interactions between three novel 2,6,9-trisubstituted acridine derivatives **K2445-K2447** and calf thymus DNA (ctDNA). Furthermore, we have monitored the inhibition capacity of the studied compounds against topoisomerase I (Topo I) as one of the crucial enzymes in carcinogenesis. Our results proved that derivatives **K2445-K2447** are capable of binding to ctDNA while also exhibiting notable inhibitory activity against Topo I, making them suitable for further research of their anticancer activity.

**Keywords:** acridine, interactions, DNA, topoisomerase I, inhibition

## Úvod

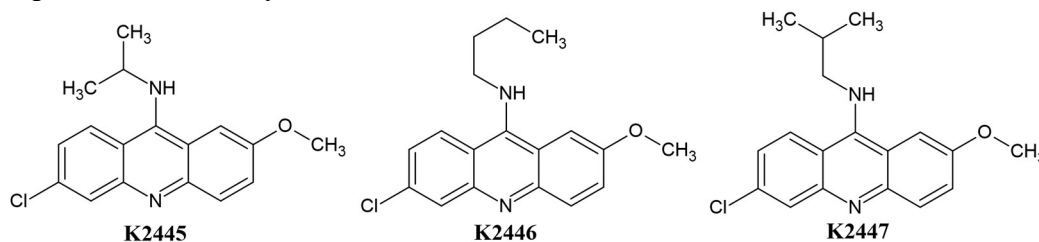
Akridín a jeho deriváty patria medzi najextenzívnejšie študované heterocyklické zlúčeniny vďaka svojmu širokému využitiu v medicíne (Prasher, 2018) a priemysle (Songbuer, 2018). Vysoký záujem organickej chémie, biochémie a medicíny o akridínové deriváty vyplýva z ich schopnosti interkalácie medzi bázové páry DNA, inhibície topoizomeras a telomerás a fluorescenčných vlastností akridínového skeletu (Vilková, 2022). Konjugovaná štruktúra dvojitého väzby a vysoký elektrónový deficit na uhlíku v pozícii 9 otvára široké možnosti modifikácie akridínového skeletu a prípravy nových štruktúrnych analógov s rozličnou biologickou aktivitou (Sabolová, 2020). 9-substituované akridíny vykazujú antibakteriálne, antivirálné, protirakovinové, antiprotozoálne, antioxidačné, fungicídne a mnohé ďalšie farmakologické účinky (Kožurková, 2021).

Nádorové ochorenia sú dlhodobou jednou z hlavných príčin úmrtí vo svete a neustále je vynakladané enormné úsilie na objavovanie a vývoj nových protirakovinových liečiv. V uplynulých desaťročiach sa čoraz viac pozornosti dostáva nízkomolekulovým látkam, ktoré pôsobia voči komplexným, viacložkovým bunkovým mechanizmom (De Almeida, 2017). Vďaka narúšaniu molekulových procesov asociovaných s DNA sú práve malé molekuly pôsobiace na nukleové kyseliny a rozličné enzýmy (topoizomerasy, karboanhydrázy, históndeacetylázy, cyklín-dependentné kinázy a iné)

(Dobbelstein, 2014) považované za najdôležitejšie chemoterapeutiká v kontexte modernej protinádorovej terapie.

## Metodika práce

Študovanými zlúčeninami boli tri nové akridínové deriváty **K2445**, **K2446** a **K2447** (Obr. 1) vzájomne sa líšiacie štruktúrou uhl'ovodíkového reťazca naviazaného na aminoskupine v pozícii 9. Látky boli rozpustené v dimetylsulfoxide (DMSO) za účelom získania ich roztokov s koncentráciou  $10 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , ktoré boli v prípade potreby zriedené na nižšie koncentrácie príslušným objemom DMSO. Roztok ctDNA bol pripravený rozpustením tuhej disodnej soli ctDNA v tlmivom roztoku  $10 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  Tris-HCl (pH = 7,4) v pomere  $3 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ . Koncentrácia pripraveného roztoku ctDNA bola stanovená spektrofotometricky.



Obr. 1 Štruktúra študovaných akridínových derivátov **K2445-K2447**

Spektrálne merania boli realizované v tlmivom roztoku Tris-HCl (pH = 7,4) a teplotné denaturačné štúdie v tlmivom roztoku BPES ( $6 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $2 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  EDTA,  $35 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  NaCl, pH = 7,1). Všetky spektrá a grafy boli spracované v softvéri GraphPad Prism 8 a výpočty realizované v Microsoft Excel 365.

UV-Vis spektrá boli merané na spektrofotometri Specord S 300 v rozsahu vlnových dĺžok 230-500 nm pri laboratórnej teplote ( $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Vzorky boli analyzované v 1 cm kremennej kyvete 100-QS. Spektrofotometrická titrácia bola uskutočnená pri konštantnej koncentrácii študovaných látok ( $25 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) a postupne sa zvyšujúcej koncentrácii ctDNA ( $0-64,6 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  pri látkach **K2445** a **K2446**, resp.  $0-78,1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  pri látke **K2447**).

Fluorescenčné spektrá boli merané na spektrofluorimetri Varian Cary Eclipse v  $1 \times 1 \text{ cm}$  kremennej kyvete 101-QS s nastavením šírky excitačnej štrbiny na 5 nm a šírky emisnej štrbiny na 10 nm. Pri fluorescenčných meraniach s ctDNA bola na excitáciu študovaných látok použitá excitačná vlnová dĺžka 422 nm a emisné spektrá boli merané v rozsahu 435-600 nm pri piatich rôznych teplotách (15, 20, 25, 30 a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Spektrofluorimetrická titrácia derivátov **K2445-K2447** ( $10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) bola uskutočnená postupnými prídavkami ctDNA ( $0-46,5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  pri látkach **K2445** a **K2447**, resp.  $0-37,3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  pri látke **K2446**).

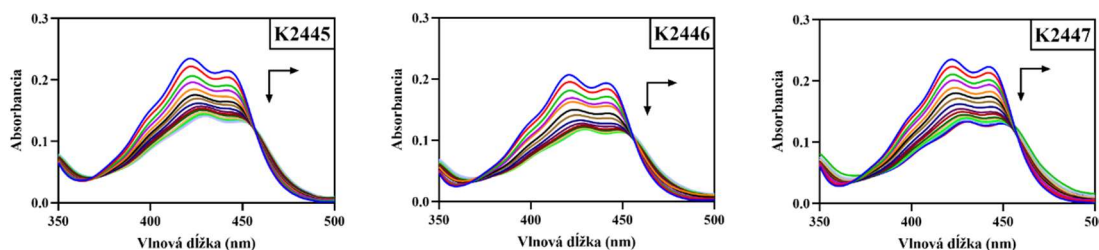
Spektrá cirkulárneho dichroizmu (CD) boli merané na spektropolarimetri Jasco J-810 v rozsahu v rozsahu vlnových dĺžok 230-500 nm pri laboratórnej teplote ( $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Vzorky boli analyzované v 1 cm kremennej kyvete 100-QS s rýchlosťou skenovania  $200 \text{ nm/min}$  a šírkou spektrálneho pásu 2 nm. Spektropolarimetrická titrácia bola uskutočnená pri konštantnej koncentrácii ctDNA ( $31,2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) postupnými prídavkami študovaných látok ( $0-24,7 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ). Na rovnakom prístroji boli realizované aj teplotné denaturačné štúdie ctDNA v 1 mm kremennej kyvete 110-QS. Monitorovanie absorbancie pri konštantnej vlnovej dĺžke 260 nm bolo uskutočnené v teplotnom rozsahu  $50-100 \text{ }^\circ\text{C}$  s rýchlosťou ohrevu  $1 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . Koncentrácia ctDNA v kyvete bola  $252 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a koncentrácia látok **K2445-K2447** bola  $40 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

Relaxačný test Topo I bol uskutočnený podľa protokolu firmy Takara Bio Inc. Inhibičná aktivita látok **K2445-K2447** voči Topo I bola sledovaná pomocou agarózovej gélovej elektroforézy na 1 % (w/v) agarózovom géli v prostredí tlmivého roztoku  $1 \times \text{TAE}$  ( $40 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  Tris,  $20 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  EDTA). Ako substrát enzymatickej reakcie bol použitý superšpiralizovaný plazmid pBR322 a jednotlivé látky boli testované v koncentráciách 10, 50 a  $100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Ako pozitívna kontrola bol použitý  $100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (S)-(+)-kamptotecín (CPT). Elektroforéza prebiehala

pri napätí 57 V a po jej ukončení bol gél farbený v roztoku etídium bromidu, odfarbený v destilovanej vode a vizualizovaný pod UV žiarením pomocou systému SYNGENE.

## Výsledky a diskusia

UV-Vis absorpčná spektroskopia je jednoduchá, často využívaná a jedna z najefektívnejších metód na detekciu interakcie nízkomolekulových látok s biomakromolekulami. Tvorba komplexu DNA-ligand vedie k pozorovateľným zmenám v absorpčnom spektre, ktoré sa prejavujú nárastom alebo poklesom absorbancie označovaným ako hyperchrómny alebo hypochrómny posun. Tento jav môže byť sprevádzaný aj posunom absorpčného maxima k vyšším vlnovým dĺžkam (batochrómny posun) alebo nižším vlnovým dĺžkam (hypsochrómny posun) (Sirajuddin, 2013). UV-Vis absorpčné spektrá študovaných látok v prítomnosti zvyšujúcej sa koncentrácie ctDNA sú zobrazené na Obr. 2.



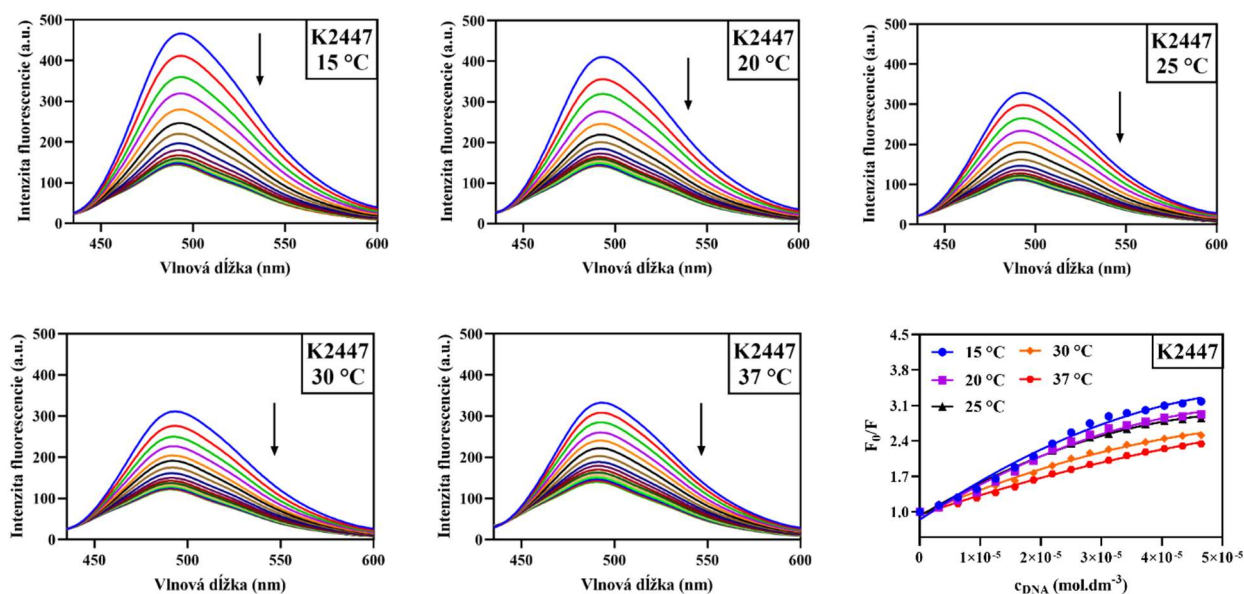
**Obr. 2** UV-Vis absorpčné spektrá študovaných derivátov ( $25 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) v prítomnosti zvyšujúcej sa koncentrácie ctDNA ( $0-64,6 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  pri látkach **K2445** a **K2446**, resp.  $0-78,1 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  pri látke **K2447**)

Z absorpčných spektier na Obr. 2 je zrejmé, že dochádza k interakcii medzi zlúčeninami **K2445-K2447** a ctDNA, o čom svedčí prítomnosť izobestických bodov a príslušných hypochrómnych a batochrómnych posunov. Namerané údaje boli použité na zostrojenie grafov závislosti  $A_0/(A_0-A)$  od koncentrácie ctDNA a vypočítanie príslušných väzbových konštánt ( $K_b$ ) pomocou Benesi-Hildebrandovej rovnice (Benesi, 1949), ktoré sú uvedené v Tab. 1 spolu s ostatnými parametrami:

**Tab. 2:** UV-Vis spektrálne charakteristiky väzby ligandov **K2445-K2447** s ctDNA

Látka	Hypochromizmus (%)	$\Delta\lambda$ (nm)	$K_b$ ( $\text{mol}^{-1}\cdot\text{dm}^3$ )
<b>K2445</b>	39,3	8	$1,12 \times 10^4$
<b>K2446</b>	42,2	8	$1,08 \times 10^4$
<b>K2447</b>	41,3	8	$1,13 \times 10^4$

Na detailnejšie priblíženie mechanizmu interakcie študovaných látok s ctDNA bola realizovaná fluorescenčná analýza. Fluorescenčná spektroskopia je ďalšou z bežne využívaných techník na štúdium interakcií nízkomolekulových ligandov s DNA. Jej výhody spočívajú najmä vo vysokej citlivosti a selektivite. Najintenzívnejšia fluorescencia je pozorovaná u látok obsahujúcich aromatické systémy s nízkoenergetickými  $\pi \rightarrow \pi^*$  elektrónovými prechodmi. Keďže vlastná fluorescencia DNA je zanedbateľná, možno touto metódou sledovať zmeny vo fluorescencii študovanej látky v dôsledku jej interakcie s DNA. Následkom postupného pridávania DNA k roztoku nízkomolekulovej látky dochádza v emisnom spektre buď k nárastu intenzity fluorescencie alebo jej zhasaniu (poklesu), pričom zároveň môže nastať aj zmena vlnovej dĺžky emisného maxima podobne ako v prípade UV-Vis absorpčnej spektroskopie (batochrómny alebo hypsochrómny posun) (Sirajuddin, 2013; Rehman, 2015). Emisné spektrá derivátu **K2447** v komplexe s ctDNA pri rôznych teplotách spolu s príslušnou Stern-Volmerovou závislosťou  $F_0/F$  od koncentrácie ctDNA sú zobrazené na Obr. 3.



Obr. 3 Emisné spektrá derivátu **K2447** ( $10 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) v prítomnosti rastúcej koncentrácie ctDNA ( $0-46,5 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ )

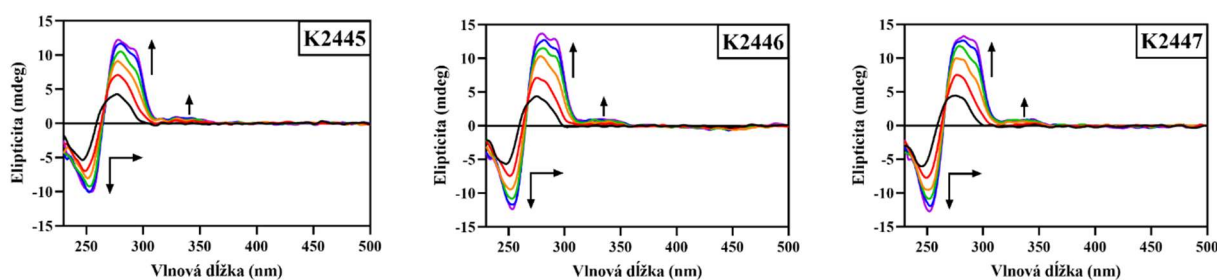
Vo všetkých prípadoch dochádzalo vplyvom zvyšujúcej sa koncentrácie ctDNA k zhášaniu fluorescence, čo je ďalším dôkazom interakcie študovaných látok s DNA. Samotné zhášanie fluorescence môže prebiehať statickým alebo dynamickým mechanizmom, pričom statické zhášanie je výsledkom tvorby komplexu fluorofór-zhášač v základnom stave, zatiaľ čo pri dynamickom zhášaní sú fluorofór a zhášač v kolízii len počas prechodnej existencie excitovaného stavu (Lakowicz, 2006). Získané Stern-Volmerove závislosti však nemajú typický lineárny charakter, z čoho môžeme usúdiť, že zhášanie fluorescence neprebíha výlučne statickým alebo dynamickým mechanizmom, ale pravdepodobne prostredníctvom ich kombinácie. Na analýzu takýchto Stern-Volmerových závislostí a presné stanovenie Stern-Volmerových konštánt ( $K_{sv}$ ) nemohla byť preto použitá klasická Stern-Volmerova rovnica. Za účelom dôkladnej analýzy uvedených závislostí a výpočet príslušných konštánt  $K_{sv}$  pre statické a dynamické zhášanie by bolo nutné vykonať meranie časovo rozlíšených fluorescenčných spektier (Tanwar, 2022).

Hlavnými väzbovými silami zapojenými v nekovalentnej interakcii nízkomolekulových látok s biomakromolekulami sú elektrostatické sily, vodíkové väzby, van der Waalove sily a hydrofóbne interakcie. Termodynamické parametre, ktoré zahŕňajú zmenu Gibbsovej energie ( $\Delta G$ ), zmenu entalpie ( $\Delta H$ ) a zmenu entropie ( $\Delta S$ ), sú nápomocné pri definovaní typov väzbových síl zapojených v interakcii skúmaných ligandov s DNA. V prípade, že získané hodnoty  $\Delta H$  a  $\Delta S$  sú záporné, hlavnými väzbovými silami sú van der Waalove interakcie a vodíkové väzby. Naopak pri kladných hodnotách  $\Delta H$  a  $\Delta S$  možno predpokladať existenciu hydrofóbnych interakcií. Ak je pozorovaná nulová alebo záporná hodnota  $\Delta H$  a kladná hodnota  $\Delta S$ , väzba je sprostredkovaná elektrostatickými interakciami. Záporná hodnota  $\Delta G$  potvrdzuje spontánnosť reakcie, teda väzby ligandu s DNA (Konkoľová, 2019). Zistené termodynamické parametre väzby derivátov **K2445-K2447** s ctDNA sú uvedené v Tab. 2. Záporné hodnoty  $\Delta G$  svedčia o spontánnosti väzby všetkých študovaných látok s ctDNA pri každej sledovanej teplote. Vo všetkých prípadoch bola vypočítaná záporná hodnota  $\Delta H$ , z čoho možno usúdiť, že väzba derivátov s ctDNA je exotermickým procesom. Hodnoty  $\Delta S$  boli taktiež záporné, a preto možno predpokladať, že hlavnými väzbovými silami zapojenými v interakcii látok s ctDNA sú vodíkové väzby a van der Waalove sily.

Tab. 2: Hodnoty termodynamických parametrov väzby látok K2445-K2447 s ctDNA pri rôznych teplotách

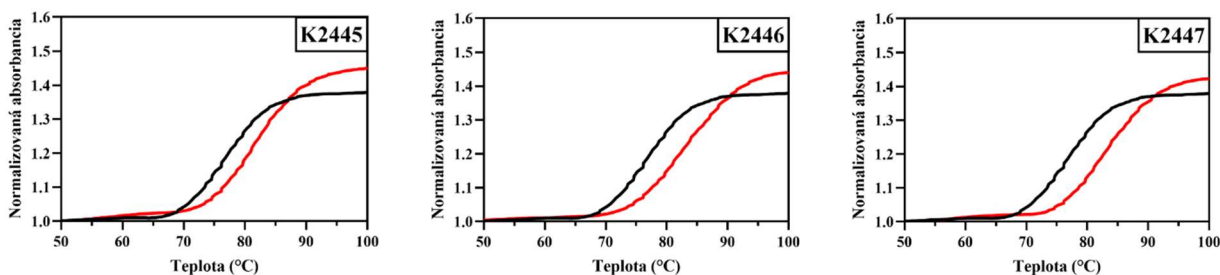
Látka	T (K)	$\Delta G$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S$ (J.K <sup>-1</sup> .mol <sup>-1</sup> )
K2445	288,15	-19,92	-40,88	-91,28
	293,15	-13,48		
	298,15	-13,41		
	303,15	-13,17		
	310,15	-12,88		
K2446	288,15	-28,06	-99,12	-249,60
	293,15	-25,16		
	298,15	-24,63		
	303,15	-22,65		
	310,15	-22,52		
K2447	288,15	-29,28	-76,65	-164,38
	293,15	-28,69		
	298,15	-27,65		
	303,15	-26,20		
	310,15	-26,04		

Ďalšou použitou spektrálnou metódou bola CD spektroskopia, pomocou ktorej možno sledovať zmeny v sekundárnej štruktúre biomakromolekúl v dôsledku ich interakcie s nízkomolekulovými ligandmi. V CD spektre natívnej formy B-DNA možno pozorovať dva typické pásy – negatívny s maximom pri vlnovej dĺžke približne 243 nm a pozitívny s maximom pri vlnovej dĺžke približne 277 nm. Negatívny pás zodpovedá pravotočivej helicity B-formy DNA, zatiaľ čo pozitívny pás je výsledkom stohovacích interakcií medzi dusíkovými bázami dvojzávitnice. Oba pásy sú citlivé na interakciu nízkomolekulových látok s DNA, a tak napomáhajú k objasneniu väzbového módu študovaného ligandu s DNA. Namerané CD spektrá ctDNA v prítomnosti rastúcej koncentrácie jednotlivých ligandov sú zobrazené na Obr. 4.

Obr. 4 CD spektrá ctDNA (31,2  $\mu\text{mol.dm}^{-3}$ ) v prítomnosti študovaných derivátov (0-24,7  $\mu\text{mol.dm}^{-3}$ ).

Vo všetkých troch prípadoch došlo vplyvom naviazania ligandu na ctDNA k výraznej zmene intenzity pozitívneho aj negatívneho pásu a súčasnej tvorbe pozitívneho indukovaného CD signálu nízkej intenzity v oblasti vlnových dĺžok 300-350 nm, čo je ďalším dôkazom interakcie medzi ctDNA a látkami K2445-K2447. Na základe pozorovaných zmien v CD spektrách možno predpokladať, že väzba študovaných derivátov s dvojzávitnicou ctDNA spôsobuje jej čiastočné odvíjanie a narušenie pravotočivej helicity, čo je spravidla spojené s interkaláciou medzi bázové páry (Šmidlehner, 2018). Poslednou metodikou, ktorá bola využitá na štúdium väzbových vlastností akridínových derivátov K2445-K2447 s ctDNA bola teplotná denaturácia. Zahrievaním dvojvláknovej DNA (dsDNA) dochádza k jej denaturácii a prechodu dvojvláknovej formy na jednovláknovú (ssDNA). V absorpčnom spektre možno tento jav pozorovať ako prudký nárast absorbancie pri vlnovej dĺžke 260 nm, ktorý je spôsobený tým, že extinkčný koeficient ssDNA je mnohonásobne vyšší než v prípade

dsDNA. Teplota, pri ktorej je 50 % dsDNA denaturovanej na ssDNA, sa nazýva teplota prechodu ( $T_m$ ). Meranie teploty prechodu DNA v absencii a v prítomnosti študovaného ligandu a porovnanie získaných hodnôt môže priblížiť mechanizmus interakcie daného ligandu s DNA. Interkalátory stabilizujú dsDNA a zvyšujú hodnotu  $T_m$  o približne 5-8 °C. Látky viažuce sa do žliabku alebo elektrostaticky na sacharidovo-fosfátovú kostru nemajú významný vplyv na stabilitu dsDNA a zmena  $T_m$  je v tomto prípade veľmi nízka alebo žiadna (Rehman, 2015). Krivky teplotnej denaturácie ctDNA v absencii a v prítomnosti študovaných látok sú uvedené na Obr. 5.



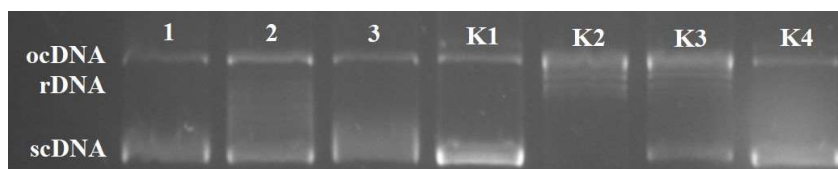
Obr. 5 Grafy teplotnej denaturácie ctDNA ( $252 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , čierna krivka) v prítomnosti ligandov **K2445-K2447** ( $40 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , červená krivka)

Zistená teplota prechodu použitej vzorky ctDNA bola  $76,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Následkom väzby akridínových derivátov **K2445-K2447** došlo k jej zvýšeniu o hodnoty  $4,9\text{-}6,4 \text{ }^\circ\text{C}$ , čo svedčí o stabilizácii dvojjávitnicovej štruktúry naviazanými ligandmi a podobne ako výsledky CD spektroskopie napovedá o pravdepodobnej interkalácii študovaných látok medzi bázové páry ctDNA. Teploty prechodu ctDNA v komplexe s jednotlivými látkami sú uvedené v Tab. 3.

Tab. 3 Hodnoty  $T_m$  samotnej ctDNA a ctDNA v komplexe so študovanými látkami **K2445-K2447**.

Vzorka	$T_m$ ( $^\circ\text{C}$ )	$\Delta T_m$ ( $^\circ\text{C}$ )
ctDNA	76,5	-
ctDNA + <b>K2445</b>	81,4	+ 4,9
ctDNA + <b>K2446</b>	82,9	+ 6,4
ctDNA + <b>K2447</b>	83,0	+ 6,5

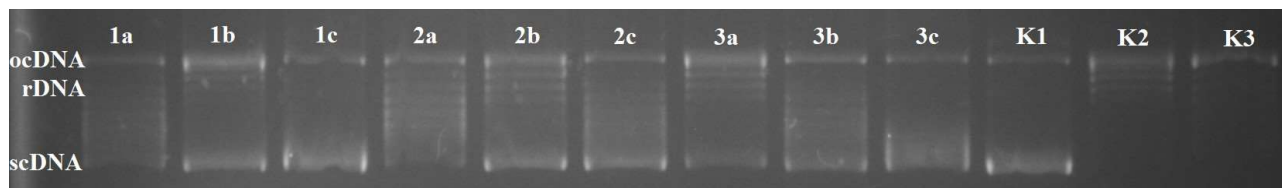
Posledným uskutočneným experimentom bol relaxačný test Topo I, pomocou ktorého bola sledovaná inhibičná aktivita skúmaných derivátov voči enzýmu Topo I. Enzymatickým pôsobením Topo I nastáva relaxácia superspiralizovanej formy plazmidovej DNA (scDNA) a vznik relaxovaných foriem (rDNA) a otvorenej cirkulárnej formy (ocDNA). V prípade, že si Topo I zachováva svoju aktivitu, dochádza k úplnej relaxácii scDNA a v elektroforegrame je pozorovaná iba ocDNA a rDNA. Inhibícia aktivity Topo I sa naopak prejaví vymiznutím pásov rDNA a napokon aj ocDNA (Konkoľová, 2021). Elektroforegram prvého relaxačného testu Topo I je na Obr. 6.



Obr. 6 Elektroforegram testovania inhibičnej aktivity derivátov **K2445** (1), **K2446** (2) a **K2447** (3) voči Topo I v koncentrácii  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; K1 = SC pBR322; K2 = SC pBR322 + Topo I; K3 = SC pBR322 + Topo I + DMSO; K4 = SC pBR322 + Topo I +  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  CPT

Z elektroforegramu na Obr. 6 je zjavné, že všetky tri študované látky vykazujú v koncentrácii  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  vysokú inhibičnú aktivitu voči Topo I, o čom svedčí prítomnosť pásov scDNA. V prípade derivátu **K2446** možno kvôli malému zastúpeniu rDNA foriem vo výslednej vzorke predpokladať o niečo nižšiu inhibičnú aktivitu, zatiaľ čo inhibícia Topo I látkami **K2445** a **K2447** je porovnateľná

s CPT. Na detailnejšie preskúmanie inhibičnej aktivity bol realizovaný druhý relaxačný test v nižších koncentráciách študovaných látok (Obr. 7).



**Obr. 7** Elektroforegram testovania inhibičnej aktivity derivátov **K2445** (1), **K2446** (2) a **K2447** (3) voči Topo I v koncentráciách a = 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , b = 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , c = 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; K1 = SC pBR322; K2 = SC pBR322 + Topo I; K3 = SC pBR322 + Topo I + DMSO

Na základe výsledkov elektroforetických experimentov možno tvrdiť, že všetky tri študované zlúčeniny vykazujú určitú inhibičnú aktivitu voči Topo I už v koncentrácii 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , pričom s rastúcou koncentraciou sa zvyšuje aj účinnosť inhibície. Skúmané akridínové deriváty možno podľa ich inhibičnej účinnosti zoradiť nasledovne: **K2447** > **K2445** > **K2446**.

## Záver

V rámci našej štúdie sme pomocou spektroskopických metód a teplotnej denaturácie potvrdili interakciu troch nových 2,6,9-trisubstituovaných derivátov akridínu **K2445-K2447** s ctDNA. Na základe dosiahnutých výsledkov a ich porovnania s dostupnou literatúrou o predošlom výskume v oblasti akridínových derivátov predpokladáme, že primárnym väzbovým mechanizmom je interkalácia akridínového skeletu medzi bázové páry dvojzávitnice DNA. Ďalej možno konštatovať, že dĺžka a usporiadanie postranného reťazca v pozícii 9 má určitý vplyv na mieru stabilizácie dsDNA, nakoľko deriváty **K2446** a **K2447** obsahujúce *n*-butylový, resp. izobutylový reťazec zvyšovali  $T_m$  ctDNA výraznejšie než látka **K2445** obsahujúca propylový zvyšok. Vplyv štruktúry bočného reťazca bol pozorovaný aj pri inhibícii Topo I. Podľa výsledkov relaxačného testu Topo I vykazoval najúčinnjšiu inhibičnú aktivitu derivát **K2447** a najnižšiu **K2446**, z čoho vyplýva, že rozvetvenie uhl'ovodíkového reťazca má výraznejší vplyv na mieru inhibície Topo I než dĺžka tohto reťazca. Dosiahnuté výsledky tvoria sľubný základ pre ďalší výskum biologickej aktivity študovaných zlúčenín.

## Pod'akovanie

Tento príspevok vznikol s finančnou podporou grantu VEGA č. 1/0037/22.

## Literatúra

BENESI, H. A. et al., 1949. Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. In: Journal of American Chemical Society. Vol. 71, no. 8, p. 2703-2707. ISSN 1520-5126.

DE ALMEIDA, S. M. V. et al., 2017. DNA binding and Topoisomerase inhibition: How can these mechanisms be explored to design more specific anticancer agents? In: Biomedicine & Pharmacotherapy. Vol. 96, p. 1538-1556. ISSN 1950-6007.

DOBBELSTEIN, M. et al., 2014. Targeting tumour-supportive cellular machineries in anticancer drug development. In: Nature Reviews Drug Discovery. Vol. 13, no. 3, p. 179-196. ISSN 1474-1784.

KONKOLOVÁ, E. et al., 2019. Spectroscopic Evaluation of Novel Tacrine-Coumarin Hybrids as HSA-Interacting Agents. In: Organic and Medicinal Chemistry International Journal. Vol. 8, no. 2, p. 555733. ISSN 2474-7610.

KONKOLOVÁ, E. et al., 2021. Tacrine-coumarin derivatives as topoisomerase inhibitors with antitumor effects on A549 human lung carcinoma cancer cell lines. In: *Molecules*. Vol. 26, no. 4, p. 1133. ISSN 1420-3049.

KOŽURKOVÁ, M. et al., 2021. A new look at 9-substituted acridines with various biological activities. In: *Journal of Applied Toxicology*. Vol. 41, no. 1, p. 175-189. ISSN 1099-1263.

LAKOWICZ, Joseph Raymond, 2006. *Principles of fluorescence spectroscopy: 3rd Edition*. New York: Springer Publishing. ISBN 03-873-1278-1.

PRASHER, P. et al., 2018. Medicinal chemistry of acridine and its analogues. In: *Medicinal Chemistry Communications*. Vol. 9, no. 10, p. 1589-1618. ISSN 2040-2511.

REHMAN, S. U. et al., 2015. Studying non-covalent drug-DNA interactions. In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Vol. 576, p. 49-60. ISSN 1096-0384.

SABOLOVÁ, D. et al. 2020. Proflavine/acriflavine derivatives with versatile biological activities. In: *Journal of Applied Toxicology*. Vol. 40, no. 1, p. 64-71. ISSN 1099-1263.

SIRAJUDDIN, M. et al., 2013. Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. Vol. 124, p. 1-19. ISSN 1873-2682.

SONGBUER, L. M. et al., 2018. Synthesis and application of acridine derivatives. In: *Chinese Journal of Organic Chemistry*. Vol. 38, no. 3, p. 594-611. ISSN 0253-2786.

ŠMIDLEHNER, T. et al., 2018. Polarization spectroscopy methods in the determination of interactions of small molecules with nucleic acids – tutorial. In: *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. Vol. 14, p. 84-105. ISSN 1860-5397.

TANWAR, A. S. et al., 2022. Dual “Static and Dynamic” Fluorescence Quenching Mechanisms Based Detection of TNT via a Cationic Conjugated Polymer. In: *ACS Measurement Science Au*. Vol. 2, no. 1, p. 23-30. ISSN 2694-250X.

VILKOVÁ, M. et al., 2022. Acridine Based N-Acylhydrazone Derivatives as Potential Anticancer Agents: Synthesis, Characterization and ctDNA/HSA Spectroscopic Binding Properties. In: *Molecules*. Vol. 27, no. 9, p. 2883. ISSN 1420-3049.



# VPLYV ERYTROPOETÍNOVÉHO RECEPTORA NA PLATINOVÚ CHEMOTERAPEUTICKÚ REZISTENCIU NÁDOROVÝCH BUNIEK OVARIÁLNEHO ADENOKARCINÓMU

*Effect of erythropoietin receptor on platinum-based chemotherapy resistance in ovarian adenocarcinoma cells*

**Pavol Harvanik<sup>1</sup>, Martina Šemeláková<sup>1</sup>, Peter Solár<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta

**Abstrakt:** Okrem známeho účinku erythropoetínu (EPO) na diferenciáciu hematopoetických buniek, mnohé štúdie odhalili aj pro-stimulačný účinok EPO na nádorové bunky. Aj keď iné štúdie nepotvrdili priamy vplyv EPO na nádorové bunky, je zrejme, že EPO pomáha takýmto bunkám znižovať ich citlivosť na chemoterapiu, výraznejšou bunkovou migráciou, invazivitou a schopnosťou vytvárať a chrániť nádorové kmeňové bunky. Na základe týchto zistení ako aj nedávno publikovaných výsledkov sme sa rozhodli detailnejšie preskúmať úlohu EPOR v nádorových bunkách ľudského adenokarcinómu. Platinové deriváty novej generácie: karboplatina a oxaliplatina sú cytotoxické alkylačné látky vyžívané pri liečbe širokého spektra solídnych nádorov. Pochopenie súvislosti medzi expresiou EPOR, stimuláciou EPO, mierou komplexných celulórných zmien a zmenenou citlivosťou nádorovej bunky na platinové deriváty by mohlo pomôcť zvýšiť terapeutický účinok liečby.

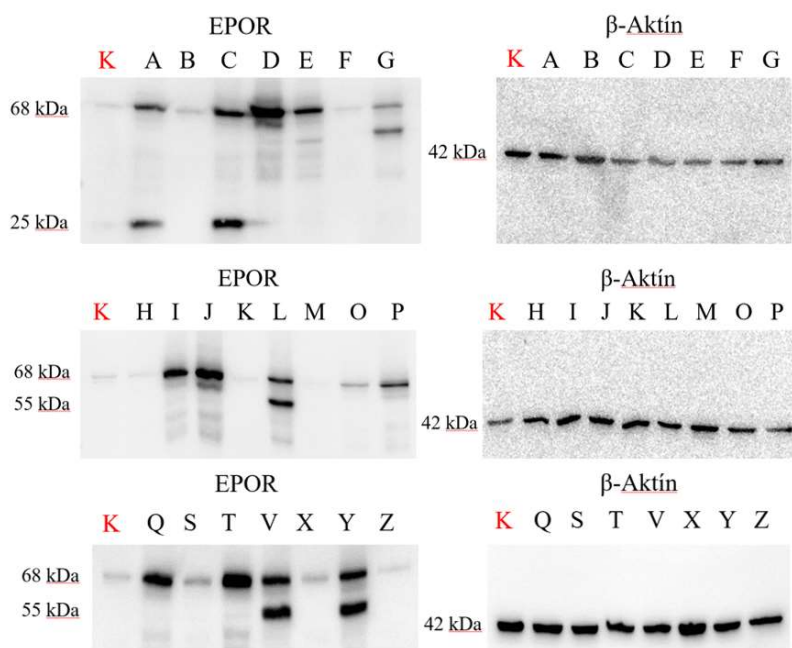
**KLúčové slová:** *EPOR, A2780, karboplatina, oxaliplatina, rezistencia.*

**Abstract:** In addition to the known effect of erythropoietin (EPO) on the differentiation of hematopoietic cells, many studies have also revealed a pro-stimulatory effect of EPO on tumor cells. Although other studies have not confirmed a direct effect of EPO on tumor cells, EPO helps such cells to reduce their sensitivity to chemotherapy by more pronounced cell migration, invasiveness, and the ability to generate and protect tumor stem cells. Based on these findings as well as recently published results, we decided to investigate in more detail the role of EPOR in human adenocarcinoma tumor cells. The new generation platinum derivatives: carboplatin and oxaliplatin are cytotoxic alkylating agents used in the treatment of a wide range of solid tumors. Understanding the relationship between EPOR expression, EPO stimulation, the rate of complex cellular changes, and the altered sensitivity of the tumor cell to platinum derivatives could help to increase the therapeutic effect of the treatment.

**Keywords:** *EPOR, A2780, carboplatin, oxaliplatin, resistance.*

## Transfekcia línie A2780 EPOR

Expresný vektor pUNO1 (Invivogen, Toulouse, Francúzsko) obsahujúci plne sekvenovaný otvorený čítací rámec EPOR sme transfekovali do bunkovej línie ľudského ovariálneho adenokarcinómu A2780 s použitím transfekčných činidiel Lipofectamine LTX DNA (ThermoFisher, Waltham, MA, USA). 25 ug blasticidínu sme využili na selekciu klonov A2780 nadmerne exprimujúcich EPOR. Proces transfekcie bol uskutočnený v GMO špecializovanom laboratórnem pracovisku UVLF - Prof. Mangesh Bidhe.

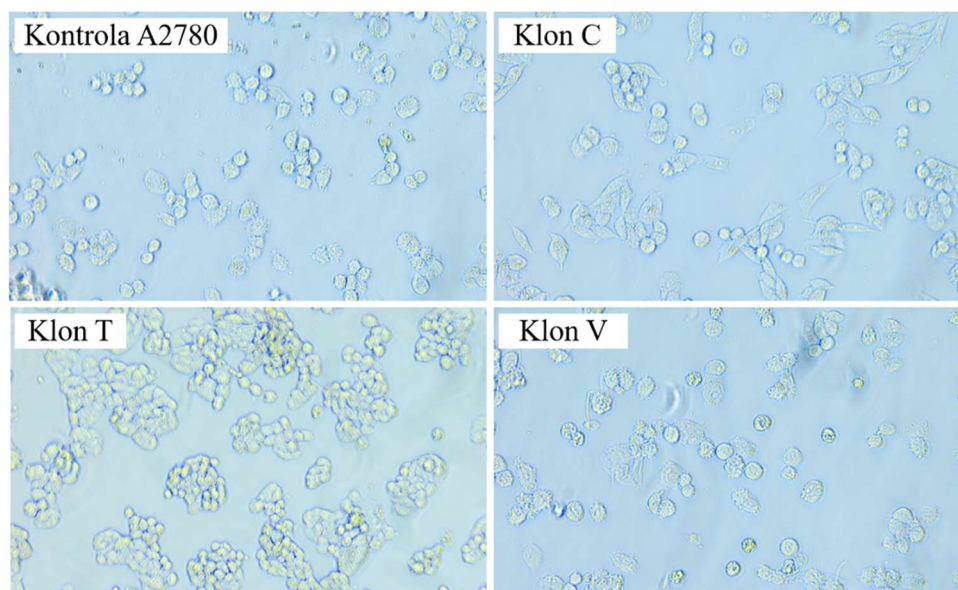


**Obr. 3:** Western blotting analýza EPOR expresie, 22 klonov A-Z v porovnaní s  $\beta$ -Aktínom.

Využitím metódy limiting dilution sme z bunkovej kultúry obsahujúcej rezistenčný gén vyseletovali 22 samostatných buniek, ich kultiváciu sme pripravili 22 homogénnych bunkových línii. Vytvorené línie sme podrobili western blotting analýze za účelom potvrdenia expresie EPOR (Obr.1). Pozorovali sme 3 hlavné typy expresného vzoru. Prvá kombinácia izofoeriem EPOR o molekulárnej hmotnosti 68 a 25 kDa, druhý obsahoval iba 68 kDa fragment EPOR a tretí kombináciu 68 a 55 kDa EPOR proteínu. Pre ďalšie analýzy sme požili ako modely klonov C, T a V z ktorého každý exprimoval jeden expresný vzor EPOR.

### Morfológia buniek klonov EPOR C, T a V

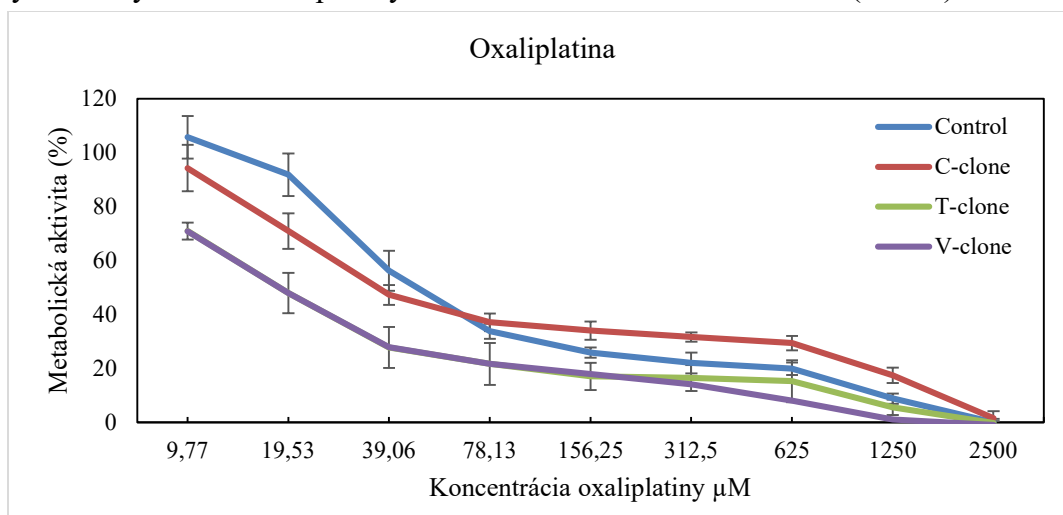
Svetelnou mikroskopiou sme vyhodnotili morfológiu klonov C, T a V (Obr. 2). V porovnaní s parentálnou sférickou líniou A2780 (A) vykazovali bunky klonu C výrazne vretenovitejší tvar (C). Klon T vytváral sferoidné bunkové štruktúry (T) a klon V nevykazoval výrazne zmenenú celulárnu morfológiu (V).



**Obr. 2:** Celulárna morfológia línie A2780 a derivovaných klonov C, T a V zobrazené svetelnou mikroskopiou (zväčšenie 200X).

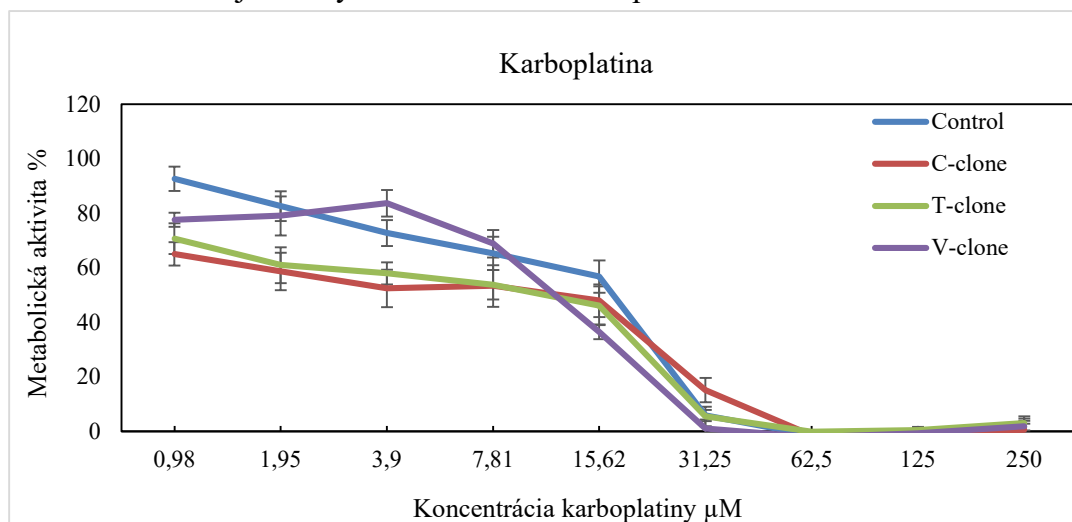
## Metabolická aktivita buniek

Na stanovenie aktivity celulárneho metabolizmu po expozícií buniek platinovým cytostatikám sme využili MTS analýzu. Bunky sme naočkovali na 96-jamkové platne, po 24 hodinách sme pridali cytostatické látky a nechali sme ich inkubovať počas 72 hodín. Následne sme do každej jamky sa pridali 20 ul roztoku MTS a po 4 hodinách sa sme stanovili absorbanciu pri (490 nm). Klony V a T odpovedali na cytotoxický účinok oxaliplatiny takmer identicky, percentuálne zastúpenie živých buniek bolo v prípade týchto dvoch klonov podstatne nižšie ako u kontrolnej kultúry. Bunky klonu C znášali cytotoxický účinok oxaliplatiny o niečo horšie ako kontrolná línia (Graf 1).



**Graf 1:** Porovnanie metabolickej aktivity bunkovej línie A2780 (control) a klonov C, T a V pri koncentráciách oxaliplatiny (9,77 – 2500 µM) využitím MTS testu.

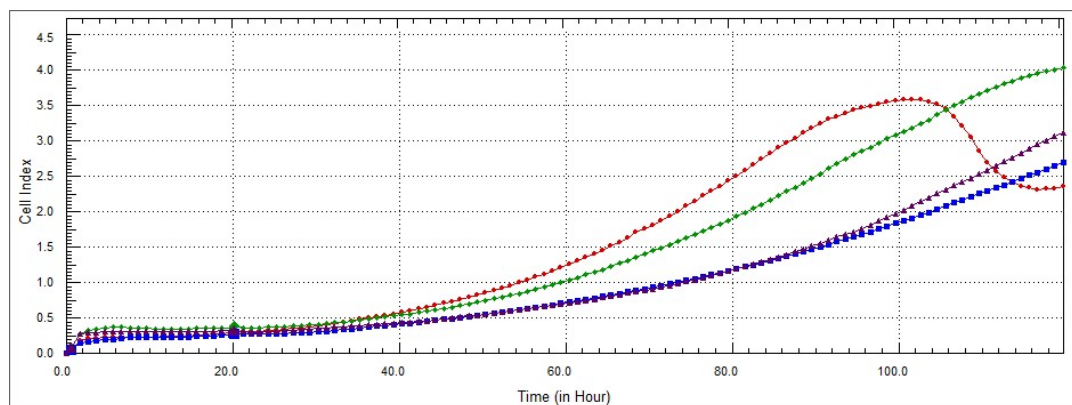
V prípade exponovania bunkových kultúr karboplatine sme pozorovali nasledujúce zmeny (Graf 2). Klony C a T preukázali mierne zvýšenú mieru citlivosti na liečbu karboplatinou. V prípade klonu V bola miera metabolickej aktivity takmer nezmenená v porovnaní s kontrolnou líniou A2780.



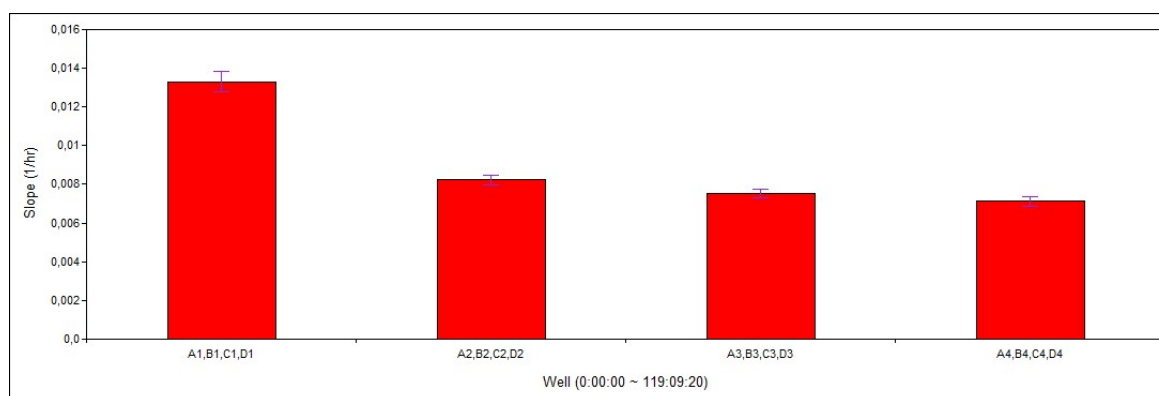
**Graf 2:** Porovnanie metabolickej aktivity bunkovej línie A2780 (control) a klonov C, T a V pri koncentráciách karboplatiny (0,98 – 250 µM) využitím MTS testu.

## Bunková proliferácia

Na stanovenie bunkovej profilácie sme využili xCELLigence RTCA SP. Bunky sme napipetovali do 96-jamkovej platne. Následne sme pozorovali ich proliferáciu počas 120 hodín. Najrýchlejšiu mieru rastu vykazovali kontrolné bunky A2780 (červená), nasledovali bunky klonu C (zelená), T (fialová) a V (modrá) (Graf 3 a 4).



**Graf 3:** Porovnanie proliferačnej aktivity bunkovej línie A2780 (červená) a klonov C (zelená), T (fialová) a V (modrá) využitím xCELLigence RTCA SP.



**Graf 4:** Porovnanie proliferačnej aktivity bunkových línií A2780 klonov C, T a V (z ľava do prava) využitím xCELLigence RTCA SP.

## Záver

Po transfekcii buniek A2780 expresným vektorom obsahujúcim EPOR sme pripravili 22 rôznych klonov s použitím protokolu limiting dilution a selekčného markera rezistencie na blastidín. Testovaním každého jednotlivého klonu pomocou analýzy Western blot a špecifickej anti EPOR protilátky A82 sme pozorovali výskyt troch rôznych vzorov expresie EPOR. Klony C a T vykazovali zmenenú celulárnu morfológiu pozorovanú už na úrovni svetelnej mikroskopie. Klon C bol charakterizovaný prítomnosťou dvoch 68 a 28 kDa izotypov EPOR, druhý obsahoval iba 68 kDa fragment EPOR (klon T) a tretí (klon V) kombináciu 68 a 50 kDa EPOR. Testy citlivosti klonov EPOR na platinové chemoterapeutiká ukázali, že klony T a V boli výraznejšie citlivejšie na oxaliplatinu, zatiaľ čo klon C vykazoval len mierne zvýšenú citlivosť. Expozícia karboplatine navodila mierne zvýšenie bunkovej smrti u klonov C a T. Dúfame, že transkriptomická analýza klonov EPOR čoskoro odhalí významné rozdiely v celkovej expresii génov v bunkách A2780 nadmerne exprimovaných EPOR v porovnaní s kontrolou a navrhne najpravdepodobnejšie mechanizmy vysvetľujúce zmenené vlastnosti klonov. Transfekciou bunkovej línie ľudského ovariálneho adenokarcinómu A2780 ľudským génom sme demonštrovali zmenené vlastnosti výsledných klonov v dôsledku nadmernej expresie EPOR. Zmenená rezistencia klonov A2780-EPOR na platinovú chemoterapiu, ako aj výrazne zmenená morfológia takýchto buniek korelovali so špecifickým vzorom izotypov proteínu EPOR.

## Literatúra

Solár, P. et al. 2008. Erythropoietin inhibits apoptosis induced by photodynamic therapy in ovarian cancer cells. *Molecular cancer therapeutics* 7(8), pp. 2263–2271. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18687658/> [Accessed: 28 November 2023].

Tóthová, Z. et al. 2023a. Differentially Expressed Genes Induced by Erythropoietin Receptor Overexpression in Rat Mammary Adenocarcinoma RAMA 37-28 Cells. *International journal of*

*molecular sciences* 24(10). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37239828/> [Accessed: 28 November 2023].

Tóthová, Z. et al. 2023b. Differentially Expressed Genes Induced by Erythropoietin Receptor Overexpression in Rat Mammary Adenocarcinoma RAMA 37-28 Cells. *International journal of molecular sciences* 24(10). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37239828/> [Accessed: 27 November 2023].

Watowich, S.S. 2011. The erythropoietin receptor: molecular structure and hematopoietic signaling pathways. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research* 59(7), pp. 1067–1072. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21307776/> [Accessed: 27 November 2023].

Zsóková, E., Ilkovičová, L., Kimáková, P., Fecková, B. and Solár, P. 2019. Erythropoietin receptor induces a paclitaxel resistance phenotype in mammary adenocarcinoma cells. *Oncology reports* 42(3), pp. 1149–1160. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31322257/> [Accessed: 28 November 2023].

# SCIENTOMETRICKÉ INDEXY: NEADITÍVNY PRÍSTUP

## SCIENTOMETRIC INDICES: A NON-ADDITIVE APPROACH

Barbora Hennelová

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

**Abstrakt:** Hirschov index, ako populárny scientometrický ukazovateľ, bol zavedený na evaluáciu vedeckých výstupov prominentných fyzikov. Od svojho zavedenia v roku 2005 začal byť postupne dominantný na poli scientometrie až do dnešných čias, keď sa aplikuje v takmer všetkých akademických oblastiach. Relatívne rýchlo si matematici uvedomili, že Hirschov index je špeciálny prípad Sugenovho integrálu vzhľadom na počítaciu mieru. Tento pohľad nám umožňuje využívať techniky neaditívnych mier a integrálov v snahe kompenzovať niektoré nedostatky Hirschovho indexu. V práci sa zaoberáme niekoľkými zovšeobecneniami Hirschovho indexu prostredníctvom adaptívneho kognitívneho integrálu a jeho modifikácie po vzore vlastnosti Hirschovho indexu a jeho reprezentácie pomocou Sugenovho integrálu. Ukážeme súvis týchto indexov s existujúcimi indexmi z literatúry.

**Kľúčové slová:** Sugenov integrál, Hirschov index, kognícia, adaptívny kognitívny index

**Abstract:** Hirsch index, as a popular scientometric data, was introduced to evaluate the scientific outputs of prominent physicists. Since its introduction in 2005, this index has become dominant in the field of scientometry and it has been applied over almost all academic areas. Mathematicians quickly realized that the Hirsch index is the special case of the Sugeno integral with respect to the counting measure. This conclusion allows us to use techniques of non-additive measures and integrals to compensate some drawbacks of the Hirsch index. In this thesis, we deal with several generalizations of the Hirsch index through the adaptive cognitive integral and its modification. We describe the connection between these indices and existing indices from the literature.

**Keywords:** Sugeno integral, Hirsch index, cognition, adaptive cognitive index

### 1 Úvod

Nech  $S$  je množina všetkých vektorov  $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n)$ , kde  $n \in \mathbb{N}$ , pričom  $x_1 \geq x_2 \geq \dots \geq x_n$  a pre všetky  $i \in [n] := \{1, \dots, n\}$  je  $x_i \in \mathbb{N}_0 := \mathbb{N} \cup \{0\}$ . V tomto príspevku budeme vektor  $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n) \in S$  interpretovať ako scientometrický výstup autora, ktorý pozostáva z  $n$  článkov usporiadaných podľa počtu citácií zostupne, pričom číslo  $x_i$  určuje počet citácií  $i$ -tého článku.

**Definícia 1.1** Vedeckým impaktovým indexom (ďalej skrátene len *indexom*) budeme rozumieť ľubovoľné zobrazenie  $\text{ind} : S \rightarrow \mathbb{N}_0$  také, že

$$(i) \text{ind}(\mathbf{0}) = 0;$$

$$(ii) \text{ind}(\mathbf{x}) \leq \text{ind}(\mathbf{y}) \text{ pre každé } \mathbf{x} \preceq \mathbf{y}, \text{ t.j. } x_i \leq y_i \text{ pre každé } i \in [n].$$

Definícia zohľadňuje fakt, že ak nejaký výskum negeneruje ohlas, nemá žiaden vplyv na index autora, podobne aj autor bez publikácií má nulový index. Ak ohlasy vedeckého výstupu autora  $B$  dominujú nad ohlasmí vedeckého výstupu autora  $A$  publikáciu za publikáciou, tak  $B$  má zrejme väčší vedecký vplyv ako  $A$ . Z podmienky monotónnosti (ii) tiež vyplýva, že vedecký vplyv autora nemôže v čase klesať.

Keď roku 2005 americký teoretický fyzik argentínskeho pôvodu Jorge E. Hirsch zaviedol  $h$ -index, nový ukazovateľ na kvantifikáciu výsledkov výskumu vedcov, nikto ani netušil, aký dopad bude mať v ďalších rokoch na celú vedeckú komunitu. Dnes sa Hirschov index nepoužíva už len ako miera vedeckého úspechu pre jednotlivých výskumníkov, ale aj na meranie vedeckej produkcie výskumných skupín, vedeckých inštitúcií a dokonca aj krajín.

**Definícia 1.2** Funkciu  $\mathfrak{h}: S \rightarrow \mathbb{N}_0$  definovanú predpisom

$$\mathfrak{h}(\mathbf{x}) = \bigvee_{i=1}^n (x_i \wedge i) = \max\{\min\{x_1, 1\}, \dots, \min\{x_n, n\}\},$$

kde  $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n) \in S$ , nazývame *Hirschov index*, skrátene tiež  $\mathfrak{h}$ -index.

Onedlho po zavedení Hirschovho indexu si v roku 2008 V. Torra a Y. Narukawa uvedomili jednoduchú vec, že  $\mathfrak{h}$ -index je špeciálnym prípadom Sugenovho integrálu, čo poskytuje ďalší pohľad na jeho vlastnosti a vylepšovanie. Keďže pracujeme s počtami (publikácií a citácií), stačí sa nám obmedziť na základnú množinu  $\mathbb{N}$  a uvažovať množinové funkcie definované na  $2^{\mathbb{N}}$ . Budeme tiež používať označenie  $\mathbb{R}_+ := [0, +\infty[$  pre nezápornú reálnu polpriamku.

**Definícia 1.3** Množinová funkcia  $\mu: 2^{\mathbb{N}} \rightarrow \mathbb{R}_+$  sa nazýva *fuzzy miera*, ak

- (i)  $\mu(\emptyset) = 0$ ;
- (ii)  $\mu(A) \leq \mu(B)$  pre každé  $A, B \in 2^{\mathbb{N}}$  také, že  $A \subseteq B$ .

V literatúre sa takáto množinová funkcia označuje aj monotónna miera. Množinu fuzzy mier na  $\mathbb{N}$  budeme označovať  $\mathbf{M}_{\mathbb{N}}$ . Aditívne miery, t.j.  $\mu(A \cup B) = \mu(A) + \mu(B)$  pre všetky  $A, B \in 2^{\mathbb{N}}$  s  $A \cap B = \emptyset$ , sú špeciálnym prípadom fuzzy mier. Pre naše účely bude dôležitá nasledujúca fuzzy miera  $\mu_{\#} \in \mathbf{M}_{\mathbb{N}}$  definovaná predpisom  $\mu_{\#}(A) = \text{card}(A)$ , ktorú budeme volať *počítacia miera*. Diskrétny Sugenov integrál vektora má nasledujúce ekvivalentné reprezentácie:

$$\mathbf{Su}(\mathbf{x}, \mu) = \bigvee_{i=1}^n (x_i \wedge \mu(A_i)) = \bigvee_{A \subseteq \mathbb{N}} \left( \mu(A) \wedge \left( \bigwedge_{n \in A} x_n \right) \right),$$

kde  $A_k = [k]$  pre  $k \in \mathbb{N}$ . Torrov a Narukawov výsledok o vyjadrení  $\mathfrak{h}$ -indexu pomocou Sugenovho integrálu je potom nasledujúci.

**Veta 1.4** Pre každé  $\mathbf{x} \in S$  platí  $\mathfrak{h}(\mathbf{x}) = \mathbf{Su}(\mathbf{x}, \mu_{\#})$ .

Teraz sa pozrieme na jednu zaujímavú reprezentáciu Hirschovho indexu pomocou Sugenovho integrálu, kde namiesto integrovania pôvodného vektora  $\mathbf{x} \in S$  vzhľadom na počítaciu mieru berieme identitu  $\text{id}: \mathbb{N} \rightarrow \mathbb{N}$  integrovanú vzhľadom na aditívnu mieru  $\mu_{\mathbf{x}}: 2^{\mathbb{N}} \rightarrow \mathbb{N}_0$  generovanú vektorom  $\mathbf{x}$ , ktorá je daná hodnotami  $\mu_{\mathbf{x}}(\{i\}) = x_i - x_{i+1}$  pre každé  $i \in \mathbb{N}$  za konvencie  $x_{n+1} = x_{n+2} = \dots = 0$ .

**Veta 1.5** Pre každé  $\mathbf{x} \in S$  platí  $\mathfrak{h}(\mathbf{x}) = \mathbf{Su}(\text{id}, \mu_{\mathbf{x}})$ .

## 2 Adaptívne kognitívne indexy

Na rozdiel od Lebesgueovho integrálu či Choquetovho integrálu, ktoré sú založené na metóde „vertikálneho sčítavania“, Sugenov a Shilkretov integrál sú založené na metóde integrovania pomocou tzv. kognícií. Kognície si vieme vysvetliť na jednoduchom príklade určovania objemu nepravidelného útvaru. Keďže objem nepravidelného útvaru nevieme exaktne vypočítať, vhodnou metódou aproximácie objemu tohto telesa je jeho náhrada objektom, ktorého objem poznáme. Najjednoduchším príkladom je aproximácia nepravidelného útvaru kvádom. Ten mu môže byť opísaný, vpísaný alebo taktiež ho môže i pretínať. Každú novú aproximáciu nepravidelného útvaru nazveme kogníciou. Kognície sa líšia svojou striktnosťou. Najstriktnějšía kognícia je taká, ktorá predstavuje vpísaný kváder, naopak najmenej striktná kognícia predstavuje kváder opísaný. Medzi týmito dvomi okrajovými kogníciami existujú ďalšie kognície, pričom kvádre s väčším objemom budeme považovať za menej striktné.

Na základe týchto úvah bol v článku L. Jina a R. Mesiara definovaný adaptívny kognitívny integrál. Pre vektor  $\mathbf{x} \in S$  a  $\alpha \geq 0$  najprv definujeme funkciu  $g_{\alpha, \mathbf{x}} : [0, x_1] \rightarrow [n]$  predpisom

$$g_{\alpha, \mathbf{x}}(t) = \begin{cases} \max \{i \in [n] : \frac{x_i}{t} \geq \alpha\}, & t \neq 0, \\ n, & t = 0. \end{cases}$$

**Definícia 2.1** Nech  $\alpha \geq 0$  je kognitívna sila a  $\text{Agg} : \mathbb{R}_+^2 \rightarrow \mathbb{R}_+$  je binárna agregáčna funkcia<sup>1</sup>. *Adaptívny kognitívny integrál* vektora  $\mathbf{x} \in S$  vzhľadom na fuzzy mieru  $\mu \in \mathbf{M}_{\mathbb{N}}$  je definovaný predpisom

$$\text{Cog}(\mu, \mathbf{x}, \alpha, \text{Agg}) = \bigvee_{t=0}^{x_1} \text{Agg}(t, \mu(\{1, \dots, g_{\alpha, \mathbf{x}}(t)\})).$$

Uvedená definícia je zovšeobecnením pôvodnej definície, v ktorej autori uvažovali kognitívnu silu  $\alpha$  z jednotkového intervalu a binárnu agregáčnu funkciu  $\text{Agg}$  semikopulu. Táto naša modifikácia je vynútená situáciou, v ktorej chceme tento integrál použiť.

## 2.1 Adaptívny kognitívny index

Na začiatok budeme uvažovať počítaciu mieru  $\mu_{\#}$  a binárnu agregáčnu funkciu minimum  $\text{Agg} = \wedge$ . Adaptívny  $\mathfrak{h}$ -index definujeme pomocou adaptívneho kognitívneho integrálu analogicky ako  $\mathfrak{h}$ -index pomocou Sugenovho integrálu.

**Definícia 2.2** *Adaptívny kognitívny index* (vzhľadom na operáciu  $\wedge$ ) je zobrazenie  $\mathfrak{a}_{\wedge} : S \times \mathbb{R}_+ \rightarrow \mathbb{N}_0$  definované predpisom

$$\mathfrak{a}_{\wedge}(\mathbf{x}, \alpha) := \text{Cog}(\mu_{\#}, \mathbf{x}, \alpha, \wedge) = \bigvee_{i=1}^{x_1} \left( i \wedge \max \left\{ k \in [n] : \frac{x_k}{i} \geq \alpha \right\} \right).$$

**Príklad 2.3** Nech citačný záznam autora A je  $\mathbf{a} = (8, 6, 5, 4, 3)$  a citačný záznam autora B je  $\mathbf{b} = (5, 4, 4, 4, 1)$ . Zrejme sú Hirschove indexy autorov A a B rovnaké  $\mathfrak{h}(\mathbf{a}) = \mathfrak{h}(\mathbf{b}) = 4$ . Výstup autora A je o niečo lepší, čo však Hirschov index nedokáže rozlíšiť. Skúsme teda spočítať adaptívne kognitívne indexy pre autorov A a B s kognitívnu silou  $\alpha = 0,5$ . Potom

$$\begin{aligned} \mathfrak{a}_{\wedge}(\mathbf{a}, 0,5) &= \bigvee_{i=1}^8 \left( i \wedge \max \left\{ k \in [n] : \frac{x_k}{i} \geq 0,5 \right\} \right) \\ &= \max\{(1 \wedge 5), (2 \wedge 5), (3 \wedge 5), (4 \wedge 5), (5 \wedge 5), (6 \wedge 5), (7 \wedge 4), (8 \wedge 4)\} = 5, \\ \mathfrak{a}_{\wedge}(\mathbf{b}, 0,5) &= \bigvee_{i=1}^5 \left( i \wedge \max \left\{ k \in [n] : \frac{x_k}{i} \geq 0,5 \right\} \right) \\ &= \max\{(1 \wedge 5), (2 \wedge 5), (3 \wedge 4), (4 \wedge 4), (5 \wedge 4)\} = 4. \end{aligned}$$

Na Obr. 1 sú uvedené hodnoty kognitívnych indexov pre výstupy autorov A a B vzhľadom na kognitívnu silu  $\alpha \geq 0$ , ako aj ich zobrazenie na obrázku vpravo. Ľahko sa overí, že  $\mathfrak{a}_{\wedge}$  je vedeckým impaktovým indexom v zmysle Definície 1.1. Súvis adaptívneho kognitívneho indexu s  $\mathfrak{h}$ -indexom a  $\mathfrak{m}_{\#}$ -indexom (počet citácií najcitovanejšieho článku) dáva nasledujúce tvrdenie.

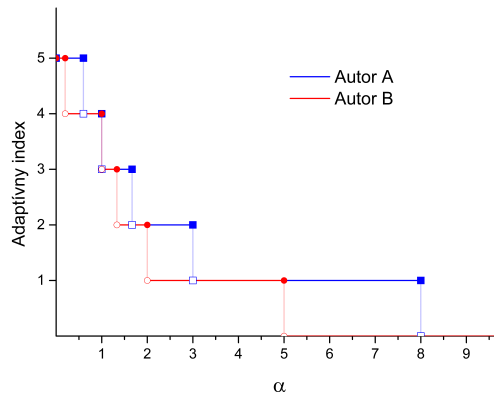
**Veta 2.4** *Nech  $\mathbf{x} \in S$ . Potom*

- (i)  $\mathfrak{a}_{\wedge}(\mathbf{x}, 1) = \mathfrak{h}(\mathbf{x})$ ;
- (ii)  $\mathfrak{a}_{\wedge}(\mathbf{x}, 0) = \min(x_1, n)$ ;
- (iii)  $\lim_{\alpha \rightarrow \infty} \mathfrak{a}_{\wedge}(\mathbf{x}, \alpha) = 0$ .

<sup>1</sup>Zobrazenie  $\text{Agg} : \mathbb{R}_+^2 \rightarrow \mathbb{R}_+$  sa nazýva agregáčna funkcia, ak  $\text{Agg}((0, \dots, 0)) = 0$  a  $\text{Agg}(\mathbf{x}) \leq \text{Agg}(\mathbf{y})$  pre  $x_j \leq y_j$  pre každé  $j \in [n]$ .



$\alpha$	$a_\wedge(\mathbf{a}, \alpha)$	$a_\wedge(\mathbf{b}, \alpha)$
$[0, \frac{1}{5}]$	5	5
$(\frac{1}{5}, \frac{2}{5}]$	5	4
$(\frac{2}{5}, 1]$	4	4
$(1, \frac{4}{3}]$	4	3
$(\frac{4}{3}, \frac{5}{3}]$	3	2
$(\frac{5}{3}, 2]$	2	2
$(2, 3]$	2	1
$(3, 5]$	1	1
$(5, 8]$	1	0
$(8, \infty]$	0	0



**Obr. 1:** Hodnoty adaptívnych kognitívnych indexov pre vektory  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  vzhľadom na kognitívnu silu  $\alpha$ .

Nasledujúce tvrdenie uvádza do súvisu hodnoty adaptívneho kognitívneho indexu vzhľadom na porovnanie kognitívnej sily.

**Veta 2.5** *Nech  $\mathbf{x} \in S$ . Pre kognitívne sily  $\alpha < \beta$  platí  $a_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) \geq a_\wedge(\mathbf{x}, \beta)$ .*

Na základe uvedeného kognitívna sila  $\alpha$  pripúšťa reprezentáciu vyjadrujúcu istú citačnú výdatnosť v závislosti od odboru. Napríklad, pre experimentálne vedy (napr. fyzika) je vhodné zvoliť väčšiu kognitívnu silu, pričom výsledná hodnota bude bližšie k hodnote  $h$ -indexu. Naopak, pre teoretické vedy (napr. matematika) môžeme zvoliť kognitívnu silu menšiu, pretože v týchto teoretických vedách sa cituje menej aj v dôsledku menšieho počtu vedcov pracujúcich v daných oblastiach.

**Veta 2.6** *Nech  $\alpha > 0$ . Potom pre všetky  $\mathbf{x} \in S$  platí*

$$a_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) = \max \left\{ i \in [n] : \frac{x_i}{i} \geq \alpha \right\} = \bigvee_{i=1}^n \left[ \left( i \wedge \frac{x_i}{\alpha} \right) \right],$$

kde  $\lfloor \cdot \rfloor$  je dolná celá časť reálneho čísla.

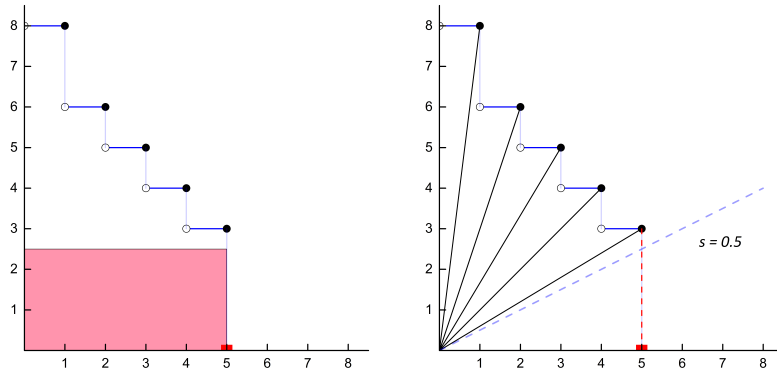
Toto tvrdenie dáva do súvisu adaptívny kognitívny index s tzv.  $\mathfrak{H}_\alpha$ -indexom. Na základe toho vieme povedať, že vedec má index  $a_\wedge(\cdot, \alpha) = j$ , ak každá z jeho  $j$  publikácií má aspoň  $\alpha j$  citácií, ale neexistuje  $j + 1$  publikácií, ktoré by mali aspoň  $\alpha(j + 1)$  citácií. Lahko tiež môžeme vidieť, že pre každé  $\alpha \in [0, 1]$  je  $a_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) \in \{k, \dots, n\}$  pre  $\mathbf{x} \in S$  a  $h(\mathbf{x}) = k$ .

Nech  $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n)$  a  $\mathbf{x}^* = (x_1 \wedge n, \dots, x_n \wedge n)$ . Potom zrejme platí  $h(\mathbf{x}) = h(\mathbf{x}^*)$ . Z  $\wedge$ -homogenity Sugenovho integrálu platí  $h(\mathbf{x}^*) = n \wedge h(\mathbf{x}) = h(\mathbf{x})$ , pretože  $h(\mathbf{x}) \leq n$  (keďže Hirschov index počíta počet publikácií autora s istou vlastnosťou, a teda ich nemôže byť viac ako celkový počet publikácií autora). Na základe tejto úvahy teraz uvedieme reprezentáciu adaptívneho kognitívneho indexu pomocou  $h$ -indexu.

**Veta 2.7** *Nech  $\alpha \geq 0$ . Potom pre každé  $\mathbf{x} \in S$  platí  $a_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) = h(\mathbf{x}_\alpha)$ , kde  $\mathbf{x}_\alpha = (\langle x_1 \rangle_{\alpha, n}, \dots, \langle x_n \rangle_{\alpha, n})$  je vektor, ktorého zložky sú definované nasledovne*

$$\langle x_i \rangle_{\alpha, n} = \begin{cases} \lfloor \frac{x_i}{\alpha} \rfloor \wedge n, & \alpha \neq 0, \\ x_i \wedge n, & \alpha = 0. \end{cases}$$

**Príklad 2.8** Nech citačný záznam autora je  $\mathbf{x} = (8, 6, 5, 4, 3)$ . Potom  $\mathbf{x}_{0,5} = (5, 5, 5, 5, 5)$  a odtiaľ  $a_\wedge(\mathbf{x}, 0,5) = h(\mathbf{x}_{0,5}) = 5$ .



Obr. 2: Ilustrácia adaptívneho kognitívneho indexu z Vety 2.6 pre  $\mathbf{a}_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) = 5$ .

Aby sme popísali geometrické interpretácie  $\mathbf{a}_\wedge$ -indexu, označme  $s_i = \frac{x_i}{i}$ . Potom z Vety 2.6 máme

$$\mathbf{a}_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) = \max \{i \in [n] : s_i \geq \alpha\}, \quad (1)$$

a teda  $\mathbf{a}_\wedge$ -index má dve možné geometrické interpretácie, pozri Obr. 2:

- (i) Vedec má index s hodnotou  $\mathbf{a}_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) = k \in \mathbb{N}_0$ , ak  $]0, k] \times [0, \alpha \cdot k]$  je najväčší obdĺžnik typu  $]0, j] \times [0, \alpha \cdot j]$  s  $j \in \{0, 1, \dots, n\}$ , ktorý sa dá vpísať pod graf funkcie  $f_x: ]0, n] \rightarrow \{x_1, \dots, x_n\}$  danej predpisom  $f_x(t) = x_i$  pre  $t \in ]i-1, i]$ , kde  $i \in [n]$ .
- (ii) Podľa formuly (1) hodnota  $\mathbf{a}_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) = k$  znamená, že  $s_k = \frac{x_k}{k} \geq \alpha$ , t.j. berieme do úvahy smernice úsečiek spájajúce body  $O = (0, 0)$  a  $I_k = (k, x_k)$ , ktoré sa nachádzajú vo výreze určenom  $y$ -ovou osou a smernicou  $s = \alpha$ , pričom  $s_{k+1} < \alpha$  (alebo  $k = n$ ).

**Poznámka 2.9** Doteraz sme v definícii adaptívneho kognitívneho integrálu uvažovali minimum ako binárnu agregačnú funkciu Agg. Jej nahradením inou agregačnou funkciou môžeme vytvoriť ďalšie evaluačné funkcie, ktoré by mali flexibilnejšie použitie. Ak napr. vezmeme súčin Agg =  $\cdot$ , získame zovšeobecnenie ďalšieho známeho indexu, a to  $\mathbf{a}_{\text{apropod}}$ -indexu, ktorý navrhol Kosmulski. Toto zovšeobecnenie má tvar

$$\mathbf{a}(\mathbf{x}, \alpha) = \bigvee_{i=1}^{x_1} \left( i \cdot \max \left\{ k \in [n] : \frac{x_k}{i} \geq \alpha \right\} \right).$$

Pre  $\alpha = 1$  dostaneme pôvodný  $\mathbf{a}_{\text{apropod}}$ -index.

## 2.2 Modifikovaný adaptívny kognitívny index

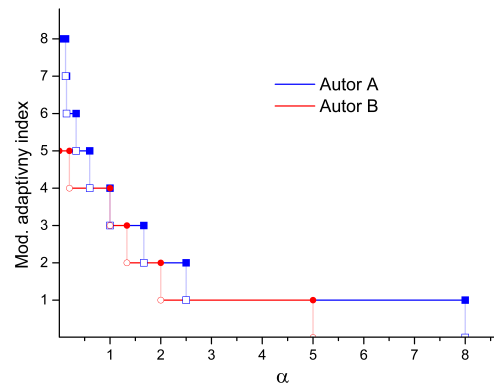
Na rozdiel od adaptívneho kognitívneho indexu, v prípade modifikovaného adaptívneho indexu nebudeme integrovať pôvodný vektor  $\mathbf{x} \in S$  vzhľadom na počítaciu mieru, ale uvažujeme identitu  $\text{id}: \mathbb{N} \rightarrow \mathbb{N}$  a aditívnu mieru  $\mu_x: 2^{\mathbb{N}} \rightarrow \mathbb{N}_0$  generovanú vektorom  $\mathbf{x}$  s predpisom  $\mu_x(\{i\}) = x_i - x_{i+1}$  pre každé  $i \in \mathbb{N}$  za konvencie  $x_{n+1} = x_{n+2} = \dots = 0$ . Istú motiváciu nám poskytla Veta 1.5. Budeme skúmať vlastnosti tohto vzniknutého indexu, ktorý sme navrhli za účelom kompenzácie nižšieho počtu autorových článkov.

**Definícia 2.10** Modifikovaný adaptívny kognitívny index (vzhľadom na operáciu  $\wedge$ ) je zobrazenie  $\mathbf{a}_\wedge^m: S \times \mathbb{R}_+ \rightarrow \mathbb{N}_0$  definované predpisom

$$\mathbf{a}_\wedge^m(\mathbf{x}, \alpha) := \bigvee_{i=1}^{x_1} \left[ i \wedge \mu_x \left( \left\{ \min \left\{ k \in [n] : \frac{\text{id}(k)}{i} \geq \alpha \right\}, \dots, n \right\} \right) \right].$$

Uvedený modifikovaný adaptívny kognitívny index môžeme skutočne nazývať indexom, pretože vyhovuje podmienkam Definície 1.1. Tabuľka na Obr. 3 uvádza hodnoty modifikovaných adaptívnych kognitívnych indexov pre výstupy autorov A a B vzhľadom na kognitívnu silu  $\alpha \geq 0$ .

$\alpha$	$\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{a}, \alpha)$	$\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{b}, \alpha)$
$[0, \frac{1}{8}]$	8	5
$[\frac{1}{8}, \frac{1}{7}]$	7	5
$[\frac{1}{7}, \frac{1}{6}]$	6	5
$[\frac{1}{6}, \frac{1}{5}]$	6	4
$[\frac{1}{5}, \frac{3}{5}]$	5	4
$[\frac{3}{5}, 1]$	4	4
$[1, \frac{4}{3}]$	3	3
$[\frac{4}{3}, \frac{5}{3}]$	3	2
$[\frac{5}{3}, 2]$	2	2
$[2, \frac{5}{2}]$	2	1
$[\frac{5}{2}, 5]$	1	1
$[5, 8]$	1	0
$]8, +\infty]$	0	0



**Obr. 3:** Hodnoty modifikovaných adaptívnych kognitívnych indexov pre vektory  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  vzhľadom na kognitívnu silu  $\alpha$ .

**Veta 2.11** *Nech  $\mathbf{x} \in S$ . Potom*

- (i)  $\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, 1) = \mathfrak{h}(\mathbf{x})$ ;
- (ii)  $\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, 0) = x_1$ ;
- (iii)  $\lim_{\alpha \rightarrow \infty} \mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, \alpha) = 0$ .

Nasledujúce tvrdenie uvádza do súvisu hodnoty modifikovaného adaptívneho kognitívneho indexu vzhľadom na porovnanie kognitívnej sily.

**Veta 2.12** *Nech  $\mathbf{x} \in S$ . Pre kognitívne sily  $\alpha < \beta$  platí  $\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, \alpha) \geq \mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, \beta)$ .*

**Veta 2.13** *Nech  $\alpha \geq 0$ . Potom pre všetky  $\mathbf{x} \in S$  platí*

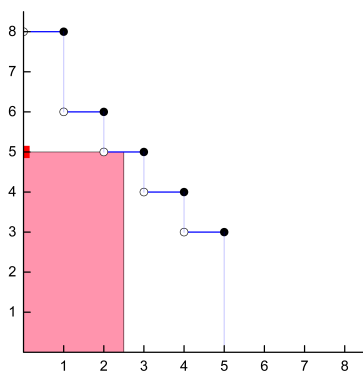
$$\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, \alpha) = \bigvee_{i=1}^{x_1} (i \wedge x_{\lceil \alpha \cdot i \rceil}) = \max \left\{ i \in \left[ \left\lfloor \frac{n}{\alpha} \right\rfloor \right] : x_{\lceil \alpha \cdot i \rceil} \geq i \right\}.$$

Na základe uvedeného môžeme modifikovaný adaptívny kognitívny index interpretovať nasledovne: vedec má index  $\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, \alpha) = j$ , ak má aspoň  $\lfloor \alpha \cdot j \rfloor \vee 1$  publikácií, pričom každá z nich má aspoň  $j$  citácií, ale neexistuje  $\lfloor \alpha \cdot (j + 1) \rfloor \vee 1$  publikácií, ktoré by mali aspoň  $j + 1$  citácií. Geometricky, vedec má modifikovaný adaptívny kognitívny index  $\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, \alpha) = k \in \mathbb{N}_0$ , ak obdĺžnik  $]0, \alpha \cdot k] \times [0, k]$  je obsiahnutý v endografe funkcie  $f_{\mathbf{x}}$ , ale už to neplatí pre obdĺžnik  $]0, \alpha \cdot (k + 1)] \times [0, (k + 1)]$ , pozri Obr. 4.

**Veta 2.14** *Nech  $\alpha > 0$ . Potom pre každé  $\mathbf{x} \in S$  platí  $\mathfrak{a}_\lambda^m(\mathbf{x}, \alpha) = \mathfrak{h}(\mathbf{x}^\alpha)$ , kde  $\mathbf{x}^\alpha$  je vektor, ktorého zložky sú definované nasledovne  $x_{i,\alpha} = f_\alpha(i)$ , kde  $f_\alpha : ]0, \frac{n}{\alpha}] \rightarrow \{x_1, \dots, x_n\}$  je funkcia daná predpisom*

$$f_\alpha(t) = x_i, \quad t \in \left] \frac{i-1}{\alpha}, \frac{i}{\alpha} \right], \quad i \in [n].$$

Inými slovami, pre  $n$ -zložkový scientometrický výstup  $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n)$  je jeho modifikovaný adaptívny kognitívny index  $\mathfrak{h}$ -indexom z  $x_1$ -zložkového vektora  $\mathbf{x}^\alpha = (x_1, \dots, x_1, x_2, \dots, x_2, \dots)$ , pričom počet opakovaní  $x_i$ -tej zložky pôvodného vektora v rámci modifikovaného vektora  $\mathbf{x}^\alpha$  je daný vzťahom  $\lfloor \frac{i}{\alpha} \rfloor - \lfloor \frac{i-1}{\alpha} \rfloor$ .



Obr. 4: Geometrická interpretácia Vety 2.13 pre  $\alpha_\wedge^m(\mathbf{x}, \alpha) = 5$ .

**Príklad 2.15** Nech citačný záznam autora je  $\mathbf{x} = (8, 6, 5, 4, 3)$ , potom  $\mathbf{x}^{0,5} = (8, 8, 6, 6, 5, 5, 4, 4)$  a odtiaľ podľa Vety 2.14 je  $\alpha_\wedge^m(\mathbf{x}, 0,5) = \mathfrak{h}(\mathbf{x}^{0,5}) = 5$ .

**Poznámka 2.16** Aj v prípade modifikovaného adaptívneho kognitívneho indexu nahradením minima inou agregačnou funkciou Agg môžeme vytvoriť ďalšie evaluačné funkcie. Ako príklad vezmeme opäť súčin  $\text{Agg} = \cdot$ , potom

$$\alpha_\wedge^m(\mathbf{x}, \alpha) = \bigvee_{i=1}^{x_1} \left[ i \cdot \mu_{\mathbf{x}} \left( \left\{ \min \left\{ k \in [n] : \frac{\text{id}(k)}{i} \geq \alpha \right\}, \dots, n \right\} \right) \right].$$

Špeciálne pre  $\alpha = 1$  dostaneme taktiež  $\text{maxprod}$ -index, pozri Poznámku 2.9.

### 2.3 Vzťah medzi definovanými indexmi

V literatúre sa stretujeme s niekoľkými axiomatickými prístupmi k zavedeniu scientometrických indexov, resp. ich charakterizácií pomocou najmenšieho systému elementárnych vlastností. Jednou zo zaujímavých axióm je axióma, ktorú formuloval Woeginger. Ten si pri študovaní  $\mathfrak{h}$ -indexu všimol istú symetriu. Pre  $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n) \in S$  uvažujme zrkadlený vektor  $R(\mathbf{x}) = (x'_1, \dots, x'_n)$ , kde  $x'_l = \mu_{\#}(\{k \in [n] : x_k \geq l\})$ . Napríklad pre  $\mathbf{x} = (8, 6, 5, 4, 3)$  je  $R(\mathbf{x}) = (5, 5, 5, 4, 3, 2, 1, 1)$ . Iný pohľad na túto situáciu dáva teória čísel, v reči ktorej  $\mathbf{x}$  tvorí partíciu čísla  $\sum_{k=1}^n x_k$  a vektor  $R(\mathbf{x})$  tvorí jeho odpovedajúcu konjugovanú partíciu. Geometricky to znamená, že publikačná krivka odpovedajúca vektoru  $R(\mathbf{x})$  je zrkadlením publikačnej krivky odpovedajúcej vektoru  $\mathbf{x}$  cez osovú súmernosť s osou prvého kvadrantu. Pre vektor  $\mathbf{x}$ , ktorý nemá žiadnu nulovú zložku, platí  $R(R(\mathbf{x})) = \mathbf{x}$ .

Spomínané pozorovanie o symetrii pre  $\mathfrak{h}$ -index formuluje nasledujúca axióma pre všeobecný scientometrický index  $\text{ind} : S \rightarrow \mathbb{N}_0$ .

**S** Pre každé  $\mathbf{x} \in S$  platí  $\text{ind}(\mathbf{x}) = \text{ind}(R(\mathbf{x}))$ .

Axióma **S** zahŕňa invariantnosť zámene počtu publikácií a počtu citácií. Niektorí autori sa dokonca domnievajú, že na psychologickú úroveň by mohla byť axióma **S** dôvodom obrovského úspechu  $\mathfrak{h}$ -indexu. Keďže  $\mathfrak{h}$ -index vyhovuje tejto axióme, pozreli sme sa na túto axiómu v kontexte adaptívneho kognitívneho indexu a dospeli sme k zaujímavému pozorovaniu: Ak  $\mathbf{x} \in S$  a  $\alpha \geq 0$ , tak

$$\begin{aligned} \alpha_\wedge(\mathbf{x}, \alpha) &= \alpha_\wedge^m(R(\mathbf{x}), \alpha), \\ \alpha_\wedge(R(\mathbf{x}), \alpha) &= \alpha_\wedge^m(\mathbf{x}, \alpha). \end{aligned}$$

## Záver

V tomto príspevku sme sa venovali zovšeobecneniu Hirshovho indexu pomocou adaptívneho kognitívneho integrálu, kde sme na rozdiel od pôvodnej definície kognitívnu silu  $\alpha$  uvažovali z intervalu  $[0, +\infty]$ . Vychádzajúc z tejto definície sme zaviedli dva indexy, a to adaptívny kognitívny index a modifikovaný adaptívny kognitívny index. Pre tieto indexy sme ukázali základné vlastnosti a uviedli sme ich nové reprezentácie, pričom sa objavila spojitosť s už známymi indexmi z literatúry. Pre tieto indexy sme navrhli i zjednodušené výpočty pomocou  $h$ -indexu z modifikovaných vektorov a poukázali na ich vzťah pomocou zrkadleného vektora.

## Pod'akovanie

Príspevok vznikol za podpory Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-21-0468 a grantu VEGA 1/0657/22.

## Literatúra

HALAŠ, R., MESIAR, R., PÓCS, J., 2016, A new characterization of the discrete Sugeno integral. Inform Fusion 29, 84--86.

HIRSCH, J. E., 2005, An index to quantify an individual's scientific research output. PNAS USA 102, 16569--16572.

JIN, L., MESIAR, R., 2018, Cognitive integrals with its generalized and adapted forms. IEEE Trans. Fuzzy Syst. 26(4), 1960--1969.

JIN, L., MESIAR, R., STUPŇANOVÁ, A., 2020, Sugeno integrals,  $H_\alpha$  and  $H_\beta$  indices: how to compare scientists from different academic areas. IEEE Trans. Fuzzy Syst. 28(4), 795--800.

KOSMULSKI, M., 2007, MAXPROD - a new index for assessment of the scientific output of an individual, and a comparison with the h-index. Cybermetrics 11(1), 5.

TORRA, V., NARUKAWA, Y., 2008, The h-index and the number of citations: Two fuzzy integrals. IEEE Trans. Fuzzy Syst. 16(3), 795--797.

WÖEGINGER, G. J., 2008, A symmetry axiom for scientific impact indices. J. Informetr. 2, 298--303.

# O ŠTRUKTÚRE TROJZVUKOV

## ON THE STRUCTURE OF THE SPACE OF TRIADS

Kristína Hurajová

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

**Abstrakt:** Pri skúmaní štruktúry akordov v 12-tónovom rovnomerne temperovanom systéme  $E_{12}$  možno použiť niektoré techniky diskkrétnej matematiky, konkrétne teóriu grúp a polyedrálnu teóriu. Použitie dihedrálnej grupy rádu 24 je známe pri konštrukcii takzvanej T/I-grupy (s T – transláciou a I – inverziou) a PLR-grupy (s operáciami P – paralel, L – leading tone exchange a R – relative), ktoré pôsobia na durové a molové akordy v  $E_{12}$ . Tento prístup umožňuje vidieť techniky hudobnej kompozície na ciferníku hodín (so základnou štruktúrou  $\mathbb{Z}_{12}$ ). Zaujímavé výsledky získame pri skúmaní štruktúry priestoru trojzvukov  $C(n_1, n_2, n_3)$  (nie nevyhnutne durových a molových) vo všeobecnom  $N$ -tónovom rovnomerne temperovanom tónovom systéme  $E_N$  s počtom tónov  $N = n_1 + n_2 + n_3$  v rámci jednej oktávy. Tento priestor možno modelovať pomocou simplicialného komplexu. Výpočtom jeho Eulerovej charakteristiky môžeme opísať topologickú štruktúru priestoru  $C(n_1, n_2, n_3)$ . V dôsledku toho dostaneme, že štruktúra priestoru  $C(3, 4, 5)$  všetkých durových a molových trojzvukov v  $E_{12}$  je dobre známy *tórus*.

**Kľúčové slová:** Grupa, inverzia, transpozícia, akord, simplicialný komplex

**Abstract:** In investigating the structure of chords in the 12-tone equal tempered system  $E_{12}$ , some techniques of discrete mathematics can be used, namely the group theory and the polyhedral theory. The use of dihedral group of order 24 is known in the construction of the so-called T/I-group (with T – translation and I – inversion) and PLR-group (with operations P – paralel, L – leading tone exchange and R – relative) both acting on major and minor chords in  $E_{12}$ . This approach allows musical composition techniques to be seen on the musical clock (with the underlying structure of  $\mathbb{Z}_{12}$ ). Interesting results are obtained when studying the structure of the space of triads  $C(n_1, n_2, n_3)$  (not necessarily major and minor) in the general  $N$ -tone equal tempered tone system  $E_N$  with the number of tones  $N = n_1 + n_2 + n_3$  within one octave. This space can modeled by a simplicial complex. Computing its Euler characteristic we can describe the topological structure of the space  $C(n_1, n_2, n_3)$ . As a consequence we get that the structure of the space  $C(3, 4, 5)$  of all major and minor triads in  $E_{12}$  is a well known *torus*.

**Keywords:** Group, inversion, transposition, chord, simplicial complex

### 1 T/I-grupa a PLR-grupa

Na úvod uvedieme dve hudobné grupy, ktoré súvisia s melodickými a harmonickými postupmi bežne používanými v kompozíciách autorov od 15. storočia. Obe grupy súvisia s dihedrálnou grupou rádu 24 a majú pekné geometrické reprezentácie majúce zaujímavé hudobné interpretácie. Medzitým preskúmame priestor viaczvukov.

#### 1.1 Grupa transpozícií a inverzií

Prvá grupa, ktorá nás bude zaujímať, je grupa prvkov označovaných ako transpozície a inverzie jednotlivých tónov. Pracujeme s tónmi z množiny  $E_{12}$ . Operácie transpozície a inverzie sú v hudobnej teórii a praxi používané neustále. Pomocou predstavy výškových tried ako prvkov zvyškovej triedy  $\mathbb{Z}_{12}$  vieme inverziu a transpozíciu definovať nasledovne.

**Definícia 1.1** *Transpozíciou* (o hodnotu  $n \in \mathbb{Z}$ ) nazývame zobrazenie  $T_n: \mathbb{Z}_{12} \rightarrow \mathbb{Z}_{12}$  definované predpisom  $T_n(x) := x + n \pmod{12}$ .

Na ciferníku hodín si transpozíciu vieme predstaviť ako posun tónu vyššie alebo nižšie o určitý interval (v smere hodinových ručičiek vyššie, proti smeru hodinových ručičiek nižšie), pričom jedna transpozícia predstavuje geometricky posun o uhol  $\pi/6$ .

Druhou často používanou operáciou v hudobných kompozíciách je inverzia. Intuitívne, inverzia melódie je melódia v opačnom pohybe, ktorá zachováva intervalové vzdialenosti medzi jednotlivými tónmi melódie.

**Definícia 1.2** *Inverziu* (o hodnotu  $n \in \mathbb{Z}$ ) nazývame zobrazenie  $l_n: \mathbb{Z}_{12} \rightarrow \mathbb{Z}_{12}$  definované predpisom  $l_n(x) := -x + n \pmod{12}$ .

Na ciferníku hodín sa inverzia dá predstaviť pomocou preklápania cez os symetrie. Ak  $n$  je párne,  $l_n$  zodpovedá zrkadleniu cez priemer kružnice prechádzajúci bodom  $n/2$ . Ak  $n$  je nepárne,  $l_n$  zodpovedá zrkadleniu cez priemer kružnice prechádzajúci stredom medzi hodnotami  $\frac{n-1}{2}$  a  $\frac{n+1}{2}$ .

Hoci  $n \in \mathbb{Z}$ , navzájom rôznych operácií  $T_n$  a  $l_n$  je len konečne veľa, konkrétne 12 transpozícií a 12 inverzií. Toto pozorovanie je sformulované v nasledujúcom tvrdení.

**Tvrdenie 1.3** *Množina  $\mathfrak{S}_{T_1}$  všetkých transpozícií a inverzií s operáciou skladania je neabelovská grupa.*

## 1.2 Trochu o akordoch

Zatiaľ čo v melódii ide o hranie jedného tónu v jednom čase, harmonická stránka hudby umožňuje hranie viacerých tónov súčasne. Z tohto dôvodu potrebujeme byť schopní uvažovať viacrozmerné hudobné objekty, ktoré reprezentujú súčasné hranie viacerých tónov naraz. Tento viaczvuk sa v hudobnej terminológii nazýva akord, ktorého definíciu uvedieme vo všeobecnosti pre ľubovoľný tónový systém.

**Definícia 1.4** *Akord* dĺžky  $n$  je  $n$ -tica  $a = (x_1, x_2, \dots, x_n)$  indexov výšok tónov. *Akordická trieda* dĺžky  $n$  je  $n$ -tica  $\alpha = ([\alpha_1], [\alpha_2], \dots, [\alpha_n])$  výškových tried.

Kvôli jednoduchosti budeme akordické triedy označovať v hranatých zátvorkách  $[\alpha] = [\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n]$ , prípadne ich hudobným pomenovaním.

**Príklad 1.5** V hudobnej literatúre (hlavne v kontexte  $E_{12}$ ) existuje množstvo rozličných akordov a akordických tried rôznej dĺžky používaných v hudobnej praxi, napríklad:

$$\begin{aligned} C &= [0, 4, 7] \quad (\text{durový kvintakord}) \\ c^7 &= [0, 3, 7, 10] \quad (\text{molový septakord}) \\ C_6^9 &= [0, 2, 4, 7, 9] \quad (\text{durový kvintakord so sextou a nonou}) \end{aligned}$$

## 1.3 Grupa operácií na trojzvukoch

V tejto časti obmedzíme naše úvahy iba na akordy dĺžky 3, ktoré sa v hudobnej praxi používajú najčastejšie. Počet všetkých trojzvukov v  $E_{12}$  je rovný  $\binom{12}{3} = 220$ , čo je stále dosť veľa na rozumné vyšetrenie hudobno-matematických štruktúr, a tak budeme uvažovať iba také, ktoré sa historicky ukázali najužitočnejšie a harmonicky najpoužívanejšie – durové a molové trojzvuky. Tie sú tvorené základným tónom, terciou a kvintou nad ním. V prípade veľkej tercie dostaneme durový akord, v prípade malej tercie molový akord. Formálne ich definujeme nasledujúco.

**Definícia 1.6** Akord  $x = (x_1, x_2, x_3)$  nazývame *durový*, ak  $x_2 = x_1 + 4$  a  $x_3 = x_1 + 7$ . Akord  $x = (x_1, x_2, x_3)$  nazývame *molový*, ak  $x_2 = x_1 + 3$  a  $x_3 = x_1 + 7$ .

Ak reprezentujeme durovú/molovú akordickú triedu na ciferníku hodín, z jednej durovej/molovej akordickej triedy vieme vytvoriť ďalšiu durovú/molovú akordickú triedu jednoducho tak, že celý trojzvuk potočíme v smere, či proti smeru hodinových ručičiek. Takto vieme vytvoriť 12 durových a 12 molových akordických tried operáciami transpozície a inverzie aplikovanej po zložkách, t.j.

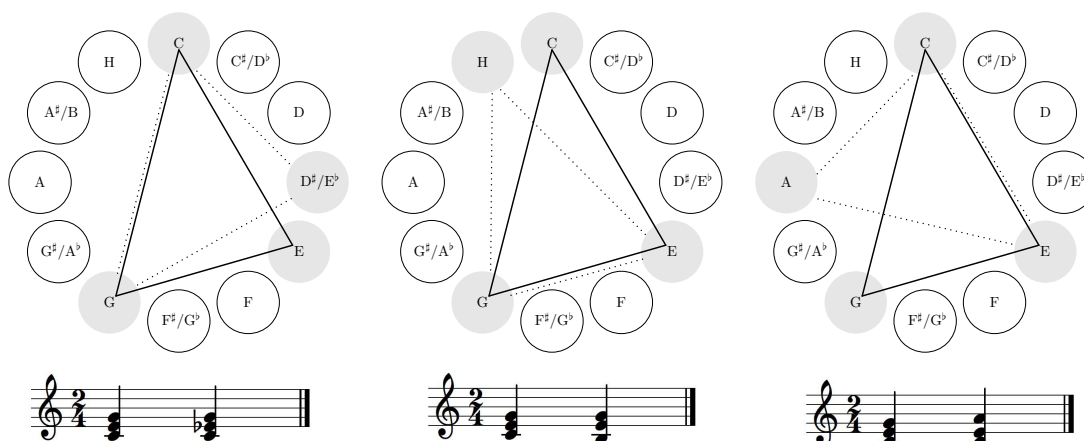
$$\begin{aligned} T_n([x_1, x_2, x_3]) &:= [T_n(x_1), T_n(x_2), T_n(x_3)], \\ I_n([x_1, x_2, x_3]) &:= [I_n(x_1), I_n(x_2), I_n(x_3)]. \end{aligned}$$

Okrem toho sa dajú definovať ďalšie operácie na durových a molových akordoch meniace paritu (teda durový akord na molový a naopak). Označme  $\mathcal{M}_3$  priestor všetkých molových a durových akordických tried dĺžky 3, pozri tiež časť 3.

**Definícia 1.7** Operácie  $P, L, R : \mathcal{M}_3 \rightarrow \mathcal{M}_3$  sú definované nasledovne:

$$\begin{aligned} P([x_1, x_2, x_3]) &:= I_{x_1+x_3}([x_1, x_2, x_3]), \\ L([x_1, x_2, x_3]) &:= I_{x_2+x_3}([x_1, x_2, x_3]), \\ R([x_1, x_2, x_3]) &:= I_{x_1+x_2}([x_1, x_2, x_3]). \end{aligned}$$

Vzhľadom na geometrickú interpretáciu inverzie máme, že všetky tri zavedené operácie predstavujú preklopenie akordickej triedy na ciferníku hodín cez nejakú os. Pri zobrazení  $P$  ide o preklopenie cez os prechádzajúcu bodom  $(\frac{x_1+x_3}{2}, \frac{x_1+x_3}{2} + 6)$ . Operáciu  $L$  môžeme na ciferníku hodín interpretovať ako osovú súmernosť prechádzajúcu bodom  $(\frac{x_2+x_3}{2}, \frac{x_2+x_3}{2} + 6)$ . Nakoniec operácia  $R$  sa dá interpretovať ako osovú súmernosť s osou prechádzajúcou bodom  $(\frac{x_1+x_2}{2}, \frac{x_1+x_2}{2} + 6)$ .



**Obr. 1:** Aplikácia zobrazení  $P, L$  a  $R$  na akordickú triedu  $C$  (zľava doprava)

Všetky tri operácie  $P, L$  a  $R$  sú involúcie. Po chvíli narábania s týmito operáciami zistíme, že sa nám stačí zamerať na analýzu prvkov  $x = (LR)^n$  a  $y = R(LR)^m$  s  $m, n \in \mathbb{Z}_{12}$ . Jednotlivé skladania sú uvedené v Tab. 1. Ako si môžeme všimnúť, operácia  $P$  sa dá získať pomocou operácií  $L$  a  $R$  nasledujúco  $P = R(LR)^3$ .

Uvedená tabuľka (čítaná po stĺpcoch) nám však odhaľuje ďalší dôležitý aspekt: ak začneme s operáciou  $R$ , na ktorú aplikujeme operáciu  $L$  a na výsledok opäť aplikujeme operáciu  $R$  a potom  $L$ , atď., dostaneme po 24 krokoch identitu. Tento postup aplikovaný hudobne na akordickú triedu  $C$  dáva postupnosť

$$C, a, F, d, B, g, E^b, c, A^b, f, C^\sharp, b, F^\sharp, e^b, H, g^\sharp, E, c^\sharp, A, f^\sharp, D, h, G, e, C, \quad (1)$$

ktorá je pozoruhodná z viacerých hľadísk: jej prvých 19 členov bolo použitých v Beethovenovej 9. symfónii. Z matematického hľadiska táto postupnosť predstavuje dôležitý nástroj pri štúdiu štruktúry



$R = R(LR)^0 = L(RL)^{11}$	$R(LR)^6 = L(RL)^5$
$LR = (RL)^{11}$	$(LR)^7 = (RL)^5$
$R(LR) = L(RL)^{10}$	$R(LR)^7 = L(RL)^4$
$(LR)^2 = (RL)^{10}$	$(RL)^8 = (RL)^4$
$R(LR)^2 = L(RL)^0$	$R(LR)^8 = L(RL)^3$
$(LR)^3 = (RL)^9$	$(LR)^9 = (RL)^3$
$P = R(LR)^3 = L(RL)^8$	$R(LR)^9 = L(RL)^2$
$(LR)^4 = (RL)^8$	$(LR)^{10} = (RL)^2$
$R(LR)^4 = L(RL)^7$	$R(LR)^{10} = L(RL)$
$(LR)^5 = (RL)^7$	$(LR)^{11} = (RL)$
$R(LR)^5 = L(RL)^6$	$R(LR)^{11} = L(RL)^0 = L$
$(LR)^6 = (RL)^6$	$(LR)^0 = (RL)^0$

**Tab. 1:** Ekvivalencia operácie LR a RL

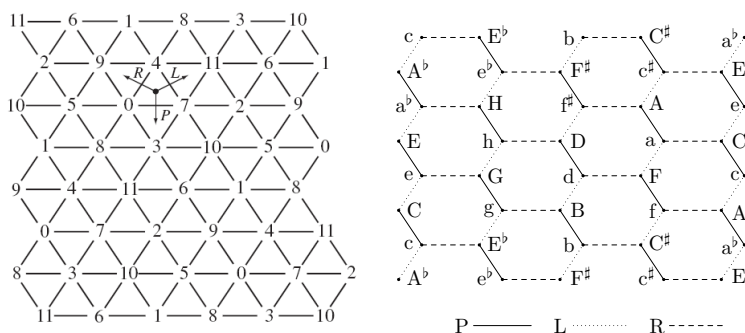
priestoru  $\mathcal{M}_3$ . Položme

$$\mathfrak{S}_{PLR} = \{Id, LR, (LR)^2, \dots, (LR)^{11}, R(LR)^0, R(LR)^1, \dots, R(LR)^{11}\}.$$

**Veta 1.8**  $(\mathfrak{S}_{PLR}, \circ)$  je neabelovská grupa izomorfná s dihedralnou grupou  $\mathfrak{D}_{12}$ .

## 2 Geometrická reprezentácia

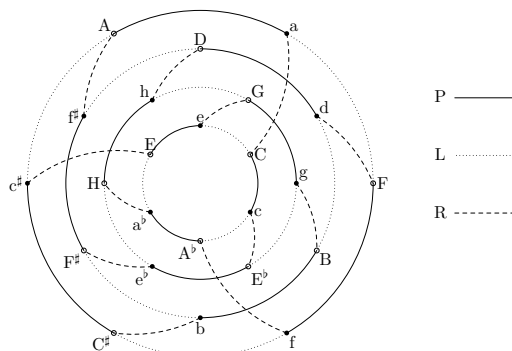
Jedným z prvých, kto sa hudobno-matematickými súvislosťami a ich geometrickou reprezentáciou zaoberal, bol už Leonhard Euler v roku 1739, no až Hugo Riemann v 19. storočí prišiel s koncepciou tónovej siete (Tonnetz), Obr. 2 vľavo. Riemann reprezentoval trojzvuk pomocou trojuholníkovej siete, kde vrcholy trojuholníkov sú výškové triedy reprezentované prvkami zvyškovej triedy  $\mathbb{Z}_{12}$ . Každý trojuholník predstavuje durovú alebo molovú akordickú triedu. Operácie P, L a R nám umožňujú prechádzať celým týmto grafom preklápaním trojuholníka okolo hrany, ktorej vrcholy sa zachovávajú. Graf sa rozkladá nekonečne každým smerom, na obrázku sme schopní uviesť iba časť tejto nekonečnej siete. Tiež tu môžeme vidieť dvojnásobnú periodicitu (v oboch smeroch). Zlepením rovnakých tónov dostaneme *tórus*, na ktorom je nakreslený graf s tromi typmi hrán (zodpovedajúce operáciám P, L a R). Potom postupnosť (1) predstavuje hamiltonovskú kružnicu na tóre. Pre zaujímavosť spomeňme, že pôvodný Riemannov Tonnetz nebol periodický a neležal na tóre, nakoľko Riemann neuvažoval enharmonickú ekvivalenciu, ako ani rovnomerne temperovaný tónový systém.



**Obr. 2:** Neo-Riemannovský Tonnetz (vľavo), Douthett-Steinbach reprezentácia (vpravo)

J. Douthett a P. Steinbach [3] uviedli reprezentáciu PLR-grupy založenú na šesťuholníkových stenách, kde vrcholy šesťuholníkov sú akordické triedy a hrany sú operácie P, L a R. Tento graf je opäť periodický horizontálne aj vertikálne a zlepením opakujúcich sa vrcholov a hrán dostaneme opäť *tórus*, pozri Obr. 2 vpravo.

Ešte o trochu skôr D. Waller študoval tento graf na tóre v práci [7] a zistil, že grupa jeho automorfizmov je dihedralná grupa rádu 24. Na tomto grafe je lepšie viditeľný hudobný pohyb spodobený postupnosťou (1) predstavujúcou už spomínanú regulárnu cestu na tóre. Túto pozoruhodnú postupnosť popísal R. Cohn vo svojom článku [2]. V hlbšom štúdiu štruktúry priestoru trojzvukov (nie nutne durových a molových) vo všeobecnom rovnomerne temperovanom tónovom systéme pokračujeme v nasledujúcej časti.



### 3 Topológia priestoru trojzvukov

Pri štúdiu PLR-grupy zohrávali dôležitú úlohu trojzvuky, pričom sme sa obmedzili len na analýzu durových a molových trojzvukov, teda takých, ktoré sú charakterizované postupnosťou čísel 3, 4 a 5. Presnejšie, tieto čísla popisujú počet poltónov medzi jednotlivými tónmi tvoriacimi trojzvuk. Na ciferníku hodín tieto trojzvuky predstavujú trojuholník, rovnako aj zodpovedajúci Tonnetz je tvorený trojuholníkovými stenami, pričom trojuholníky majúce spoločnú hranu sú zlepené dohromady. Ak ďalej stotožníme rovnaké hrany v tejto mriežke, dostaneme *tórus*, čo je v tomto prípade základný priestor na analyzovanie rozličných hudobných akcií dihedralnej grupy na množine durových a molových trojzvukov. Keďže narábame s tónovým systémom  $E_{12}$ , ľahko vidieť, že  $12 = 3 + 4 + 5$ , čo je jedna partícia čísla 12 reprezentujúca konštrukciu durového a molového trojzvuku. Toto nás hneď privádza k otázke: *Aký priestor je tvorený trojzvukmi v rovnomerne temperovanej škále s  $N = n_1 + n_2 + n_3$  tónmi, ak  $n_1, n_2, n_3$  určujú počet poltónov medzi jednotlivými tónmi tvoriacimi trojzvuk?*

Matematický objekt, ktorý použijeme na modelovanie priestoru trojzvukov, je *simpliciálny komplex*, čo je množinovo-teoretická abstrakcia polyedrálnej geometrie. Formálne simpliciálny komplex pozostáva z konečnej množiny vrcholov  $V$  spolu s množinou  $S$  podmnožín množiny  $V$  nazvaných *simplexy* s vlastnosťou, že ľubovoľná podmnožina simplexu je opäť simplex. Podmnožiny v  $S$  s  $n + 1$  prvkami budeme nazývať  $n$ -simplexy.

Každý simpliciálny komplex má geometrickú realizáciu ako polyéder, ktorý získame tak, že zasociujeme každý 0-simplex  $\{u\}$  s bodom  $u$ , každý 1-simplex  $\{u, v\}$  s úsečkou s krajnými bodmi  $u$  a  $v$ , a každý 2-simplex  $\{u, v, w\}$  s trojuholníkom ohraničeným 1-simplexami  $\{u, v\}$ ,  $\{u, w\}$  a  $\{v, w\}$  (takže jeho vrcholy sú  $u, v, w$ ), a tak ďalej. Jednou z výhod simpliciálnych komplexov je, že umožňujú študovať polyedrálnu topológiu pracovaním iba s konečnými množinami. Teraz abstraktne zadefinujeme priestor trojzvukov vo všeobecnom rovnomerne temperovanom tónovom systéme  $E_N$ .

**Definícia 3.1** Nech  $N \in \mathbb{N}$  a  $n_1, n_2, n_3 \in \mathbb{N}$  sú také, že  $N = n_1 + n_2 + n_3$  a  $1 \leq n_1 \leq n_2 \leq n_3 \leq N$ . Označíme  $C(n_1, n_2, n_3)$  *abstraktný simpliciálny komplex*, v ktorom

- (i) množina 0-simplexov je  $\mathbb{Z}_N$ ,
- (ii) množina 1-simplexov pozostáva zo všetkých translácií mod  $N$  akordických tried  $[0, n_1]$ ,  $[0, n_2]$  a  $[0, n_3]$ ,
- (iii) množina 2-simplexov pozostáva zo všetkých translácií a inverzií mod  $N$  akordickej triedy  $[0, n_1, n_1 + n_2]$ .

Prvým krokom v klasifikácii priestorov trojzvukov je určenie Eulerovej charakteristiky. Ide o geometrický invariant priestorov, ktorá rozlišuje kompaktné orientovateľné plochy bez hranice, t.j. dve kompaktné orientovateľné plochy bez hranice, ktoré majú rovnakú Eulerovu charakteristiku, sú topologicky ekvivalentné. Eulerova charakteristika konečného simplicijného komplexu je určená počtami  $i$ -simplexov, kde sa zohľadňuje každé  $i$  a je definovaná nasledujúco:

**Definícia 3.2** Eulerova charakteristika simplicijného komplexu je číslo  $\chi$  dané predpisom

$$\chi := \sum_{i \geq 0} (-1)^i m_i,$$

kde  $m_i$  je počet  $i$ -simplexov.

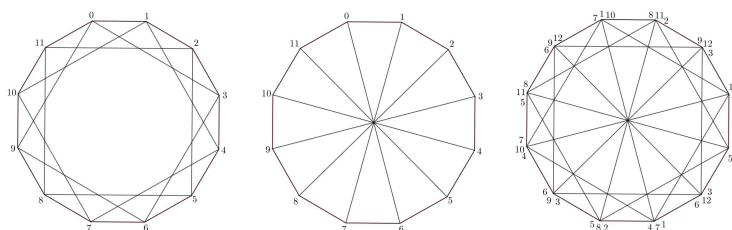
**Dôsledok 3.3** Eulerova charakteristika  $\chi$  simplicijného komplexu  $C(n_1, n_2, n_3)$  je daná v Tab. 2.

prípady pre $N = n_1 + n_2 + n_3$	$ \mathcal{V} $	$ \mathcal{E} $	$ \mathcal{F} $	$\chi$
$n_1 < n_2 < n_3, n_3 \neq n_1 + n_2$	$N$	$3N$	$2N$	$0$
$n_1 < n_2 < n_3, n_3 = n_1 + n_2$	$N$	$\frac{5N}{2}$	$2N$	$\frac{N}{2}$
$n_1 = n_2 < n_3, n_3 \neq n_1 + n_2$	$N$	$2N$	$N$	$0$
$n_1 = n_2 < n_3, n_3 = n_1 + n_2$	$N$	$\frac{3N}{2}$	$N$	$\frac{N}{2}$
$n_1 < n_2 = n_3$	$N$	$2N$	$N$	$0$
$n_1 = n_2 = n_3$	$N$	$N$	$\frac{N}{3}$	$\frac{N}{3}$

**Tab. 2:** Počty vrcholov, hrán, stien a Eulerova charakteristika v závislosti na vzťahoch medzi  $n_1, n_2$  a  $n_3$

**Príklad 3.4** Vezmime  $N = 12$  a simplicijný komplex  $C(3, 3, 6)$ , ktorý ako môžeme vidieť na obrázku, obsahuje dva typy hrán s celkovým počtom 18, čo zodpovedá  $\frac{3N}{2}$ . Čo sa týka stien dostávame naozaj  $N$ , teda 12. Súhrnom, Eulerova charakteristika nám dá:

$$\chi = (-1) \cdot 12 + (-1)^2 \cdot 18 + (-1)^3 \cdot 12 = 6$$



## Záver

Cieľom predloženej práce bolo oboznámenie sa s matematicko-hudobnými štruktúrami a vzťahmi medzi nimi, korektné definovať jednotlivé operácie na trojzvukoch a ich správanie sa popísať matematickou rečou. Taktiež pozrieť sa na ich geometrickú reprezentáciu, pri štúdiu ktorej sme zistili, že v prípade  $E_{12}$  ide o geometrickú reprezentáciu pomocou Tonnetzu alebo tóru a v prípade  $E_7$  ide o Mazzolov harmonický pásik. Všeobecne pre  $E_N$  sa nám nepodarilo dôjsť ku konkrétnym typom geometrických realizácií študovaných priestorov, avšak vypočítali sme ich Eulerovu charakteristiku, čo je prvým krokom ku klasifikácii priestoru  $C(n_1, n_2, n_3)$  vo všeobecnosti.

## Pod'akovanie

Príspevok vznikol za podpory Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-21-0468 a grantu VEGA 1/0657/22.

## Literatúra

1. BALZANO, G., 1980, The group-theoretic description of 12-fold and microtonal pitch systems. *Comput. Music J.* **4**, 66–84.
2. COHN, R., 1997, Neo-Riemannian operations, parsimonious trichords, and their Tonnetz representations. *J. Music Theory.* **41**, 1–66.
3. DOUTHETT, J., STEINBACH, P., 1998, Parsimonious graphs: A study in parsimony, contextual transformations, and modes of limited transposition. *J. Music Theory.* **42**, 241–263.
4. CRANS, A. S., FIORE, T. M., SATYENDRA, R., 2009, Musical actions of dihedral groups. *Amer. Math. Monthly.* **116**(6), 479–495.
5. JEDRZEJEWSKY, F., 2008, Generalized diatonic scales. *J. Math. Music.* **2**(1), 21–36.
6. MAZZOLA, G., 2002, *The Topos of Music. Geometric Logic of Concepts, Theory, and Performance.* Birkhäuser Verlag, Berlin.
7. WALLER, D., 1978, Some combinatorial aspects of the musical chords. *Math. Gazette.* **62**, 12–15.

## VPLYV MODIFIKÁCIE POVRCHU ELEKTRÓDY NA ELEKTROCHEMICKÉ STANOVENIE INZULÍNU

*Effect of electrode surface modification on the electrochemical insulin determination*

**Frederika Chovancová<sup>a</sup>, Ivana Šišoláková<sup>a</sup>, Jana Shepa<sup>a</sup>, Petr Sába<sup>b</sup>, Renáta Oriňaková<sup>a,b</sup>**

<sup>a</sup> Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyzikálnej chémie, Moyzesova 11, 040 11 Košice, Slovenská republika

<sup>b</sup> Centrum polymerních systémů, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíne, Třída Tomáše Bati 5678, 760 01 Zlín, Česká republika

**Abstrakt:** Modifikácia povrchu uhlíkovej elektródy pripravenej metódou sieťotlače (SPCE) zohráva dôležitú úlohu pri vývoji elektrochemického senzora pre stanovenie inzulínu. Cieľom je nájsť vhodnú kombináciu kovových častíc, ktoré katalyzujú oxidáciu analytu a polymérneho materiálu, ktorý stabilizuje kovové častice na povrchu elektrochemického senzora. V tejto práci bol preštudovaný vplyv rôznych polymérnych membrán v kombinácii s nanočasticami niklu (NiNPs) na priame elektrochemické stanovenie inzulínu. Boli pripravené tri rôzne modifikácie SPCE. Povrch SPCEs bol modifikovaný vodivými polymermi (polypyrol a polyanilín) a nevodivým biokompatibilným polymérom – chitozánom. Na povrch SPCEs modifikovaných polymérnou membránou boli elektrochemicky vylúčené NiNPs. Práve NiNPs v zásaditom prostredí tvoria katalyticky aktívne častice NiOOH<sup>-</sup> pre priamu oxidáciu inzulínu vo vzorke. V práci bola preštudovaná morfológia povrchu nemodifikovanej SPCE a modifikovaných SPCEs pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie (SEM) a zastúpenie prvkov na povrchu elektród bolo stanovené energiovo-disperznou röntgenovou analýzou (EDX). Na základe elektrochemických meraní bola NiNPs-PPy-SPCE stanovená ako najvhodnejšia modifikácia povrchu SPCE pre priame stanovenie inzulínu. Analytické charakteristiky akými sú limit detekcie (LOD), citlivosť, lineárny rozsah a koeficient determinácie vypočítané pre NiNPs-PPy-SPCE boli nasledovné: 0,90 nM; 6,65  $\mu\text{A}/\mu\text{M}$  a 0,5 až 5  $\mu\text{M}$  ( $R^2 = 0,99$ ). V poslednom kroku bol inzulín stanovený v roztoku krvného séra (0,5 – 5  $\mu\text{M}$ ) na elektróde NiNPs-PPy-SPCE.

**KLúčové slová:** elektrochémia, inzulín, polymér, uhlíková elektróda pripravená metódou sieťotlače, nanočastice niklu

**Abstract:** The surface modification of screen-printed carbon electrode (SPCE) plays a crucial role for development of electrochemical sensor for insulin determination. In this study, the effect of different polymer membranes, in combination with nickel nanoparticles (NiNPs), on the direct electrochemical determination of insulin was investigated. The surface of the SPCEs was modified with conductive polymers such as polypyrrole, and polyaniline and a non-conductive biocompatible polymer chitosan. NiNPs were electrochemically deposited on all modified SPCEs. NiNPs can create electroactive NiOOH<sup>-</sup> particles in alkaline conditions for the direct insulin oxidation. Thereafter, the surface morphology of the bare SPCE and modified SPCEs were compared via scanning electron microscopy (SEM). The elemental composition of bare SPCE and modified SPCEs was also determined via energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX). Based on the results of the electrochemical experiments, analytical parameters like limit of detection (LOD), selectivity, correlation coefficient, and linear range for NiNPs-PPy-SPCE were calculated. Finally, various concentrations of insulin (0,5 – 5  $\mu\text{M}$ ) in human blood serum was determined on NiNPs-PPy-SPCE.

**Keywords:** electrochemistry, insulin, polymer, screen printed carbon electrode, nickel nanoparticles

### Úvod

Inzulín je hormón produkovaný  $\beta$ -bunkami Langerhansových ostrovčekov v pankrease. Molekula inzulínu je tvorená 51 aminokyselinami rozdelenými do 2 reťazcov (A-reťazec obsahuje 21 aminokyselín a B-reťazec obsahuje 30 aminokyselín), ktoré sú navzájom spojené disulfidovými mostíkmi. Inzulín zohráva nenahraditeľnú úlohu v regulácii hladiny glukózy v krvi [1]. Nedostatočná produkcia inzulínu, prípadne jeho úplná absencia spôsobuje ochorenie známe ako diabetes mellitus

(DM). DM je chronické metabolické ochorenie, ktorého hlavným diagnostickým kritériom je zvýšená hladina glukózy v krvi – hyperglykémia. Hyperglykémia je definovaná ako stav, kedy je hladina glukózy v krvi nalačno vyššia ako 5,6 mmol/l [2]. Na základe údajov zverejnených Svetovou zdravotníckou organizáciou (WHO) v roku 2019 celosvetovo trpelo týmto ochorením viac ako 463 miliónov ľudí. Počet ľudí trpiacich DM rapídne narastá [3]. Diabetes sa vyskytuje v dvoch najčastejších formách. DM typu 1 sa spravidla vyskytuje u detí a na jeho vzniku sa významne podieľa genetická predispozícia. DM typu 2 sa vyskytuje u dospeljej populácie a je spôsobený najmä nezdravým životným štýlom. Včasnou diagnostikou a úpravou životného štýlu je možné zmierniť komplikácie spojené s diabetom [4,5]. Pacienti čelia množstvu závažných, pridružených ochorení akými sú kardiovaskulárne ochorenia, poškodenie obličiek, slepota či amputácia končatiny [6,7]. V súčasnosti sú pacienti odkázaní na komerčne produkované a predávané glukózové enzymatické senzory, ktorými si kontrolujú hladinu glukózy v krvi aj niekoľko krát denne. Nevýhodou glukózových enzymatických sensorov je najmä ich pomerne vysoká cena a vplyv teploty a pH na stabilitu sensorov, čo je spôsobené práve prítomnosťou enzýmu – glukóza oxidáza [1,8,9].

Vývoj nového typu neenzymatického elektrochemického senzora na priame a rýchle stanovenie inzulínu má celosvetový význam. Priama oxidácia inzulínu na povrchu elektródy prebieha bez prítomnosti enzýmu, ktorý je nahradený vhodne zvolenými kovovými časticami, ktoré katalyzujú oxidáciu inzulínu a zabezpečujú tak stále vysokú selektivitu senzora. Povrch pracovnej elektródy na stanovenie inzulínu bol modifikovaný rôznymi kovovými nanočasticami (Ni, Cu, Zn, Co) prípadne nanočasticami oxidov kovov (NiO) [1,2,3,9]. Pre správnu funkciu senzora je nevyhnutná aj aplikácia polymérnej membrány, ktorá má výrazný vplyv na stabilitu senzora z dôvodu fixácie nanočastíc na povrchu. Ako potenciálne vhodné polymérne membrány boli zvolené vodivé polyméry - polyanilín (PANI) a polypyrol (PPy) kvôli ich fyzikálno-chemickým vlastnostiam, najmä elektrickej vodivosti. Pre porovnanie prúdovej odozvy bol zvolený nevodivý polymér chitozán [8,10].

## **Príprava polymérnych roztokov a spôsob modifikácie povrchu SPCE**

### **Uhlíková elektróda pripravená metódou sieťotlače modifikovaná chitozánom v kombinácií s nanočasticami niklu**

#### **(NiNPs-CHIT-SPCE)**

Práškový chitozán (CHIT) bol rozpustený v deionizovanej vode a pH roztoku bolo upravené na hodnotu pH = 3 použitím 0,1 M kyseliny octovej. 10 µl pripraveného roztoku bolo kvapnutých na pracovnú uhlíkovú elektródu a zasúšené. Sušenie prebiehalo pri laboratórnej teplote po dobu 1 hodiny. Pulznou elektrodepozíciou boli na povrch chitozánom modifikovanej SPCE vylúčené NiNPs z roztoku 40 mM Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O aplikovaním potenciálu  $E = +0,4$  V pri čase  $t = 5$  s. Modifikovaná elektróda bola aktivovaná v roztoku 0,1 M NaOH metódou cyklickej voltampérometrie v rozsahu potenciálov od +0,1 V až +0,7 V pri rýchlosti polarizácie  $v = 100$  mV/s počas 10 cyklov.

### **Uhlíková elektróda pripravená metódou sieťotlače modifikovaná polyanilínom v kombinácií s nanočasticami niklu**

#### **(NiNPs-PANI-SPCE)**

Polyanilín (PANI) bol pripravený metódou chemickej polymerizácie. Najprv bolo 0,5 ml anilínu rozpusteného v 10 ml destilovanej vody, ktorá bola okyslená 1M HCl. Pripravený roztok bol miešaný po dobu 30 minút za vzniku roztoku anilín hydrochloridu. Následne bol pridaný roztok peroxydisíranu amónneho s rovnakým objemom aký mal roztok anilín hydrochloridu a zmes bola homogenizovaná miešaním. Koncentrácia reaktantov použitých na prípravu PANI bola 0,1 M anilín hydrochloridu a 0,125 M peroxydisíranu amónneho. Pôvodne bezfarebná zmes sa postupne zmenila na modrú až zelenú, keď bol proces polymerizácie ukončený. Vyprodukované pevné látky boli oddelené filtráciou, premyté v 1 M HCl a etanole a znovu dispergované (1mg/ml) v roztoku voda/etanol (1:1). 10 µl roztoku PANI bolo kvapnutých na povrch uhlíkovej pracovnej SPCE a vysušených po dobu 1 hodiny pri laboratórnej teplote. NiNPs boli na povrch elektródy vylúčené elektrochemicky za rovnakých podmienok ako v prípade NiNPs-CHIT-SPCE.

## Uhlíková elektróda pripravená metódou sieťotlače modifikovaná polypyrolom v kombinácii s nanočasticami niklu

### (NiNPs-PPy-SPCE)

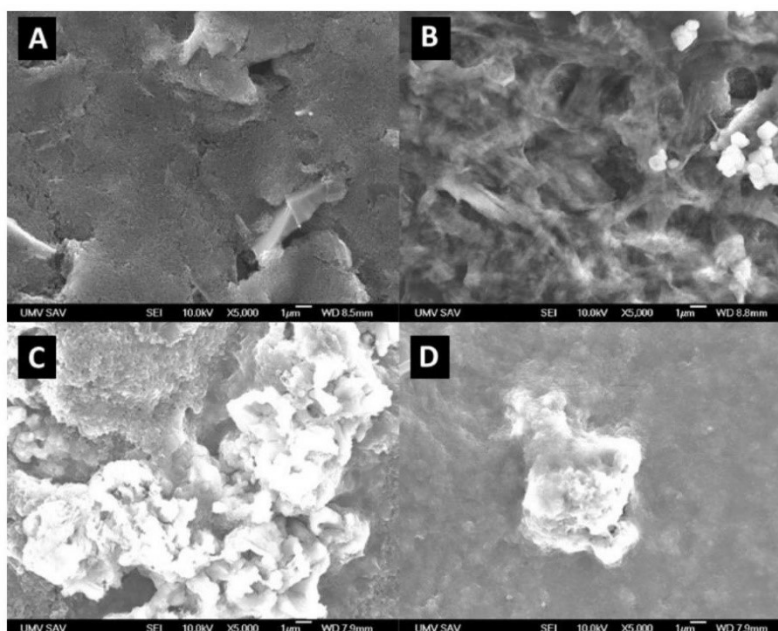
Polypyrol (PPy) bol pripravený metódou chemickej polymerizácie. 0,5 ml pyrolu bolo rozpustených v 10 ml destilovanej vody, ktorá bola okyslená 1 M HCl. Rovnaký objem peroxodisíranu amónneho bol zmiešaný s roztokom pyrolu. Zmes obsahovala 0,1 M pyrolu a 0,125 M peroxodisíranu amónneho. Bezfarebný roztok sa postupne zmenil na čierny, keď bol polymerizačný proces ukončený za vzniku polypyrolových pevných látok. Produkované čierne pevné látky PPy boli odfiltrované a premyté destilovanou vodou a etanolom a následne redispergované v roztoku voda/etanol. 10  $\mu$ l roztoku PPy bolo kvapnutých na povrch uhlíkovej pracovnej elektródy SPCE a vysušených pri laboratórnych podmienkach po dobu 1 hodiny. NiNPs boli na povrch elektródy vylúčené elektrochemicky metódou pulznej elektrodepozície ( $E = + 0,4$  V;  $t = 5$  s).

### Výsledky a diskusia

Morfológia povrchu nemodifikovanej SPCE bola porovnaná s elektródami modifikovanými polymérnou membránou a NiNPs pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie (SEM). Zo SEM snímky zobrazenej na obrázku 1A je zrejmé, že povrch nemodifikovanej SPCE nie je úplne hladký, čo je spôsobené morfológiou uhlíka. EDX analýza nemodifikovanej SPCE potvrdila, že povrch pracovnej elektródy je tvorený uhlíkom z 99 hmotnostných %. SEM snímky SPCE modifikovaných polymérmi v kombinácii s NiNPs sú zobrazené na obrázku 1B-D. Na všetkých troch modifikovaných elektródach (NiNPs-CHIT-SPCE, NiNPs-PANI-SPCE a NiNPs-PPy-SPCE) boli vylúčené nanočastice Ni. Nanočastice niklu vylúčené elektrodepozíciou na povrch elektródy modifikovanej polypyrolom zodpovedajú veľkosti  $420 \pm 10$  nm. Viditeľné polymérne vlákna polypyrolu na NiNPs-PPy-SPCE poskytujú relatívne vysokú štruktúrovanosť povrchu, čo poskytuje väčší priestor pre vylúčenie NiNPs na povrchu elektródy (obrázok 1B). Výsledok EDX analýzy potvrdzuje, že množstvo vylúčeného Ni predstavuje až 4,6 hm. %. Na obrázku 1C je zobrazená snímka povrchu NiNPs-PANI-SPCE. NiNPs vylúčené na povrchu modifikovanej elektródy vytvárajú zhluky o veľkosti až  $5,8 \pm 0,3$   $\mu$ m. Z výsledkov EDX analýzy vyplýva, že množstvo vylúčeného Ni na povrchu elektródy je 4,2 hm.%. Na poslednom obrázku (1D) je zobrazená snímka NiNPs-CHIT-SPCE. Častice vylúčeného niklu na povrchu NiNPs-CHIT-SPCE dosahujú veľkosť až  $8,4 \pm 0,4$   $\mu$ m. Z výsledkov EDX analýzy vyplýva, že množstvo Ni predstavuje len 2,5 hm. %. Množstvo Ni vylúčeného na povrchu modifikovaných elektród je uvedené v tabuľke 1.

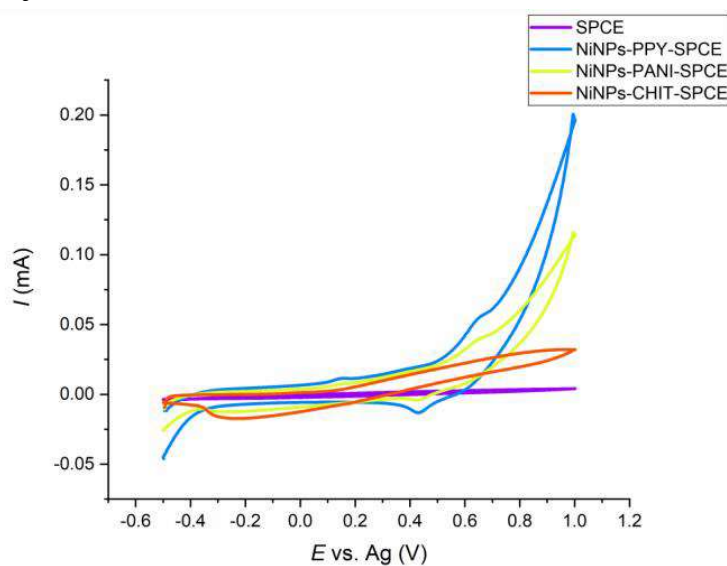
Tab. 1: Množstvo Ni vylúčeného na povrch skúmaných elektród

Množstvo Ni vylúčeného na povrch elektródy hm. %	Elektróda
0	SPCE
4,6	NiNPs-PPy-SPCE
4,2	NiNPs-PANI-SPCE
2,5	NiNPs-CHIT-SPCE



**Obrázok 1** SEM snímky pri 5000x zväčšení : (A) nemodifikovaná SPCE, (B) NiNPs-PPy-SPCE, (C) NiNPs-PANI-SPCE a (D) NiNPs-CHIT-SPCE

Na základe zistení pozorovaných zo SEM snímok a získaných z EDX analýzy bola porovnaná prúdová odozva nemodifikovanej SPCE a modifikovaných elektród. Merania boli uskutočnené metódou CV v rozsahu potenciálov od  $E = -0,5$  V do  $+1$  V pri rýchlosti polarizácie  $v = 100$  mV/s. Všetky elektrochemické merania boli uskutočnené v roztoku  $5 \mu\text{M}$  inzulínu v PBS s  $0,1$  M NaOH. Ako je vidieť na obrázku 2, na nemodifikovanej SPCE nebol pozorovaný oxidačný ani redukčný pík inzulínu (fialová krivka). Táto elektróda nedisponuje žiadnymi katalyticky aktívnymi miestami pre oxidáciu inzulínu. Najvyššiu prúdovú odozvu ( $I = 0,056$  mA) poskytuje elektróda NiNPs-PPy-SPCE (modrá krivka). Tento výsledok korešponduje so SEM snímkami a EDX analýzou povrchu elektród, keďže práve na povrchu NiNPs-PPy-SPCE je najväčšie množstvo vylúčeného niklu, ktorý poskytuje elektrokatalytické miesta pre oxidáciu inzulínu. Najvyššia prúdová odozva je taktiež spôsobená tým, že PPy je vodivým polymérom s vyššou vodivosťou ako PANI. Potenciál ( $E = +0,62$  V), pri ktorom bola pozorovaná maximálna hodnota prúdu, zodpovedá práve oxidácii inzulínu na uhlíkovej elektróde modifikovanej NiNPs.



**Obrázok 2** Cyklický voltampérogram  $5 \mu\text{M}$  inzulínu v roztoku PBS a  $0,1$  M NaOH na nemodifikovanej SPCE (fialová krivka), NiNPs-CHIT-SPCE (červená krivka), NiNPs-PANI-SPCE (žltá krivka) a NiNPs-PPy-SPCE (modrá krivka)

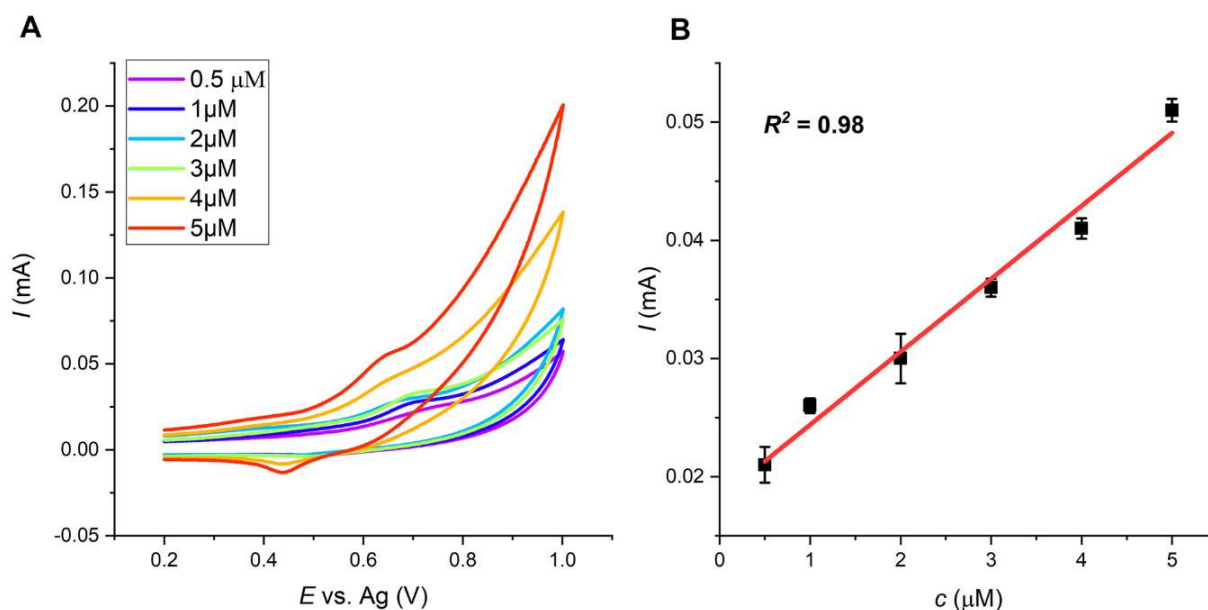
Na základe výsledkov porovnania prúdovej odozvy modifikovaných elektród v roztoku  $5 \mu\text{M}$  inzulínu v PBS a  $0,1$  M NaOH, bola NiNPs-PPy-SPCE zvolená ako najvhodnejšia pre ďalšie elektrochemické



merania. Analytické parametre NiNPs-PPy-SPCE boli študované metódou cyklickej voltampérometrie (CV) a metódou chronoampérometrie (CA) v roztoku inzulínu v PBS a 0,1 M NaOH. Na obrázku 3 je zobrazený cyklický voltampérogram inzulínu s rôznou koncentráciou inzulínu v rozsahu od 0,5  $\mu\text{M}$  do 5  $\mu\text{M}$  na NiNPs-PPy-SPCE. Maximálna hodnota prúdu, ktoré zodpovedá oxidácii inzulínu ( $E = +0,62\text{ V}$ ), lineárne rastie s rastúcou koncentráciou čoho?. Tieto výsledky boli fitované lineárnou funkciou na základe čoho bol získaný koeficient determinácie, ktorý charakterizuje linearitu danej závislosti. Vysoká hodnota koeficientu determinácie ( $R^2 = 0,98$ ) potvrdzuje, že táto závislosť je lineárna. NiNPs-PPy-SPCE disponuje širokým lineárnym rozsahom (0,5  $\mu\text{M}$  – 5  $\mu\text{M}$ ), vysokou citlivosťou (6,65  $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ ) a nízkym limitom detekcie (0,90 nM). Hodnota LOD bola vypočítaná podľa rovnice (1):

$$LOD = \frac{3S_a}{b} \quad (1)$$

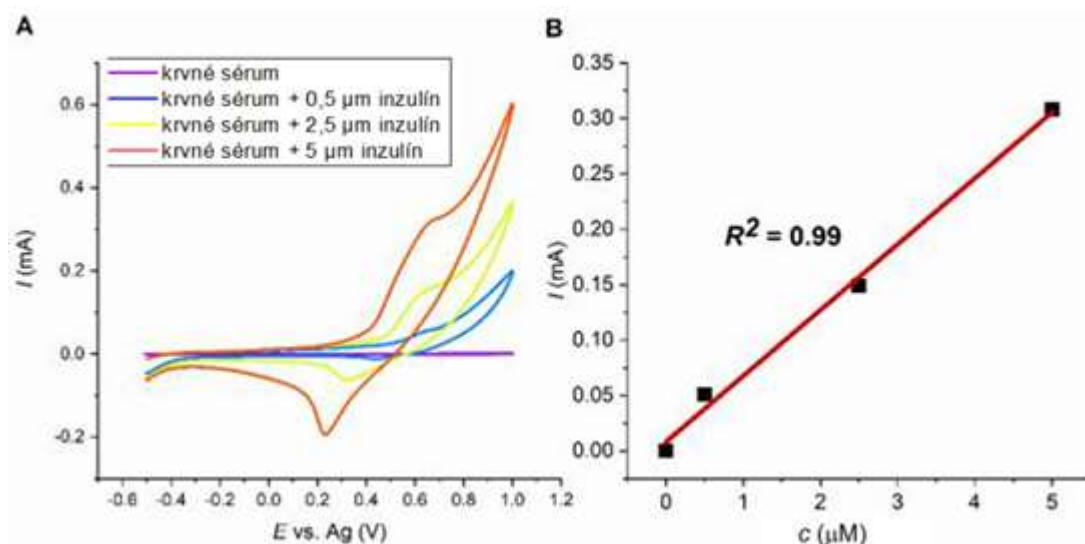
kde  $S_a$  zodpovedá štandardnej odchýlke a  $b$  predstavuje sklon kalibračnej krivky.



**Obrázok 3** (A) Cyklický voltampérogram inzulínu v PBS a 0,1 M NaOH s koncentráciou 5  $\mu\text{M}$  (červená krivka), 4  $\mu\text{M}$  (oranžová krivka), 3  $\mu\text{M}$  (zelená krivka), 2  $\mu\text{M}$  (tyrkysová krivka), 1  $\mu\text{M}$  (modrá krivka) a 0,5  $\mu\text{M}$  (fialová krivka) inzulínu v rozsahu potenciálov od +0,2 V do +1,0 V. (B) Závislosť maximálnej hodnoty prúdu od koncentrácie inzulínu

Analytické parametre boli vypočítané aj na základe výsledkov CA meraní a porovnané s výsledkami získanými metódou CV. Prúdová odozva vykazovala rovnaký trend ako pri CV. CA stanovenie inzulínu prebiehalo v rozsahu koncentrácií od 0,5  $\mu\text{M}$  do 5  $\mu\text{M}$  a výsledky prúdovej odozvy boli fitované lineárnou funkciou ( $R^2 = 0,99$ ), aby bolo možné stanoviť analytické parametre modifikovanej elektródy. NiNPs-PPy-SPCE disponuje širokým lineárnym rozsahom (0,5  $\mu\text{M}$  až 5  $\mu\text{M}$ ), LOD je 38 nM a citlivosť elektródy je 3,98  $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ .

Ako posledné meranie na overenie spoľahlivosti NiNPs-PPy-SPCE pre analýzu v reálnych vzorkách boli vykonané merania vo vzorkách krvného séra. Ako je zobrazené na obrázku 4A, prítomnosť inzulínu možno deklarovať práve maximálnou hodnotou prúdu prislúchajúcou oxidácii inzulínu pri hodnote potenciálu  $E = +0,68\text{ V}$ , čo je približne rovnaká hodnota ako maximálna hodnotu prúdu prislúchajúca oxidácii inzulínu v roztoku PBS. Bol pozorovaný trend nárastu prúdovej odozvy so zvyšujúcou sa koncentráciou inzulínu vo vzorkách krvného séra. Tieto výsledky boli taktiež fitované lineárnou funkciou (obrázok 4B) s koeficientom determinácie  $R^2 = 0,99$ . Analytické parametre stanovenia inzulínu na NiNPs-PPy-SPCE v krvnom sére boli nasledovné: LOD = 44 nM a citlivosť = 5,96  $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ . Normálna hladina inzulínu v krvnom sére je 25 mIU  $\text{L}^{-1}$ , čo zodpovedá koncentrácií 0,86  $\mu\text{M}$  [9]. Na základe výsledkov, môžeme tvrdiť, že NiNPs-PPy-SPCE vykazuje vhodné analytické parametre na stanovenie inzulínu v krvnom sére.



**Obrázok 4 (A)** Cyklický voltampérogram oxidácie inzulínu v krvnom sére - 5  $\mu\text{M}$  inzulín v krvnom sére (červené krivka); 2,5  $\mu\text{M}$  inzulín v krvnom sére (žltá krivka), 0,5  $\mu\text{M}$  inzulín v krvnom sére (tyrkysová krivka), krvné sérum bez prídavku inzulínu (fialová krivka). **(B)** Závislosť maximálnej hodnoty prúdu od koncentrácie inzulínu

## Záver

Povrch SPCE bol modifikovaný rôznymi typmi polymérov – polypyrolom, polyanilínom a chitozánom v kombinácii s nanočasticami niklu. Povrch elektród bol analyzovaný pomocou SEM a EDX analýzy pre štúdium morfológie a chemického zloženia povrchu. Z výsledkov elektrochemických meraní vyplynulo, že elektróda NiNPs-PPy-SPCE poskytuje najlepšie vlastnosti na stanovenie inzulínu. NiNPs-PPy-SPCE bola dostatočne citlivá a selektívna na stanovenie inzulínu v roztoku fosfátového tlmivého roztoku, ale aj na stanovenie inzulínu v krvnom sére. Na základe výsledkov meraní je zrejmé, že povrch uhlíkovej elektródy pripravenej metódou sieťotlače bol úspešne modifikovaný vodivým polymérom a nanočasticami niklu na priame elektrochemické stanovenie inzulínu.

## PodĎakovanie

Táto práca vznikla vďaka podpore „NATO Science for Peace and Security Programme“ grantu č. G6106.

## Literatúra

- [1] SHEPA J. et al., 2021. Nio nanoparticles for electrochemical insulin detection. In: Sensors. Vol. 21, no. 15, p. 12–17. ISSN 1424-8220.
- [2] HOVANCOVÁ, J. et al., 2017. Nanomaterial-based electrochemical sensors for detection of glucose and insulin. In: Journal of Solid State Electrochemistry. Vol 21, p. 2147–2166. Electronic ISSN 1433-0798.
- [3] ŠIŠOLÁKOVA, I. et al., 2020. Zn Nanoparticles Modified Screen Printed Carbon Electrode as a Promising Sensor for Insulin Determination. In: Electroanalysis. Vol. 33, p. 627-634, Online ISSN: 1521-4109.
- [4] CHETAN, M. R. et al., 2018. What is type 1 diabetes?. In: Medicine (United Kingdom). Vol. 47, no. 1, p. 5–9. Linking ISSN 1357-3039.
- [5] HURTADO M. D., et al., 2019. What is type 2 diabetes?. In: Medicine (United Kingdom). Vol. 47, no. 1, p. 10–15, Linking ISSN 1357-3039.

- [6] REDDY, S. S. K. et al., 2020. Diabetes mellitus and its many complications. United Kingdom: Academic Press. ISBN 9780128206058.
- [7] STEFANSSON, E. et al., 2015. Public health and prevention of blindness in diabetes. In: International Journal of Diabetes Mellitus. Vol. 3, no. 1, p. 1–3, ISSN 18775934.
- [8] ŠIŠOLÁKOVÁ, I. et al., 2023. Polymer-based Electrochemical Sensor: Fast, Accurate, and Simple Insulin Diagnostics Tool. In: Electrocatalysis, Vol. 14, no. 0123456789, Electronic ISSN 1868-5994.
- [9] ŠIŠOLÁKOVÁ, I. et al., 2020. Electrochemical determination of insulin at CuNPs/chitosan-MWCNTs and CoNPs/chitosan-MWCNTs modified screen printed carbon electrodes. In: Journal of Electroanalytical Chemistry. Vol. 860, Online ISSN 1873-2569.
- [10] NEZAKATI, T. et al., 2018. Conductive Polymers: Opportunities and Challenges in Biomedical Applications. In: Chemical Reviews. Vol. 118, no. 14, p. 6766–6843. Linking ISSN: 0009-1665.

# SLAMF RECEPTORY U VLASATOBUNKOVEJ LEUKÉMIE

## *SLAMF receptors in hairy cell leukemia*

Dominik Křoc<sup>1</sup>, Šimon Salanci<sup>1</sup>, Ján Sýkora<sup>2</sup>, Tomáš Guman<sup>2</sup>, Slavomír Kurhajec<sup>3</sup>, Marek Šarišský<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Ústav farmakológie UPJŠ LF

<sup>2</sup>Klinika hematológie a onkohematológie UPJŠ LF a UNLP Košice

<sup>3</sup>Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky UVLF Košice

**Abstrakt:** Vlasatobunková leukémia (HCL) je zriedkavý typ B-bunkovej chronickej lymfoidnej leukémie charakterizovaný výraznou splenomegáliou a progresívnou pancytopeniou s incidenciou 2% zo všetkých leukémií. Diagnóza HCL je založená na cytológii a identifikácii špecifických antigénov pomocou prietokovej cytometrie s použitím anti-B-bunkových protilátok proti CD19, CD20 alebo CD22, ako aj protilátok špecifickejších pre HCL, ako napríklad CD11c, CD25, CD103 a CD123. Hľadanie a identifikácia nových špecifických antigénov exprimovaných patologickými HCL bunkami môže mať diagnostický, diferenciálne diagnostický, prognostický a potenciálny terapeutický význam. Jednými z takýchto antigénov môžu byť aj SLAMF (Signaling lymphocytic activation molecules family) receptory. Táto práca sa zaoberá analýzou expresie SLAMF receptorov na B bunkách pacientov s HCL.

**Kľúčové slová:** *SLAMF receptory, vlasatobunková leukémia, prietoková cytometria, imunofenotyp, B bunky*

**Abstract:** Hairy cell leukemia (HCL) is an uncommon B-cell chronic lymphoid leukemia characterized by prominent splenomegaly and progressive pancytopenia. It represents less than 2% of all leukemia diagnoses. Diagnosis of HCL relies on cytology examination and identification of specific antigens by flow cytometry. This typically involves anti-B cell antibodies targeting CD19, CD20, or CD22, alongside HCL-specific markers such as CD11c, CD25, CD103, and CD123. The identification of novel specific antigens expressed on malignant hairy cells holds significant promise for diagnostic, differential diagnostic, and potentially therapeutic applications. Signaling lymphocytic activation molecule family (SLAMF) receptors represent a potential class of such antigens. This study aims at analyzing the expression of SLAMF receptors on B-lymphocytes of patients with HCL.

**Keywords:** *SLAMF receptors, hairy cell leukemia, flow cytometry, immunophenotype, B cells*

## Úvod

Vlasatobunková leukémia (HCL z angl. „hairy cell leukemia“) je zriedkavé B-bunkové chronické lymfoproliferatívne ochorenie charakterizované splenomegáliou, pancytopeniou a postihnutím kostnej drene s fibrózou. Predstavuje 2% všetkých diagnostikovaných leukémií u dospelaj populácie. V Európe je diagnostikovaných približne 1600 nových prípadov ročne, s mediánom veku 52 rokov v čase diagnózy. HCL sa vyskytuje častejšie u mužov ako u žien a to v pomere približne 4:1 (Robak et al. 2015). Charakteristickým molekulárnym znakom ochorenia, prítomným u väčšiny prípadov (90 - 80%) ochorenia, je somatická mutácia génu BRAFV600E (Paillassa a Troussard 2020). Vo väčšine prípadov HCL sú pacienti asymptomatickí, s pancytopeniou náhodne objavenou pri rutinnom vyšetrení krvného obrazu. Ak sú symptomatickí, zvyčajne sa HCL prejavuje príznakmi súvisiacimi so zhoršujúcou sa pancytopeniou (únava, podliatiny, krvácanie z ďasiem, epistaxa, menorágia), splenomegáliou (plnosť brucha, nepríjemný pocit po jedle) a opakujúcimi sa infekciami. Medzi zriedkavé klinické prejavy patrí *polyarteritis nodosa*, kožná leukocytoklastická vaskulitída, alebo postihnutie centrálného nervového systému (Robak et al. 2021; Puła a Robak 2021). Na stanovenie diagnózy je rozhodujúca imunofenotypová analýza. Bunky HCL vykazujú fenotyp zrelej B-lymfocytov, ktoré silne exprimujú pan-B lymfocytové antigény CD19, CD20 a CD22 a antigény špecifické pre HCL bunky: CD11c, CD25, CD103 a CD123 (Troussard et al. 2022). Väčšina HCL tiež exprimuje anexín A1, ktorý nie je exprimovaný v žiadnom inom type novotvaru B buniek (Falini et al. 2004). Taktiež je veľmi dôležité rozlišovať medzi klasickou HCL a HCL podobnými

ochoreniami ako sú napr. variantná HCL (HCL-v) alebo SDRLP (splenic diffuse red pulp lymphoma). HCL-v je biologicky odlišná leukémia, ktorá má agresívnejší klinický priebeh ako klasická HCL. Jedným z najdôležitejších nástrojov na rozlíšenie klasickej a variantnej HCL je imunofenotyp. Na rozdiel od klasickej sú antigény CD25 a CD123 negatívne, ale CD11c je vždy pozitívny a CD103 je pozitívny u 2/3 prípadov HCL-v. U HCL-v chýba expresia aneínu A1 a mutácia génu BRAF600E, čo sú charakteristické znaky klasickej HCL (Robak 2011; Ali a Saven 2018). Liečba sa podáva len pacientom, ktorí sú symptomatickí. V prvolíniovej liečbe sa pacientom podáva kladribín alebo pentostatín, pri čiastočnej odpovedi v kombinácii s rituximabom. Pri relabovanom ochorení do 12 až 18 mesiacov sa podáva rituximab+kladribín alebo pentostatín, pri relapse po 12 až 18 mesiacoch od prvej liečby sa podáva kladribín alebo pentostatín. Pri refraktérnom ochorení sa doporučuje rituximab v kombinácii s fludarabínom, bendamustínom alebo sa samostatne podáva vemurafenib a moxetumomab pasudotox (anti-CD22+toxin PE38) (Robak et al. 2015). Aj napriek stále sa vyvíjajúcej liečbe ostáva HCL nevyliciteľným ochorením.

Hľadanie a identifikácia nových špecifických antigénov exprimovaných patologickými bunkami môže mať diagnostický, diferenciálne diagnostický, prognostický a potenciálny terapeutický význam. Jednými z takýchto antigénov môžu byť aj SLAMF (Signaling lymphocytic activation molecules family) receptory. SLAMF receptory sú súčasťou superrodiny imunoglobulínov (Ig) a pozostávajú z deviatich transmembránových glykoproteínov SLAMF1 (CD150), SLAMF2 (CD48), SLAMF3 (CD229), SLAMF4 (CD244), SLAMF5 (CD84), SLAMF6 (CD352), SLAMF7 (CD319), SLAMF8 (CD353) a SLAMF9 (CD84H1) (Detre et al. 2010). Sú zložené z extracelulárnych domén IgV a IgC2 s vysokou samoafinitou (selfligand) prostredníctvom väzby IgV-IgV. Na rozdiel od ostatných SLAMF receptorov, SLAMF2 a SLAMF4 nie sú selfligandy, ale viažu sa medzi sebou navzájom. Cytoplazmatický koniec receptora rodiny SLAM obsahuje imunoreceptorový prepínací motív ITSM (immunoreceptor tyrosine based switch motif) s homologickou sekvenciou aminokyselín TxYxxV/I/L/T, pri čom x predstavuje akúkoľvek inú aminokyselinu. ITSM má vysokú afinitu pre SH2 (Src Homology 2) doménu signálnych molekúl SAP (SLAM-associated protein) a EAT-2 (Ewing's sarcoma activated transcript-2) (Borowski a Bendelac 2005; Kiel et al. 2005). SLAMF receptory sú exprimované na väčšine hematopoetických buniek. Receptory rodiny SLAMF zohrávajú dôležitú úlohu v počiatkových aj v neskorších fázach hematopoézy. Slúžia ako adhézne molekuly na povrchu hematopoetických buniek a čiastočne kontrolujú určité vrodené a adaptívne imunitné mechanizmy. Väzbové páry receptor-ligand ovplyvňujú nielen reguláciu proliferácie, cytotoxicitu, produkciu cytokínov T lymfocytmi, ale tiež modulujú aktivitu MHC (Major Histocompatibility Complex) buniek, inhibičnú aktivitu NK (natural killer) buniek, aktiváciu B lymfocytov a generovanie imunitnej pamäte. Okrem toho majú vplyv aj na reguláciu prežívania neutrofilov, makrofágov a agregáciu krvných doštičiek (Detre et al. 2010; Ma et al. 2007).

Informácie o expresii SLAMF receptorov na patologických bunkách HCL sú obmedzené. U HCL je v literatúre popísaná pozitívna expresia len SLAMF1 a SLAMF3 receptora. Pozitívna expresia SLAMF1 receptora bola potvrdená v štúdií u štyroch pacientov s HCL zo siedmich (Sidorenko a Clark 2003) a SLAMF3 len u jedného pacienta z dvoch (De La Fuente et al. 2001). Expresia zvyšných SLAMF receptorov nie je u tejto diagnózy zatiaľ hlásená.

Cieľom našej práce je analýza expresie všetkých 9 SLAMF receptorov na patologických B-lymfocytoch vlasatobunkovej leukémie pomocou multiparametrickej viacfarebnej prietokovej cytometrie. Následne z analýzy expresie určiť význam rozdielov v expresii medzi zdravými a patologickými B-lymfocytmi pri diagnostike, diferenciálnej diagnostike a určiť potenciál SLAMF receptorov ako terapeutických cieľov monoklonových protilátok pri liečbe daného ochorenia.

## Pacienti a metódy

Vzorky kostnej drene boli odobraté na Klinike hematológie a onkohematológie UNLP Košice a UPJŠ LF od pacientov s diagnózou C91.4 (vlasatobunková leukémia) po získaní informovaného súhlasu. Štúdia bola realizovaná so súhlasom Etickej komisie UNLP Košice zo dňa 28.06.2021.

### Príprava vzorky a jej analýza

Po stanovení počtu leukocytov vo vzorkách počítaním v Bürkerovej komôrke boli leukocyty izolované metódou „bulk lýzy“ (BL) podľa protokolu EuroFlow (EuroFlow SOP for bulk lysis in MRD panels version 1.3). Finálna koncentrácia suspenzie izolovaných buniek bola upravená na  $1 \times 10^6$  buniek/100  $\mu$ l. Pre značenie povrchových antigénov bol použitý postup „značenie-premývanie-meranie“. Vzorky izolovaných buniek ( $1 \times 10^6$  buniek/100  $\mu$ l) boli označené pomocou kombinácií monoklonových protilátok tzv. B-CLPD („B-cell chronic lymphoproliferative disorders“) panelu uvedených v Tab.1. Po 15 min. inkubácii buniek s monoklonovými protilátkami boli vzorky premyté v PBS/BSA/EDTA/NaN<sub>3</sub> a následne resuspendované v 100  $\mu$ l PBS/BSA/EDTA. Takto spracovaná vzorka bola analyzovaná multiparametrickou prietokovou cytometriou s využitím prietokového cytometra Navios EX (Beckman Coulter, USA). Nastavenie a monitorovanie prietokového cytometra bolo vykonávané pomocou Flow-Set Pro a Flow-Check Pro (Beckman Coulter, USA) fluorosfér s použitím cieľových hodnôt ClearLLab pre prietokový cytometer Navios EX. Namerané dáta boli analyzované pomocou softvéru Infinicyt v.2.0.5.b.009 (Cytognos, Španielsko) a bola stanovená imunofenotypová diagnóza ochorenia v súlade s WHO-HAEM5 klasifikáciou (Alaggio et al. 2022).

### Analýza expresie povrchových SLAMF receptorov

Po stanovení diagnózy HCL bola vyššie uvedenou metódou pomocou prietokovej cytometrie analyzovaná expresia jednotlivých SLAMF receptorov u zdravých a patologických B buniek. Pre stanovenie expresie SLAMF receptorov bola vytvorená 8-farebná kombinácia protilátok (SLAMF panel), ktorá okrem anti-SLAMF protilátok zahŕňa markery potrebné na odlíšenie základných leukocytárnych populácií, vrátane základných subpopulácií B- a T-lymfocytov (Tab. 2), a zdravých a patologických B buniek. Titer všetkých použitých monoklonálnych protilátok bol stanovený experimentálne pred začiatkom štúdie. Expresia SLAMF receptorov bola vyjadrená ako: 1) prítomnosť alebo neprítomnosť analyzovaných antigénov a 2) intenzita expresie antigénov v zmysle mediánovej intenzity fluorescencie (MFI, „median fluorescence intensity“) vyjadrenej vo forme relatívnych lineárnych arbitrárnych kanálových jednotiek škálovaných v rozsahu od 0 do  $1 \times 10^6$  u značených buniek po odčítaní MFI kontrolných neznačených buniek z rovnakej vzorky. Fluorescencia PE-konjugovaných protilátok proti SLAMF receptorom bola detegovaná vo fluorescencnom kanáli FL2.

### Štatistická analýza výsledkov

Získané výsledky boli analyzované pomocou štatistického softvéru SPSS Statistics (IBM, USA) s využitím non-parametrického Mann-Whitney U testu.

**Tab. 3:** B-CLPD („B-cell chronic lymphoproliferative disorders“) panel

SKÚMAVKA	FLUOROCHRÓM							
	PB	KO	FITC	PE	PC5.5	PC7	APC	APC-A750
1	CD4+CD20	CD45	CD8+Ig $\lambda$	CD56+Ig $\kappa$	CD5	CD19+TCR $\gamma\delta$	CD3	CD38
2	CD20	CD45	CD23	CD10	CD79b	CD19	CD200	CD43
3	CD20	CD45	CD31	CD305	CD11c	CD19	IgM	CD81
4	CD20	CD45	CD103	CD95	CD22	CD19	CD185	CD49d
5	CD20	CD45	CD62L	CD39	HLADR	CD19	CD27	

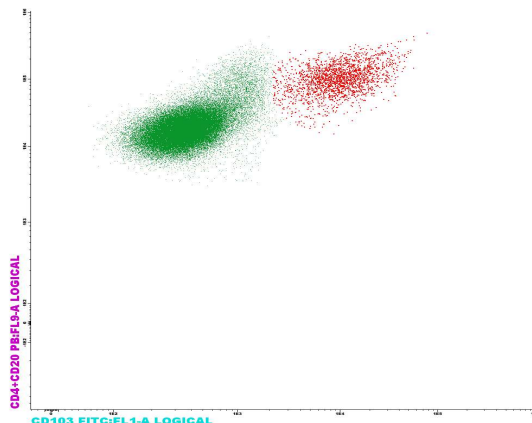
Zdroj: van Dongen et al. 2012

**Tab. 2:** SLAMF panel.

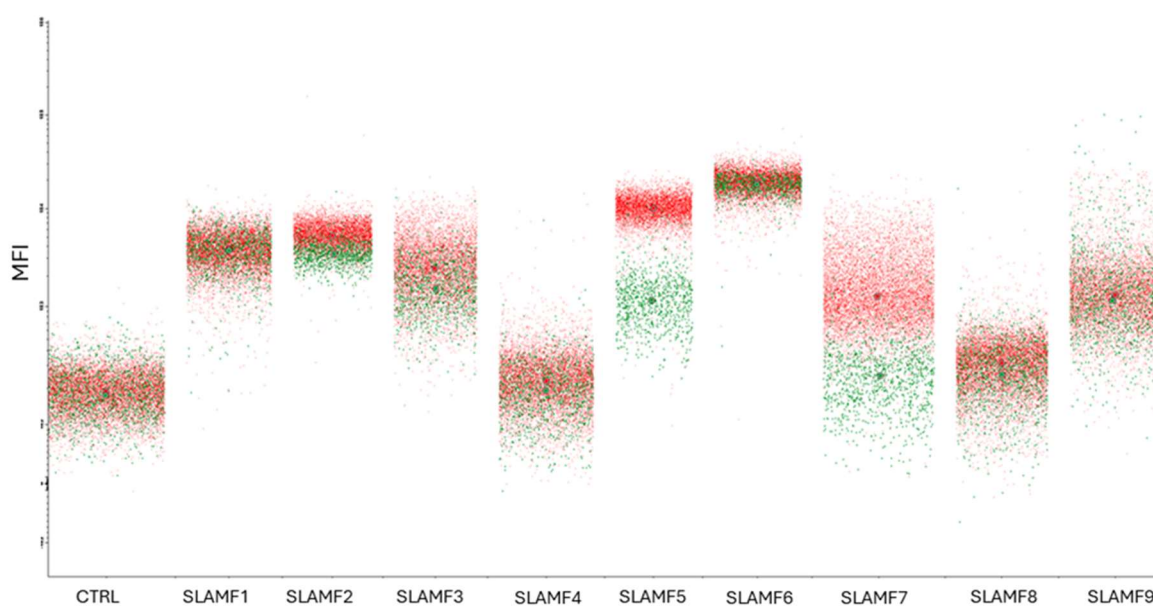
SKÚMAVKA	FLUOROCHRÓM									
	PB	KO	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750
1	CD4+CD20	CD45	-	CTRL	-	CD5	CD10	CD3	CD19	CD8
2-10	CD4+CD20	CD45	-	SLAMF1-9	-	CD5	CD10	CD3	CD19	CD8

## Výsledky a diskusia

V tejto práci boli analyzované 4 vzorky biologického materiálu (KD) od pacientov s HCL. Diagnóza HCL bola stanovená pomocou prietokovej cytometrie s nálezom imunofenotypu typického pre HCL (t.j. CD103+, CD25+, CD305+, CD11c+) (Obr. 1). Následnou analýzou vzorky pomocou SLAMF panela boli určené expresné vzorce SLAMF receptorov na zdravých a patologických B-lymfocytoch (Obr.2.)



**Obr1.** Identifikácia zdravých B-lymfocytov a patologických HCL B-lymfocytov v reprezentatívnej vzorke KD pacienta s HCL. Zelená – CD103-negatívne zdravé B-lymfocyty, červená – CD103-positívne HCL B-lymfocyty vykazujúce zvýšenú expresiu CD20.

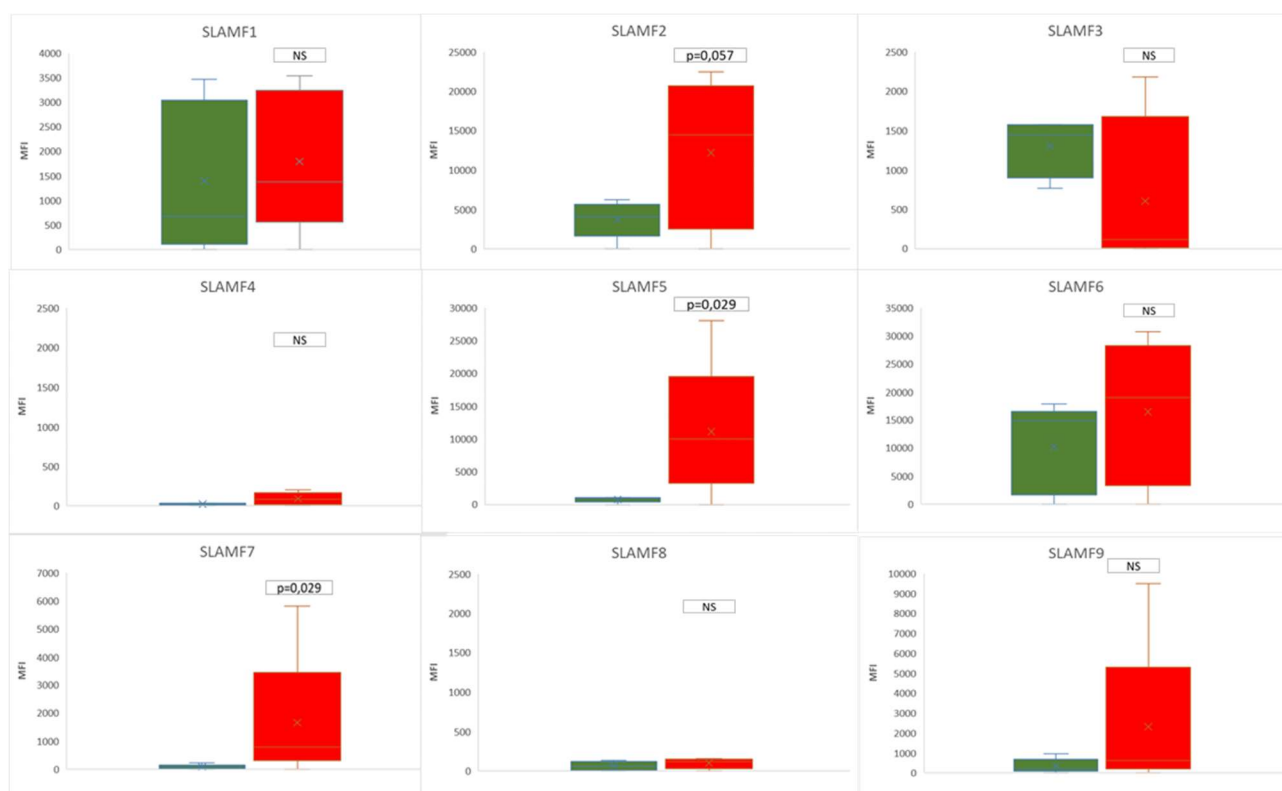


**Obr.2** Analýza expresie SLAMF receptorov na zdravých a patologických B bunkách v reprezentatívnej vzorke KD pacienta s HCL. Zelená farba – zdravé bunky, červená farba – patologické bunky

Zistili sme, že patologické HCL B bunky vykazujú alterácie v expresii troch SLAMF receptorov. V porovnaní so zdravými B bunkami vykazovali patologické HCL B bunky zvýšenú expresiu SLAMF2 (), SLAMF5 (), a SLAMF7 (). U zvyšných SLAMF receptorov neboli pozorované štatisticky významné rozdiely. Výsledky štatistickej analýzy sú limitované nízkym počtom pacientov v štúdiu. Pri iných hematologických malignitách ako chronická lymfocytová leukémia (CLL) je upregulácia SLAMF5 receptora spájaná so zvýšeným preživaním patologických buniek (Binsky-Ehrenreich et al. 2014). Zároveň interakcia SLAMF5 na CLL bunkách so SLAMF5 na bunkách v nádorovom mikroprostredí viedla k preživaniu oboch interagujúcich buniek (Marom et al. 2017). Interakcie medzi bunkami sprostredkované SLAMF5 upregulujú expresiu PD-L1 v CLL bunkách a expresiu PD-1 v T bunkách. To vedie k vyčerpaniu T buniek a potlačeniu ich aktivity (Lewinsky et al. 2018). Podobne zvýšená expresia SLAMF5 na HCL bunkách môže súvisieť aj s preživaním HCL buniek. Blokáda tejto interakcie pomocou monoklonových protilátok by mohla

predstavovať sľubnú terapeutickú stratégiu. Expresia SLAMF7 je upregulovaná na B bunkách, ktoré sú stimulované rôznymi stimulátormi. Anti-SLAMF7 monoklonová protilátka silne zvýšila proliferáciu B buniek, najmä keď boli aktivované anti-CD40 monoklonálnymi protilátkami a/alebo ľudským rekombinantným IL-4. Ukázalo sa, že SLAMF7 ovplyvňuje degranulačnú aktivitu NK buniek (von Wenserski et al. 2021). Po naviazaní anti-SLAMF7 monoklonovej na patologické bunky, sú tieto bunky rozpoznané NK bunkami a dôjde k uvoľneniu granzýmu a vyvolaniu ADCC (antibody-dependent cellular cytotoxicity). SLAMF7 je terapeutickým cieľom už registrovanej monoklonovej protilátky elotuzumab určenej na terapiu mnohopočetného myelómu. Patologické bunky mnohopočetného myelómu taktiež nadmerne exprimujú SLAMF7 receptor (Hsi et al. 2008). Tieto zistenia naznačujú že SLAMF7 môže predstavovať sľubný terapeutický cieľ aj pri iných hematologických malignitách nadmerne exprimujúcich SLAMF7, vrátane HCL.

**Graf 1:** Porovnanie expresie SLAMF receptorov na zdravých a patologických bunkách HCL



Popis: Zelená farba - zdravé B lymfocyty, červená farba - patologické HCL bunky

## Záver

V tejto práci sme analyzovali expresiu všetkých 9 SLAMF receptorov na patologických B-lymfocytoch vlasatobunkovej leukémie pomocou multiparametrickej viacfarebnej prietokovej cytometrie. Signifikantne zvýšenú expresiu na patologických bunkách v porovnaní so zdravými bunkami sme pozorovali u dvoch receptorov: SLAMF5 a SLAMF7. Zvýšená expresia týchto receptorov môže pomôcť k identifikácii patologických HCL buniek a môžu slúžiť ako antigény určené k diagnostike HCL prípadne k odlišeniu HCL od HCL podobných ochorení. Taktiež antigény, ktoré sú overexprimované na patologických bunkách, by mohli slúžiť ako potenciálne ciele pre terapeutické monoklonové protilátky. Vyššie uvedené dáta sú predbežné výsledky pilotnej štúdie. Ďalší výskum je potrebný pre podrobnejšiu analýzu expresie SLAMF receptorov u HCL.

## Podakovanie

Táto práca vznikla s podporou projektov VVGS-2023-2747 a VEGA 1/0617/22.



## Literatúra

- ALAGGIO, R. et al., 2022. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* [online]. 2022, roč. 36, č. 7, s. 1720–1748. ISSN 1476-5551. Dostupné na: doi:10.1038/s41375-022-01620-2
- ALI, S. a SAVEN, A., 2018. Hairy cell leukemia. *Neoplastic Diseases of the Blood* [online]. 2018, s. 135–152. Dostupné na: doi:10.1007/978-3-319-64263-5\_10
- BINSKY-EHRENREICH, I. et al., 2014. CD84 is a survival receptor for CLL cells. *Oncogene* [online]. 2014, roč. 33, č. 8, s. 1006–1016. ISSN 09509232. Dostupné na: doi:10.1038/onc.2013.31
- BOROWSKI, C. a BENDELAC, A., 2005. Signaling for NKT cell development: The SAP-FynT connection. *Journal of Experimental Medicine* [online]. 2005, roč. 201, č. 6, s. 833–836. ISSN 00221007. Dostupné na: doi:10.1084/jem.20050339
- DE LA FUENTE, M.A. et al., 2001. Molecular characterization and expression of a novel human leukocyte cell-surface marker homologous to mouse Ly-9. *Blood* [online]. 2001, roč. 97, č. 11, s. 3513–3520. ISSN 00064971. Dostupné na: doi:10.1182/blood.V97.11.3513
- DETRE, C. et al., 2010. SLAM family receptors and the SLAM-associated protein (SAP) modulate T cell functions. *Seminars in Immunopathology* [online]. 2010, roč. 32, č. 2, s. 157–171. ISSN 18632297. Dostupné na: doi:10.1007/s00281-009-0193-0
- FALINI, B. et al., 2004. Simple diagnostic assay for hairy cell leukaemia by immunocytochemical detection of annexin A1 ( ANXA1 ) For personal use . Only reproduce with permission from The Lancet Publishing Group . *The Lancet*. 2004, roč. 1, s. 1869–1871.
- HSI, E.D. et al., 2008. CS1, a potential new therapeutic antibody target for the treatment of multiple myeloma. *Clinical Cancer Research* [online]. 2008, roč. 14, č. 9, s. 2775–2784. ISSN 10780432. Dostupné na: doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4246
- KIEL, M.J. et al., 2005. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell* [online]. 2005, roč. 121, č. 7, s. 1109–1121. ISSN 00928674. Dostupné na: doi:10.1016/j.cell.2005.05.026
- LEWINSKY, H. et al., 2018. CD84 regulates PD-1/PD-L1 expression and function in chronic lymphocytic leukemia. *Journal of Clinical Investigation* [online]. 2018, roč. 128, č. 12, s. 5479–5488. ISSN 15588238. Dostupné na: doi:10.1172/JCI96610
- MA, C.S., NICHOLS, K.E. a TANGYE, S.G., 2007. Regulation of cellular and humoral immune responses by the SLAM and SAP families of molecules. *Annual Review of Immunology* [online]. 2007, roč. 25, s. 337–379. ISSN 07320582. Dostupné na: doi:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141651
- MAROM, A. et al., 2017. CD84 mediates CLL-microenvironment interactions. *Oncogene* [online]. 2017, roč. 36, č. 5, s. 628–638. ISSN 14765594. Dostupné na: doi:10.1038/onc.2016.238
- PAILLASSA, J. a TROUSSARD, X., 2020. Biology and Treatment of Hairy Cell Leukemia. *Current Treatment Options in Oncology* [online]. 2020, roč. 21, č. 6. ISSN 15346277. Dostupné na: doi:10.1007/s11864-020-00732-0
- PUŁA, A. a ROBAK, T., 2021. Hairy cell leukemia: a brief update on current knowledge and treatment prospects. *Current Opinion in Oncology* [online]. 2021, roč. 33, č. 5. ISSN 1040-8746.

Dostupné na: [https://journals.lww.com/oncology/fulltext/2021/09000/hairy\\_cell\\_leukemia\\_\\_a\\_brief\\_update\\_on\\_current.5.aspx](https://journals.lww.com/oncology/fulltext/2021/09000/hairy_cell_leukemia__a_brief_update_on_current.5.aspx)

ROBAK, E., JESIONEK-KUPNICKA, D. a ROBAK, T., 2021. Skin changes in hairy cell leukemia. *Annals of Hematology* [online]. 2021, roč. 100, č. 3, s. 615–625. ISSN 14320584. Dostupné na: doi:10.1007/s00277-020-04349-z

ROBAK, T., 2011. Hairy-cell leukemia variant: Recent view on diagnosis, biology and treatment. *Cancer Treatment Reviews* [online]. 2011, roč. 37, č. 1, s. 3–10. ISSN 03057372. Dostupné na: doi:10.1016/j.ctrv.2010.05.003

ROBAK, T. et al., 2015. Hairy cell leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* [online]. 2015, roč. 26, č. August, s. v100–v107. ISSN 15698041. Dostupné na: doi:10.1093/annonc/mdv200

SIDORENKO, S.P. a CLARK, E.A., 2003. The dual-function CD 150 receptor subfamily: The viral attraction. *Nature Immunology* [online]. 2003, roč. 4, č. 1, s. 19–24. ISSN 15292908. Dostupné na: doi:10.1038/ni0103-19

TROUSSARD, X., MAÎTRE, E. a CORNET, E., 2022. Hairy cell leukemia 2022: Update on diagnosis, risk-stratification, and treatment. *American journal of hematology* [online]. 2022, roč. 97, č. 2, s. 226–236. ISSN 1096-8652 (Electronic). Dostupné na: doi:10.1002/ajh.26390

VAN DONGEN, J.J.M. et al., 2012. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* [online]. 2012, roč. 26, č. 9, s. 1908–1975. ISSN 1476-5551 (Electronic). Dostupné na: doi:10.1038/leu.2012.120

VON WENSERSKI, L. et al., 2021. SLAMF receptors negatively regulate B cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia via recruitment of prohibitin-2. *Leukemia* [online]. 2021, roč. 35, č. 4, s. 1073–1086. ISSN 1476-5551 (Electronic). Dostupné na: doi:10.1038/s41375-020-01025-z

# ÚLOHA KYSELINY HYALURÓNOVEJ V RECEPTIVITE ENDOMETRIA

## *Role of hyaluronic acid in endometrial receptivity*

Eva Kriváková, Miroslava Rabajdová

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej biochémie

**Abstrakt:** Neplodnosť je celosvetový problém, ktorý postihuje viac ako 48 miliónov párov na celom svete. Napriek rozsiahlemu výskumu zostáva úspešnosť implantácie embrya počas procesu oplodnenia *in vitro* (IVF, *in vitro* fertilizácia) suboptimálna. Ako neplodnosť a prirodzené počatie, tak aj proces asistovanej reprodukcie je multifaktorálny proces, ktoré ovplyvňuje mnoho faktorov. Za úspešné piliere IVF považujeme výber vhodných spermií, zrelosť vajíčok, embryo s najväčším implantačným potenciálom, vnímavé, receptívne endometrium-výstelka maternice ženy a samotný proces embryotransféru. Kľúčovú úlohu v interakcii medzi endometriom a embryom zohrávajú glykozaminoglykány prítomné na povrchu epitelových buniek embrya aj endometria. Medzi týmito glykozaminoglykánmi je hlavnou zložkou kyselina hyaluronová (HA, hyaluronic acid). Analýza endometria maternice u žien v procese umelého oplodnenia poukázala na rozdiely v metabolizme HA medzi ženami s receptívnym, po úspešnej implantácii embrya a nereceptívnym endometriom, po neúspešnej implantácii embrya.

**Kľúčové slová:** *endometrium, receptivita, kyselina hyaluronová, extracelulárna matrix, neplodnosť*

**Abstract:** Infertility is a global problem affecting more than 48 million couples worldwide. Despite extensive research, the success of embryo implantation during the *in vitro* fertilization (IVF, *in vitro* fertilisation) process remains suboptimal. Like infertility and natural conception, the process of assisted reproduction is a multifactorial process that is influenced by many factors. We consider the selection of suitable sperm, the maturity of the eggs, the embryo with the greatest implantation potential, the receptive endometrium - the lining of the woman's uterus, and the embryo transfer process itself to be the pillars of successful IVF. Glycosaminoglycans present on the surface of the epithelial cells of both the embryo and the endometrium play a key role in the interaction between the endometrium and the embryo. Among these glycosaminoglycans, hyaluronic acid (HA, hyaluronic acid) is the main component. Analysis of the endometrium of the uterus in women undergoing artificial insemination showed differences in HA metabolism between women with receptive endometrium after successful embryo implantation and non-receptive endometrium after unsuccessful embryo implantation.

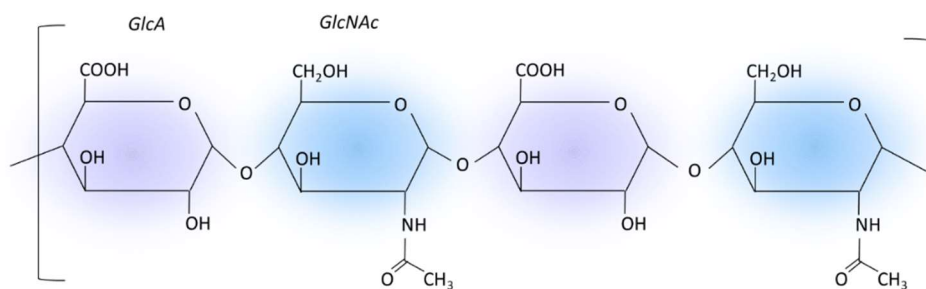
**Keywords:** *endometrium, receptivity, hyaluronic acid, extracellular matrix, infertility*

## Receptivita endometria a kyselina hyaluronová

Jedným zo základných predpokladov úspešnej *in vitro* fertilizácie (IVF, *in vitro* fertilizácia) je tzv. endometriálna vnímavosť. Zlyhanie implantácie embrya v dôsledku nevnímavého, nereceptívneho endometria zostáva stále nevyriešeným problémom reprodukčnej medicíny. Percento úspešne implantovaných embryí sa pohybuje medzi 29-55 % v závislosti od typu zvolenej techniky asistovanej reprodukcie. Štandardná metóda posúdenia receptivity endometria je histologické posúdenie odobratej vzorky endometria, čo viedlo často k vzniku asynchronie vývoja sliznice v priebehu stimulovaných cyklov IVF. Receptivita endometria je priestorovo obmedzený jav, ktorý sa vyskytuje iba v obmedzenom časovom období (24 h) sekrečnej fázy menštruačného cyklu a je zatiaľ z nevyvetliteľných príčin najcitlivejším dejom procesu oplodnenia. Prekvapivo, patologické mechanizmy tohto javu sú stále väčšinou neznáme, čo vedie ku kritickej prekážke pre vývoj účinných terapií. Najaktuálnejšie testované terapeutické prístupy zahŕňajú aplikáciu aditív do embryonálnej kultúry alebo vnútro maternicový výplach s faktormi podporujúcimi adhéziu, o ktorých sa predpokladá, že zvyšujú rýchlosť implantácie, najmä pri opakovanom implantačnom zlyhaní. Proces implantácie zahŕňa komplexný sled signálnych dejov, ktorý pozostáva zo zvýšenia expresie adhézných ligandov spolu so stratou inhibičných zložiek, ktoré sú kľúčové pre vznik gravidity. Interakcia medzi embryonálnym trofektodermom a lumenálnym maternicovým epitelom je

regulovaná komplexnými molekulovými a biochemickými zmenami na rozhraní embryo-endometrium. Súčasné štúdie zamerané na endometriálnu vnímavosť došli k záverom, že nesprávna exprimácia konkrétnych molekúl, či už vo zvýšenej alebo zníženej miere často vedie k poruchám receptivity. Dochádza k posunu implantačného okna, alebo v horšom prípade k jeho zániku. Jedným z doposiaľ najmenej skúmaných procesov vzťahu receptivity endometria je profilovanie génovej expresie a analýza prítomnosti kyseliny hyalurónovej (HA, hyaluronic acid) a kľúčového HA receptora CD44 na povrchu endometria.

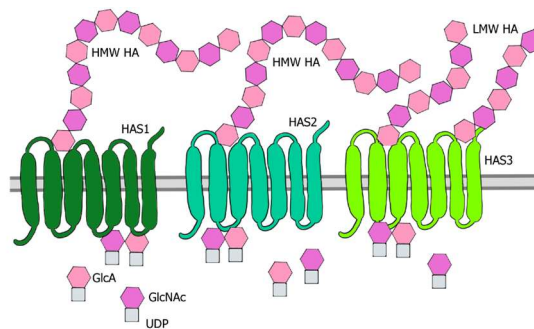
Extracelulárna matrix (ECM, extracellular matrix) je trojdimenzionálna štruktúra tvorená predovšetkým proteoglykanmi, ktoré vytvárajú štruktúru pomáhajúcu adhezii buniek. ECM prechádza výraznými zmenami charakteristickými pre jednotlivé fázy menštruačného cyklu. (Sillem, 1998; Zambuto *et al.*, 2022). HA je unikátny lineárny polysacharid, ktorý tvorí veľkú časť ECM naprieč všetkými tkanivami v ľudskom tele. Je to glykozaminoglykán tvorený opakovaním disacharidových jednotiek (Obr.1) N-acetylglukosaminoglykán (GlcNAc) a kyseliny glukurónovej (GlcA).



**Obrázok 4 Štruktúra HA.** Lineárny polysacharid tvoria opakujúce sa disacharidové podjednotky GlcA a GlcNAc.

HA je produkovaná pomocou syntázy HA (HAS, hyaluronan synthase), čo je enzým, ktorého sú známe tri izoformy (HAS1, HAS2, HAS3). Sú to membránové glykozyly-transferázy (Obr.2), ktoré z intracelulárneho substrátu GlcA a GlcNAc tvoria extracelulárne reťazce HA. Vo všeobecnosti platí, že HAS1 a HAS2 produkujú HA o vysokej molekulovej hmotnosti (HMW HA), zatiaľ čo HAS3 produkuje hlavne reťazce o nízkej molekulovej hmotnosti (LMW HA) (Itano *et al.*, 1999; Misra *et al.*, 2015; Fouladi-Nashta *et al.*, 2017).

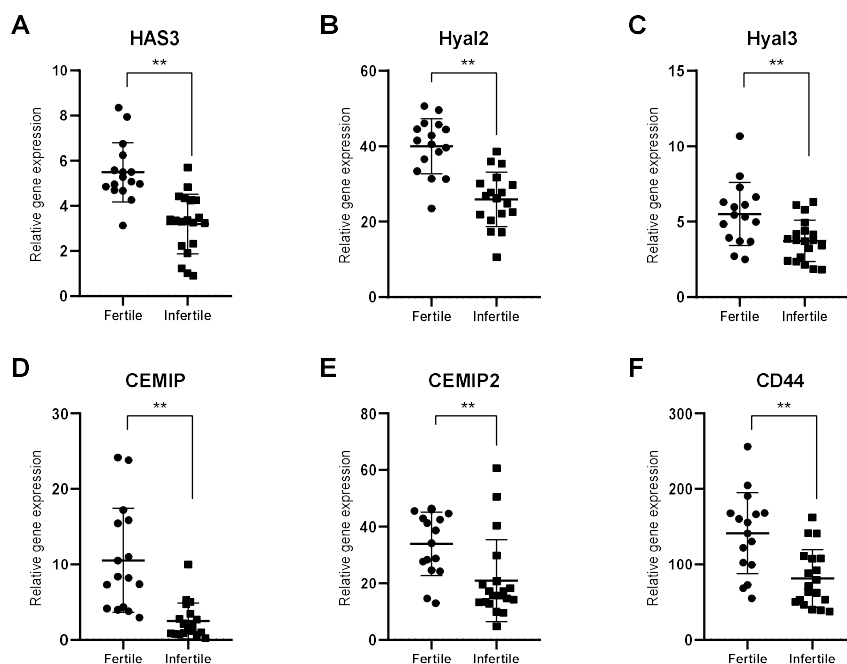
Z ECM molekúl, má HA najrýchlejší obrat v organizme, čo si okrem rýchlej syntézy vyžaduje taktiež rýchlu degradáciu. Tá je zabezpečovaná pomocou enzýmov hyaluronidáz (Hyal) napr. Hyal1 a Hyal2. Nedávno však boli objavené ďalšie proteíny a to CEMIP a CEMIP2, ktoré vykazujú taktiež HA degradačnú aktivitu (Misra *et al.*, 2015; Triggs-Raine, 2015).



**Obrázok 5 Schématické znázornenie produkcie HA.** HA je syntetizovaná membránovo-viazanými enzýmami HAS za využitia intracelulárnych UDP-GlcA a UDP-GlcNAc ako substrátov. HAS1 a HAS2 produkujú HA o vysokej molekulovej hmotnosti a HAS3 produkuje HA o nízkej molekulovej hmotnosti.

Na základe analýz verejne dostupných sekvenčných dát z GEO databázy (Obr. 3) sme zistili, že sú prítomné štatisticky významné rozdiely v expresii génov HA metabolizmu medzi ženami po úspešnej (receptívne endometrium) a neúspešnej (nereceptívne endometrium) implantácii embrya v procese IVF, pričom vo všeobecnosti dochádza k utlmeniu HA metabolizmu u žien s nereceptívnym

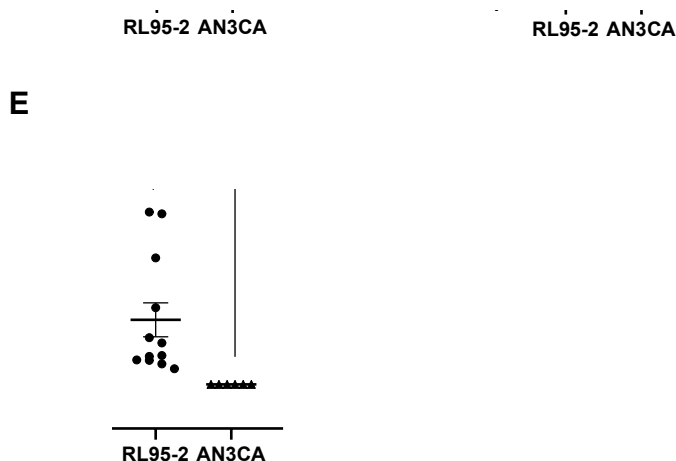
endometriom. Je znížená expresia génov pre HA syntézu (Obr.3A) degradačné enzýmy (Obr. 3B-E) a tiež pre HA receptor (Obr. 3F).



**Obrázok 6** Relatívna génová expresia vo vzorkách endometria žien podstupujúcich IVF pred implantáciou embrya. Ženy s receptívnym endometriom (fertile) sú ženy, u ktorých implantácia embrya bola úspešná a ženy s nereceptívnym endometriom (infertile) sú ženy s neúspešnou implantáciou embrya. Uvedené sú gény zodpovedné za syntézu HA (A), degradáciu HA (B-E) a gén pre HA receptor (F). Pre štatistické hodnotenie bol použitý nepárový t-test, \* < 0.05, \*\* < 0.01. Verejne dostupné RNA sekvenčné dáta z GEO databázy (GSE106602) boli analyzované pomocou GEO2R.

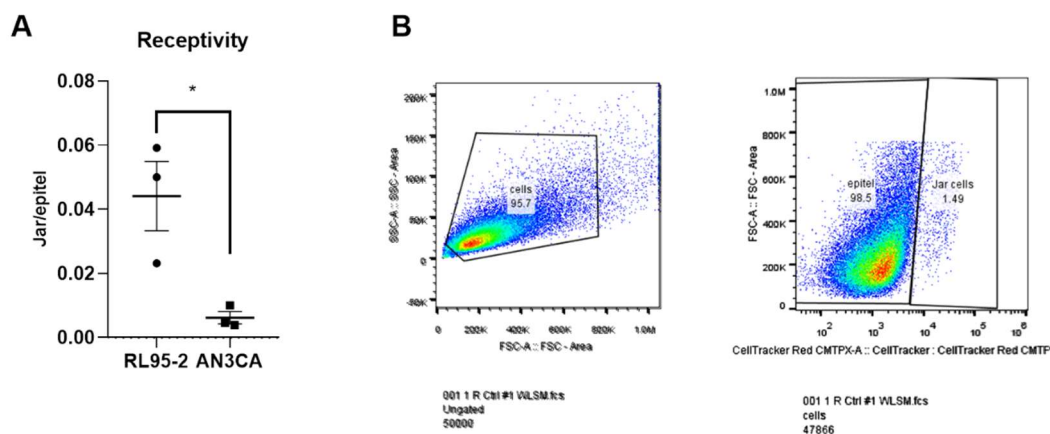
Vzhľadom na etické aspekty výskumu v oblasti reprodukcie, je však vhodné využívať *in vitro* modely. Na základe dostupnej literatúry boli vybrané endometriálne epiteliálne línie, ktoré sú považované za model pre receptívne (RL95-2) a nereceptívne (AN3CA) endometrium. Receptivita v tomto prípade je definovaná ako schopnosť týchto bunkových línií adherovať na seba trofoblastovú bunkovú líniu (Jar), ktorá predstavuje *in vitro* model povrchu embrya.

V predkladanej práci bola detekovaná expresia mRNA génov špecifických v metabolizme HA a prítomnosť povrchovej exprimácie HA v predmetných dvoch endometriálnych epiteliálnych líniách pomocou metódy kvantitatívnej Real-Time-PCR. Boli pozorované zmeny, v nereceptívnej AN3CA bunkovej línii oproti receptívnej RL95-2 bunkovej línii a to: znížená expresia špecifických génov (HAS3, Hyal2, CEMIP, CEMIP2) zodpovedných za HA metabolizmus a tiež neexprimácia CD44, čo je primárnym receptorom pre HA. Detekované zmeny expresie mRNA endometriálnych epiteliálnych línií (Obr. 4) korelovala s analýzou expresie mRNA špecifických génov u žien s receptívnym a nereceptívnym endometriom (Obr. 3).



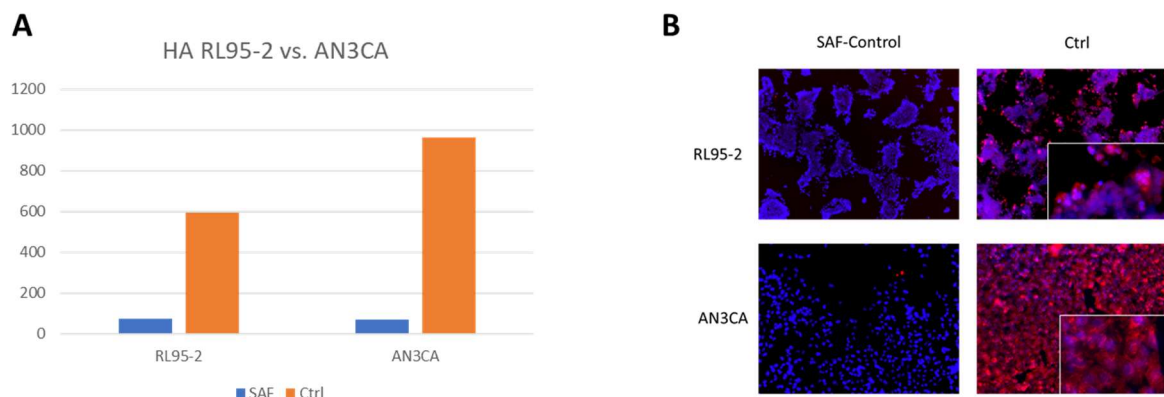
**Obrázok 7** Relatívna expresia génov HA metabolizmu a HA receptoru endometriálnych epiteliálnych bunkových línií. Uvedené sú gény pre HA syntézu (A), HA degradáciu (B-D) a gén pre HA receptor (E). Pre štatistické hodnotenie bol použitý nepárový t-test, \* <math><0.05</math>, \*\* <math><0.01</math>.

Rovnako bola charakterizovaná receptivita bunkových línií v interakcií k bunkám Jar pomocou funkčného testu receptivity za využitia prietokovej cytometrie. Pomocou funkčného testu receptivity boli analyzované dve endometriálne epiteliálne línie a bola potvrdená rozdielna miera ich receptivity, ako je možné pozorovať na obrázku č.5.



**Obrázok 8** Funkčný test vnímavosti endometriálnych epiteliálnych bunkových línií. Porovnanie receptivity RL95-2 a AN3CA buniek k Jar bunkám (A) a gating-strategy použité pri vyhodnocovaní funkčného testu vnímavosti pomocou prietokovej cytometrie (B). Pre štatistické hodnotenie bol použitý nepárový t-test, \* <math><0.05</math>.

Okrem expície génov pre HA metabolizmus a receptor CD44 bola analyzovaná aj prítomnosť HA na povrchu buniek pomocou prietokovej cytometrie a fluorescenčnej mikroskopie. Receptívne RL95-2 bunky obsahovali na svojom povrchu menej HA (Obr. 6) aj napriek tomu, že majú vyššiu expresiu HAS3 ako nereceptívne AN3CA bunky. Zmena kvantifikácie, môže byť spôsobená práve vysokou expresiou degradačných enzýmov (Hyal2, CEMIP, CEMIP2) u RL95-2 línie, ktoré vyprodukovaný HA následne hneď degradujú.



**Obrázok 9 Prítomnosť HA na povrchu endometriálnych epiteliálnych bunkových línií.** Prítomnosť povrchového HA bola detekovaná pomocou prietokovej cytometrie (A) a pomocou fluorescenčnej mikroskopie (B) za využitia biotin-HABP a streptavidin-AlexaFluor647.

modrá (DAPI) – jadrá; červená (bHABP-SAF647) – HA.

Na základe výsledkov predkladanej pilotnej štúdie je možné predpokladať, že kvantifikovateľné vysoké množstvo HA na povrchu endometria matrice predstavuje fyzickú prekážku pre implantáciu embrya, čo je v súlade aj s informáciami z dostupnej literatúry (Marei *et al.*, 2017). Túto hypotézu podporujú aj preliminárne výsledky účinku 4-metylnbeliferonu (4MU), inhibítora syntézy HA (Nagy *et al.*, 2015), na receptivitu RL95-2 a AN3CA. V oboch prípadoch utlmenie metabolizmu HA pomocou 4MU detekovateľne stimulovalo receptivitu epiteliálnych buniek v koncentračnej závislosti, ako je zobrazené na obrázku č.7 (Obr. 7).

**Obrázok 10 Vplyv 4MU na receptivitu endometriálnych epiteliálnych línií.** Receptivita bunkových línií bola analyzovaná pomocou funkčného testu vnímavosti po 24h po ovplyvnení buniek 4MU. Výsledky sú vyobrazené ako pomer Jar buniek a epiteliálnych, teda RL95-2 (A) a AN3CA (B) buniek.

## Záver

HA ako hlavná zložka ECM zohráva významnú úlohu v procese receptivity endometria a teda modulácia jej metabolizmu by mohla byť potenciálne vhodnou terapeutickou indikáciou v procese liečby nereceptívneho endometria. V súčasnej dobe však nie je dostatočne preskúmaný mechanizmus, ktorým HA reguluje receptivitu endometria, avšak poznatky z literatúry a rovnako výsledky predkladanej štúdie naznačujú, že práve degradácia nadbytočného množstva HA by mohla byť potenciálne účinnou terapiou nereceptivity endometria. Predbežné hypotézy budú v blízkej budúcnosti rozpracované a overené napríklad aj pomocou prípravy overexprimujúcich či downregulovaných klonov bunkových línií pre jednotlivé gény HA metabolizmu.

## Literatúra

Fouladi-Nashta, A.A. *et al.* (2017) 'Regulation and roles of the hyaluronan system in mammalian reproduction', *Reproduction*, 153(2), pp. R43–R58. Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-16-0240>.

Itano, N. *et al.* (1999) 'Three Isoforms of Mammalian Hyaluronan Synthases Have Distinct Enzymatic Properties', *Journal of Biological Chemistry*, 274(35), pp. 25085–25092. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.35.25085>.

Marei, W.F.A. *et al.* (2017) 'Influence of hyaluronan on endometrial receptivity and embryo attachment in sheep', *Reproduction, Fertility and Development*, 29(9), p. 1763. Available at: <https://doi.org/10.1071/RD16232>.

Misra, S. *et al.* (2015) 'Interactions between Hyaluronan and Its Receptors (CD44, RHAMM) Regulate the Activities of Inflammation and Cancer', *Frontiers in Immunology*, 6. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00201>.

Nagy, N. *et al.* (2015) '4-Methylumbelliferone Treatment and Hyaluronan Inhibition as a Therapeutic Strategy in Inflammation, Autoimmunity, and Cancer', *Frontiers in Immunology*, 6. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00123>.

Sillem, M. (1998) 'Extracellular matrix remodelling in the endometrium and its possible relevance to the pathogenesis of endometriosis', *Human Reproduction Update*, 4(5), pp. 730–735. Available at: <https://doi.org/10.1093/humupd/4.5.730>.

Triggs-Raine, B. (2015) 'Biology of hyaluronan: Insights from genetic disorders of hyaluronan metabolism', *World Journal of Biological Chemistry*, 6(3), p. 110. Available at: <https://doi.org/10.4331/wjbc.v6.i3.110>.

Zambuto, S.G. *et al.* (2022) 'Role of Extracellular Matrix Biomolecules on Endometrial Epithelial Cell Attachment and Cytokeratin 18 Expression on Gelatin Hydrogels', *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 8(9), pp. 3819–3830. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.2c00247>.



## JE MOŽNÉ PREDIKOVAŤ ÚSPEŠNOSŤ EMBRYOTRANSFERU POMOCOU 3D FLUORESCENČNEJ ANALÝZY?

*Is it possible to predict embryo transfer success using 3D fluorescent spectroscopy?*

Ivana Lukáčová<sup>1</sup>, Zuzana Badovská<sup>1</sup>, Monika Švecová<sup>1</sup>, Katarína Dubayová<sup>1</sup>, Silvia Toporciová<sup>1</sup>, Mária Mareková<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav lekárskej a klinickej biochémie, UPJŠ v Košiciach, Lekárska fakulta

<sup>2</sup>Gyncare a.s., Košice, Magnezitárska 2C, 040 13 Košice

**Abstrakt:** V súčasnosti pozorujeme zvyšujúci sa trend neplodnosti vo svete ako aj stúpajúci počet uskutočnených procesov *in vitro* fertilizácií. Kľúčovým faktorom úspešnej implantácie predstavuje transfer embrya počas okna implantácie, teda receptívneho stavu endometria. Nemenej dôležitým faktorom je výber kvalitného a viabilného embrya. Štandardom je hodnotenie špecifických morfológických znakov embrya, ktoré uľahčuje „time-lapse“ systém. Taktiež je možné využiť metódu predimplantačnej genetickej diagnostiky, ktorá má ale invazívny charakter. V súčasnosti je v popredí vývoj neinvazívnych metodík, ktoré by uľahčili výber viabilného embrya. Jedným zo sľubných neinvazívnych prístupov predstavuje analýzu metabolitov použitého kultivačného média. Cieľom pilotnej štúdie je verifikácia možnosti predikcie úspešnosti IVF aplikáciou fluorescenčnej analýzy metabolómu/sekretómu kultivačného média.

**Kľúčové slová:** *embryotransfer, kultivačné médium, fluorescenčná analýza, neplodnosť, metabolomika*

**Abstract:** There is currently an increasing trend of infertility as well as the number of performed *in vitro* fertilization processes. The key factor of successful implantation is the right timing of embryo transfer during the window of implantation, when the endometrium is in its receptive state. Another pivotal factor is the selection of a competent and viable embryo. The gold standard is the assessment of embryo key morphologic features. A time-lapse system makes it possible to assess embryo morphology as a continuum. Preimplantation genetic analysis provides an even closer look, but is an invasive method. Research now focuses on non-invasive methods for embryo selection. One of the promising non-invasive approaches is the analysis of spent culture medium metabolites. This pilot study aims to explore the possible application of metabolomic fluorescent analysis of spent embryo culture medium in the prediction of implantation outcome.

**Keywords:** *embryo transfer, cultivation medium, fluorescent analysis, infertility, metabolomics*

### Úvod

Čoraz viac párov vyhľadáva pomoc asistovanej reprodukcie a zároveň sa zvyšuje aj počet realizovaných procesov *in vitro* fertilizácií (IVF). Percento úspešnosti transferu výrazne nestúpa aj napriek zlepšujúcim sa podmienkam pre *in vitro* kultiváciu embryí v asistovanej reprodukcii (Szamatowicz, 2016). Implantácia ľudského embrya je komplexný proces, ku ktorému dochádza vo veľmi krátkom časovom období počas sekrečnej fázy menštruačného cyklu nazývaného ako okno implantácie. Počas tejto fázy dochádza v endometriu k morfológickým a funkčným zmenám, ktoré vytvárajú priaznivé prostredie na implantáciu embrya. Pre úspešnú implantáciu embrya je dôležité kvalitné embryo, plne receptívne endometrium a synchronizovaná komunikácia medzi embryom a endometriom (Luddi et al., 2021). Aj napriek významným pokrokom v technikách *in vitro* fertilizácie (IVF), predstavuje zlyhanie implantácie embrya jeden z hlavných limitujúcich faktorov IVF (Szamatowicz, 2016). Zlatý štandard v stanovení kvality embrya predstavuje jeho morfológické hodnotenie embryológom pod mikroskopom v istých časových intervaloch (Gardner a Balaban, 2016). „Time-lapse“ systém uľahčuje vyhodnotenie morfológie embrya každých pár minút bez potreby vybratia embrya z inkubátora. Limitom tejto metódy je však subjektívne hodnotenie embryológa a slabá asociácia medzi morfológickým obrazom embrya a jeho implantačným potenciálom. Použitie predimplantačnej genetickej analýzy na druhej strane predstavuje invazívny spôsob spojený s odberom niekoľkých embryonálnych buniek, ktorá je navyše pre páry finančne

náročná (Zmuidinaite et al., 2021). Z toho dôvodu je dôležité použitie neinvazívneho a objektívneho spôsobu hodnotenia kvality a viability embrya. Jedným zo sľubných neinvazívnych prístupov hodnotenia viability embrya predstavuje analýza metabolitov použitého kultivačného média, ktoré je obrazom jeho fyziologického alebo patologického stavu. Aj minimálne vystavenie suboptimálnym kultivačným podmienkam môže negatívne ovplyvniť metabolické funkcie embrya, čo vedie k narušenému vývoju a strate schopnosti sa implantovať (Hernández-Vargas et al., 2020) (Uyar and Seli, 2014). Metabolóm predstavuje komplexný súbor malých molekúl, ktoré sú finálnym produktom génovej expzie a ponúkajú možnosť štúdie vzťahu medzi genotypom a fenotypom ako aj medzi genotypom a prostredím (Uyar and Seli, 2014). Použitím metód spektroskopie je možné získať profil spektra kultivačného média, v ktorom sa embryo vyvíjalo. Aj keď touto metódou nie je možné identifikovať jednotlivé komponenty média, je však možné popísať špecifické zmeny spektra viabilného embrya (Gardner et al., 2013). V štúdiách pomocou Ramanovej a blízkej infračervenej spektroskopie (NIR) boli pozorované signifikantné rozdiely medzi embryami s úspešnou implantáciou a embryami, u ktorých implantácia zlyhala. NIR bola použitá aj pri analýze embryí s podobnými morfológickými charakteristikami, ktoré sa však výrazne líšili v metabolickom profile (Seli et al., 2007, Seli et al., 2010, Botros et al., 2008). Fluorescenčná analýza biologického materiálu ako jednej entity má veľký diagnostický potenciál nielen v aplikácii na štandardný biologický materiál – krvné sérum, moč (Dubayová et al., 2023; Birková et al., 2020; Devanesan et al., 2021 a iní.). Zaujímavé výsledky priniesla 3D fluorescenčná analýza slz v súvislosti s diagnostikou glaukómu (Dubayová et al., 2022, Krajčíková, K., 2021). 3D fluorescenčná analýza kultivačného média je zaujímavou a náročnou výzvou vzhľadom na minimálne množstvo materiálu a náročné dolovanie v dátach využitím prostriedkov bioštatistiky a umelej inteligencie.

## Materiál a metodika

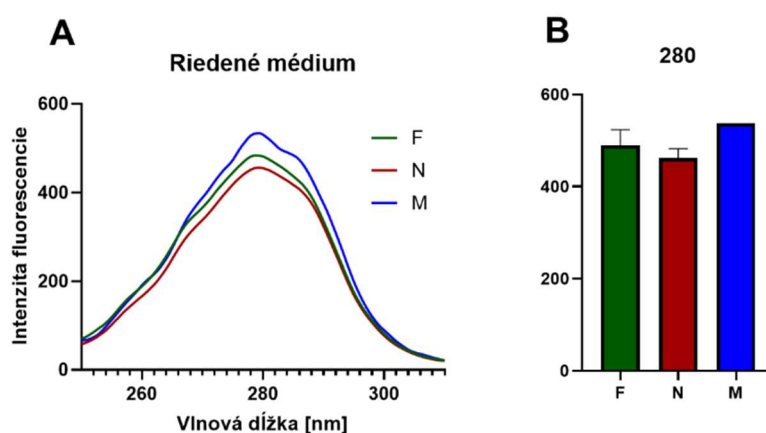
Analyzovaný súbor tvorilo 40 kultivačných médií, v ktorom sa vyvíjali embryá pacientok v procese IVF (20 s potvrdeným úspešným výsledkom IVF, 20 s potvrdeným neúspešným výsledkom IVF). Odber kultivačného média embrya bol uskutočnený v deň transferu, po vložení embrya do maternice v štádiu blastocysty (na 5. deň po oplodnení) v Centre pre asistovanú reprodukciu Gyncare a následne uskladnené pri  $-80^{\circ}\text{C}$ . Odber tohto biologického materiálu predstavuje ľahko dostupný materiál, ktorý je považovaný za odpadový. Celkový objem kultivačného média bol 10  $\mu\text{l}$ . V prípade snímania fluorescencie v 1. zóne (250 – 330 nm) bolo médium riedené roztokom PBS, spektrum 2. zóny (330 – 500 nm) bolo snímané v neriedenom médiu. Pre porovnanie bolo použité aj čisté kultivačné médium GTL™ Vitrolife (M). Presné zloženie je chránené výrobcom, uvedené ním boli tieto zložky: bikarbonátový tlmivý roztok, hyaluronan, albumín, acetyl.karnitín, kyselina  $\alpha$ -lipoová, N-acetylcysteín.

3D fluorescenčná analýza bola realizovaná snímaním synchronných excitačných spektier kultivačných médií spektrofluorimetrom Perkin Elmer LS 55. Porovnaním fluorescenčných zmien v zložení kultivačného média, kde bol transfer embrya úspešný (F-fertilný)/neúspešný (N-nefertilný) boli vytypované fluorescenčné spektrálne markery. Štatistická analýza bola vykonaná pomocou softvéru GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software), zatiaľ čo dátová analýza bola realizovaná v Python 3.12. Štatistická významnosť spektrálnych charakteristík medzi skupinami bola hodnotená pomocou Mann-Whitneyho U-testu. PCA analýza bola realizovaná s použitím metódy najbližších susedov (k-clustering), pričom klastre boli vizualizované a rozlíšené podľa skúmaných skupín F a N.

## Výsledky a diskusia

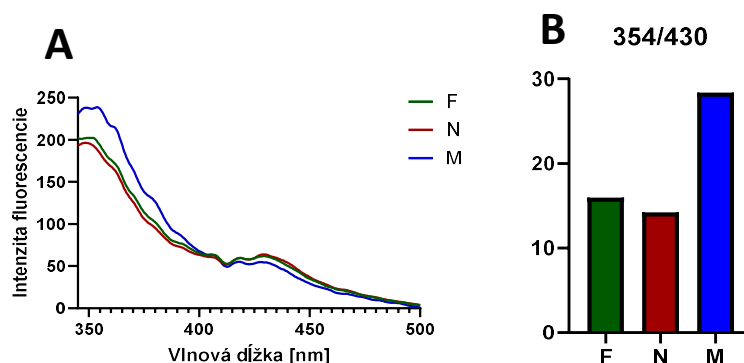
Kultivačné médiá boli fluorescenčne analyzované v 2 spektrálnych zónach. V prvej zóne (250-330 nm) je hlavným fluorofórom aminokyselina tryptofán (voľná, aj ako aj súčasť proteínov) a taktiež jej metabolity. V druhej zóne (330-500 nm) sú fluorescenčne aktívne rôzne fluorofóry, napr. oxidačno-redukčné koenzýmy NADH a FAD. Špecifikované neboli, cieľom bola identifikácia spektrálnych rozdielov.

Na obrázku 1A sú znázornené priemerné spektrá kultivačných médií v 1. zóne merania. Najvyššia intenzita fluorescence bola zaznamenaná pri 280 nm, čo korešponduje s fluorescenčným maximom tryptofánu, v čistom (kontrolnom) kultivačnom médiu. Pri úspešných IVF bola pozorovaná nižšia intenzita fluorescence, zatiaľ čo pri neúspešných IVF bola intenzita najnižšia. Na obrázku 1B sú zobrazené priemerné hodnoty fluorescenčnej intenzity pri maxime 280 nm, vyznačené s príslušnými štandardnými odchýlkami. Výsledky naznačujú, že intenzita fluorescence odráža zloženie metabolómu kultivačného média a líši sa jednak v porovnaní s kontrolným médiom (M) a taktiež v prípade úspešných a neúspešných transferov. Zmeny v metabolizme tryptofánu môžu ovplyvniť úspešnosť IVF procesu, ako ukazuje štúdia Bodisa a kol. (2020). Tieto zistenia naznačujú, že nižšie hladiny tryptofánu v kultivačných médiách s neúspešným výsledkom IVF by mohli svedčiť o nedostatočnom biochemickom prostredí pre vývoj a implantáciu embrya, čo je v súlade s našimi prvotnými výsledkami. Táto situácia môže byť spôsobená neadekvátnou produkciou serotonínu a kynurenínu, ktoré sú kritické pre fyziologické a imunologické podmienky potrebné na úspešné tehotenstvo (Bodis a kol., 2020). Ďalšia štúdia poukazuje na dôležitosť tryptofánu v regulácii hladín melatonínu a oxidačného stavu folikulárnej tekutiny, čo sú kľúčové faktory pre optimálne podmienky dozrievania oocytov a vývoja embrya (Bildircin a kol., 2020). Tieto interpretácie sú v súlade so širším chápaním úlohy tryptofánu v reprodukčnej biológii a mohli by tvoriť základ pre ďalšie skúmanie optimalizácie zloženia kultivačných médií za účelom zlepšenia úspešnosti IVF. Ding a kol. ako aj Meng a kol., pozorovali pomocou Ramanovej spektroskopie vyššiu hladinu tryptofánu v kultivačných médiách embryí, ktoré boli morfológicky hodnotené ako nekvalitné. Tieto štúdie analyzovali kultivačné médium na tretí deň vývoja embrya a hodnotili vzťah medzi morfológickým statusom embrya a jeho metabolizmom, navyše u inej etnickej skupiny (Ding a kol., 2017, Meng a kol., 2023). V našej vzorke sme analyzovali už morfológicky kvalitné embryá na 5. deň ich vývoja vo vzťahu k ich implantačnému potenciálu.



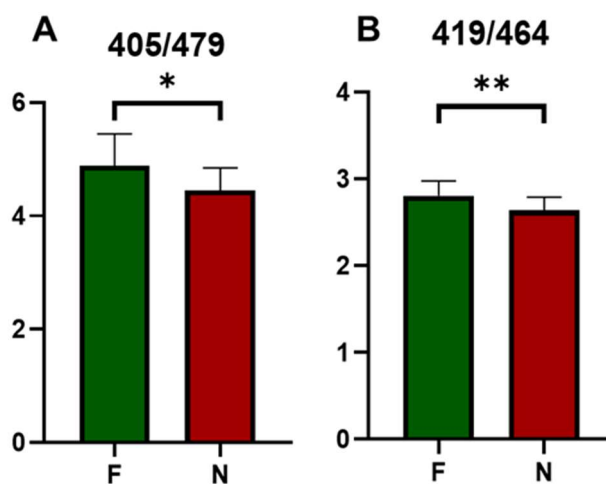
**Obrázok 11. Riedené kultivačné médiá.** A) Priemerné spektrá riedených kultivačných médií pri  $\Delta\lambda = 70$  nm. B) Priemerné hodnoty riedených vzoriek pri 280 nm  $\pm$  SD (standard deviation, štandardná odchýlka). Vysvetlivky: F (fertile) – úspešný transfer, N (non-fertile) – neúspešný transfer, M (médium) – čisté (kontrolné) kultivačné médium

Priebeh spektra 2. zóny vykazuje 2 fluorescenčné maximá (Obr. 2A) odpovedajúce fluorescencii NADH a FAD. Pomer intenzít pri týchto vlnových dĺžkach definuje redoxný stav. Najvyšší pomer bol nameraný v kontrolnom médiu bez embryí, čo svedčí o relatívne vysokej koncentrácii NADH v porovnaní s FAD, čomu zodpovedá viac redukovaný stav, (Obr. 2B), kde neprebíha aktívny metabolizmus spojený s rastom a udržiavaním buniek.



**Obrázok 12. Neriedené kultivačné médiá.** A) Priemerné spektrá neriedených kultivačných médií pri  $\Delta\lambda = 90$  nm. B) Priemerné hodnoty fluorescenčného pomeru 354/430 nm  $\pm$  SD. F (fertile) – úspešný transfer, N(non-fertile) – neúspešný transfer, M (médiu) – čisté (kontrolné) kultivačné médium

Naopak, prítomnosť embryí v médiu pravdepodobne spúšťa metabolické procesy, ktoré využívajú tieto kofaktory, a preto bol pozorovaný pokles pomeru NADH/FAD. V embryách s následnou úspešnou implantáciou môže byť metabolizmus aktívnejší a dochádza k väčšiemu využitiu NADH v metabolických procesoch. To posúva redoxnú rovnováhu smerom k relatívne oxidovanému stavu v porovnaní s kontrolou, čo má za následok nižší pomer NADH/FAD. Ďalšie zníženie pomeru NADH/FAD v médiách s embryami s následným zlyhaním implantácie môže odrážať narušený metabolizmus. Takéto embryá by mohli byť vystavené vyššej úrovni oxidačného stresu alebo menej efektívnym metabolickým procesom, čo by viedlo k väčšej spotrebe alebo menšej produkcii NADH v porovnaní s FAD. To je v súlade so zisteniami pozorovanými v štúdiách na oocytoch, kedy zvýšenie biologickej dostupnosti  $\text{NAD}^+$  môže výrazne zlepšiť kvalitu oocytov a plodnosť žien, najmä počas reprodukčného starnutia (Bertoldo et al., 2020). V prípade neplodných oocytov môže dochádzať k zvýšenému oxidačnému stresu alebo neefektívnym metabolickým procesom, čo vedie k zmenenému využívaniu kofaktorov (Tan a Dunning, 2019).

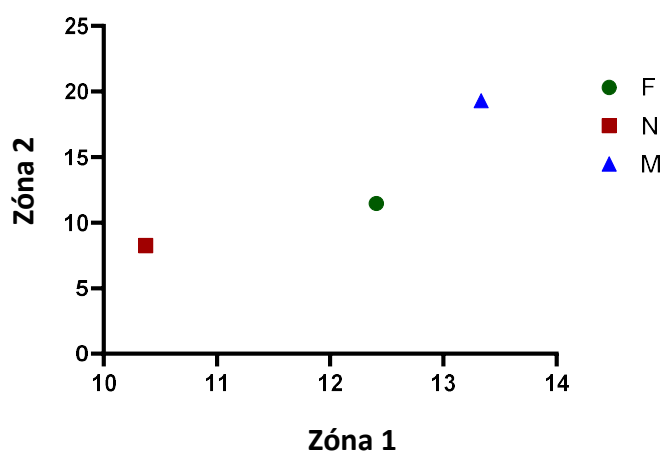


**Obrázok 13. Fluorescenčné pomery.** A) Fluorescenčný pomer 405/479 nm B) Fluorescenčný pomer 419/464 nm. Vysvetlivky: \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ . F (fertile) – úspešný transfer, N(non-fertile) – neúspešný transfer, M (médiu) – čisté (kontrolné) kultivačné médium

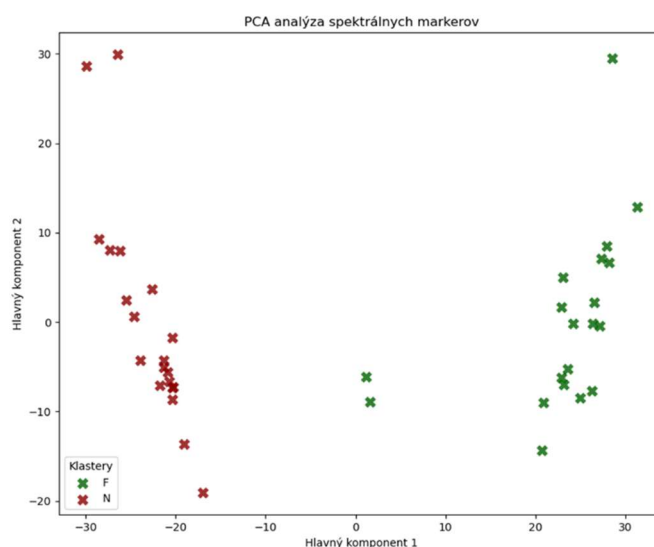
V našej štúdií boli vytvorené dva odlišné fluorescenčné pomery, ktoré účinne rozlišovali medzi kultivačnými médiami s úspešným a neúspešným výsledkom IVF (obr. 3). Prvý pomer, 405/479 nm, preukázal štatisticky významný rozdiel ( $p < 0,05$ ) medzi týmito dvoma médiami. Tento pomer môže poukazovať na špecifické biochemické markery alebo metabolické stavy, ktoré sú častejšie v plodných prostrediach. Podobne pomer 419/464 nm vykazoval ešte výraznejšiu diferenciáciu ( $p < 0,01$ ), čo naznačuje, že tieto fluorescenčné metabolity by mohli byť priamo spojené s kritickými faktormi ovplyvňujúcimi vývoj embrya. Tieto pomery by preto mohli slúžiť ako fluorescenčné

biomarkery na hodnotenie kvality kultivačných médií a predpovedanie úspešnosti IVF. Obidva pomery boli nižšie v médiách s neúspešným výsledkom IVF, ktoré môžu poukazovať na zmeny metabolického a oxidačného stavu kultivačného prostredia, pravdepodobne v dôsledku prítomnosti endogénnych fluorofórov, ako sú napr. lipofuscín, FAD a pteríny. Výskum poukazuje na to, ako môžu biomarkery oxidačného stresu, ako je lipofuscín, ovplyvniť úspešnosť IVF, pričom naznačuje, že zvýšený oxidačný stres v médiách s neúspešne implantovaným embryom by mohol viesť k vyšším koncentráciám lipofuscínu, o ktorom je známe, že sa hromadí ako vedľajší produkt bunkového starnutia a stresu (Olszak-Wąsik a kol., 2019). Fluorescenčná analýza kultivačných médií vyžaduje tzv. dolovanie v dátach. Prvým krokom bolo namodelovanie vzťahu medzi 1. a 2. fluorescenčnou zónou (obr. 4). Matematickým spracovaním spektier so zohľadnením tvaru spektra a maximálnych hodnôt fluorescencie, boli vypočítané relatívne hodnoty pre fluorescenčnú zónu riedeného (zóna 1) a neriedeného média (zóna 2). Os x predstavuje hodnotu definovaného spektrálneho pásu riedeného média s maximom pri 280 nm (zóna 1). Druhá zóna (Os y) je charakterizovaná vzťahom medzi spektrálnymi pásmi neriedeného média v zóne s maximom 354 a 430 nm (zóna 2). Takto definované fluorescenčné spektrálne markery odlišili úspešný, neúspešný transfer a médium bez embrya.

#### Fluorescenčné spektrálne markery



Obrázok 14. Fluorescenčné spektrálne markery. F (fertile) – úspešný transfer, N(non-fertile) – neúspešný transfer, M (médium) – čisté (kontrolné) kultivačné médium



Obrázok 15. PCA analýza spektrálnych markerov. Vysvetlivky: Klasterly boli zafarbené vzhľadom na úspešnosť IVF procesu. Červenou neúspešný a zelenou úspešný transfer.

Použitím PCA (Principal component analysis, analýza hlavných komponentov) v kombinácii s k-means zhlukovaním na kompletných spektrálnych údajoch získaných z kultivačných médií IVF boli v našej štúdií rozlíšené úspešné a neúspešné transfery (Obr. 5). Tento prístup využíva celé fluorescenčné spektrum kultivačného média, čo sa tradične považuje za odpadový materiál v IVF

procesoch. Súčasný metódy v praxi IVF sa zameriavajú predovšetkým na morfológické hodnotenie a genetický skrining, ktoré sú síce účinné, ale môžu byť nákladné a časovo náročné. Výhoda predkladanej metódy spočíva v jej nákladovej efektívnosti a rýchlej implementácii, vďaka čomu je veľmi vhodnou perspektívou pre rutinné klinické použitie. Štúdia Giritharana a kol. s využitím analýzy hlavných komponentov (PCA) a k-means zhlukovania preukázala schopnosť analyzovať údaje o expresii génov v myších embryách, pričom odhalila významné rozdiely v profiloch expzie génov medzi rôznymi podmienkami kultivácie IVF (Giritharan a kol., 2007). Táto metóda sa ukazuje byť účinná pri identifikácii odlišných vzorcov, ktoré môžu ovplyvniť vývoj a výsledok embrya, čo zdôrazňuje jej potenciál pri zdokonaľovaní techník IVF. Podobne aj výskum, ktorý uskutočnili Díaz-Gimeno a kol. aplikoval tieto štatistické metódy na stratifikáciu endometriálnych transkriptomických údajov, pričom úspešne identifikoval rôzne podskupiny súvisiace s výsledkami pôrodov a tehotenstva (Díaz-Gimeno a kol. 2017). Predpovedaním viability embryí na základe spektrálnych údajov kultivačných médií má metóda definovaných fluorescenčných markerov potenciál znížiť finančnú záťaž pacientov znížením počtu cyklov IVF potrebných na úspešnú implantáciu. Preukazuje potenciál identifikovať fluorescenčné biochemické markery svedčiace o metabolickom stave embryí a úspešnosti implantácie. Implementácia PCA a k-means klastrovania na spektrách kultivačných médií IVF predstavuje sľubnú cestu na zvýšenie úspešnosti IVF. Ponúka nákladovo efektívnu, rýchlu a citlivú alternatívu k invazívnejším a drahším metódam. Po ďalšom overení by sa táto technika mohla integrovať do klinickej praxe a ponúknuť nový nástroj na zlepšenie úspešnosti IVF procesu.

## Záver

Pri zvyšujúcom sa počte vykonaných IVF procesov vzrastá potreba aplikovania nových metód, ktoré by pomohli lepšie a spoľahlivejšie vyselektovať embryo s najvyšším implantačným potenciálom a znížiť tak finančnú aj emocionálnu záťaž párov podstupujúcich IVF. Výskum sa v súčasnosti zameriava na vývoj komplexných, tzv. „omických“ metód. Jeden z neinvazívnych prístupov predstavuje analýza metabolitov kultivačného média embrya, ktoré sa považuje za odpadový materiál. Táto práca predstavuje pilotnú výskumnú štúdiu možnej predikcie úspešnosti transferu embrya použitím fluorescenčnej analýzy metabolitov použitého kultivačného média. Analýzou synchronných excitačných spektier kultivačných médií a následne pomocou PCA v kombinácii s k-means zhlukovaním sa nám podarilo odlíšiť kultivačné médiá embryí, ktoré sa úspešne implantovali od embryí, u ktorých implantácia zlyhala. Významné rozdiely sme pozorovali aj pri fluorescenčných pomeroch 405/479 nm a 419/464 nm priemerných spektier medzi kultivačnými médiami embryí s úspešným a neúspešným transferom. Vzhľadom na minimálne množstvo materiálu a náročné dolovanie v dátach predstavuje 3D fluorescenčná analýza výzvu v ďalšom výskume na väčšom počte vzoriek ako aj jej optimalizácii.

## Podakovanie

Práca vznikla na základe grantovej podpory VEGA 1/0435/23. Tento projekt je realizovaný v spolupráci s Centrom pre asistovanú reprodukciu Gyncare v Košiciach.

## Literatúra

BERTOLDO, MJ et al (2020) NAD<sup>+</sup> repletion rescues female fertility during reproductive aging. In: Cell Reports, 30(6), pp.1670-1681. ISSN 2211-1247.

BILDIRICIN, FD et al (2020) Effects of tryptophan, a precursor for melatonin, on IVF outcomes and Doppler parameters. In: Journal of Health Sciences and Medicine, 3(2), pp. 97-101. ISSN: 2636-8579.

BIRKOVÁ, A et al (2020) Human fluorescent profile of urine as a simple tool of mining in data from autofluorescence spectroscopy. In: Biomedical Signal Processing and Control, 56, 101693. ISSN: 1746-8094.

- BOTROS, L et al (2008) Metabolomics and its application for noninvasive embryo assessment in IVF. In: *Molecular Human Reproduction*, 14, pp. 679–90. ISSN: 1460-2407.
- BÓDIS, J et al (2020) Tryptophan catabolism to serotonin and kynurenine in women undergoing in-vitro fertilization. In: *Physiological Research*, 69(6), pp. 1113-1124. ISSN: 1802-9973.
- DEVANESAN, S et al (2021) Cancer screening by fluorescence spectra of blood and urine—A double blind study. In: *Journal of King Saud University – Science*, 33(5), 101456. ISSN 1018-3647.
- DING, J et al. (2017) Raman spectrum: A potential biomarker for embryo assessment during in vitro fertilization. In: *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13(5), pp. 1789-1792. ISSN: 1792-1015.
- DÍAZ-GIMENO, P et al (2017) Window of implantation transcriptomic stratification reveals different endometrial subsignatures associated with live birth and biochemical pregnancy. In: *Fertility and Sterility*, 108(4), pp. 703-710. ISSN 0015-0282.
- DUBAYOVÁ, K et al (2022) Derivative Three-Dimensional Synchronous Fluorescence Analysis of Tear Fluid and Their Processing for the Diagnosis of Glaucoma. In: *Sensors*, 22(15), pp. 1-10. ISSN 1424-8220.
- DUBAYOVÁ, K et al (2023) Visualization of the composition of the urinary fluorescent metabolome. Why is it important to consider initial urine concentration? In: *Methods and applications in fluorescence*, 11(4), pp. 1-11. ISSN 2050-6120.
- GARDNER, DK et al (2013) Analysis of metabolism to select viable human embryos for transfer. In: *Fertility and Sterility*, 99(4), pp- 1062-1072. ISSN 0015-0282
- GARDNER, DK et al (2016) Assessment of human embryo development using morphological criteria in an era of time-lapse, algorithms and ‘OMICS’: is looking good still important? In: *Molecular Human Reproduction*, 22(10), pp. 704-718. ISSN: 1360-9947.
- GNANARATNAM, G et al (2007) Effect of in vitro fertilization on gene expression and development of mouse preimplantation embryos. In: *Reproduction*, 134(1), pp. 63-72. ISSN: 1741-7899.
- HERNÁNDEZ-VARGAS, P et al (2020) Identifying biomarkers for predicting successful embryo implantation: applying single to multi-OMICS to improve reproductive outcomes. In: *Human Reproduction Update*, 26(2), pp. 264-301. ISSN: 1355-4786.
- KRAJČÍKOVÁ, K et al (2021) New possibilities for the glaucoma diagnostics using the synchronous fluorescence spectra of tear fluid In: *Spectroscopy Letters: an International Journal for Rapid Communication*, 54(10), pp. 763-772. ISSN 1532-2289.
- LUDDI, A et al (2021) Emerging role of embryo secretome in the paracrine communication at the implantation site: a proof of concept. In: *Fertility and Sterility*, 115(4), pp. 1054-1062. ISSN 0015-0282.
- MENG, H et al (2023) Rapid and non-invasive diagnostic techniques for embryonic developmental potential: a metabolomic analysis based on Raman spectroscopy to identify the pregnancy outcomes of IVF-ET. In: *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, pp. 1-12. ISSN 2296-634X.
- OLSZAK-WASIK K, et al (2019) From “every day” hormonal to oxidative stress biomarkers in blood and follicular fluid, to embryo quality and pregnancy success? In: *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1092415 ISSN – 1942-0900.

SELI, E. et al. (2007) Noninvasive metabolomic profiling of embryo culture media using Raman and near infrared spectroscopy correlates with reproductive potential of embryos in women undergoing in vitro fertilization. In: *Fertility and Sterility*, 88(5), pp. 1350–1357. ISSN 0015-0282

SELI, E. et al. (2010) Noninvasive metabolomic profiling as an adjunct to morphology for noninvasive embryo assessment in women undergoing single embryo transfer. In: *Fertility and Sterility*, 94, pp. 535–542. ISSN 0015-0282

SZAMATOWICZ, M. (2016) Assisted reproductive technology in reproductive medicine - possibilities and limitations. In: *Ginekologia polska*. 87(12), pp. 820-823. ISSN: 0017-0011.

TIFFANY, CYT et al (2022) Non-invasive assessment of oocyte developmental competence. In: *Reproduction, Fertility and Development*, 35(2), pp. 39-50. ISSN: 1448-5990.

UYAR, A et al (2014) Metabolomic assessment of embryo viability. In: *Seminars in Reproductive Medicine*, 32(2), pp. 141-152. ISSN: 1526-8004.

ZMUIDINAITE, R et al (2021) Current Advancements in Noninvasive Profiling of the Embryo Culture Media Secretome. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 22(5), p.2513. ISSN: 1422-0067



# POVRCHOVO MODIFIKOVANÝ MATERIÁL UiO-66-NH<sub>2</sub> AKO NOSIČ PROTINÁDOROVÉHO LIEČIVA

*Histidine surface-modified material UiO-66-NH<sub>2</sub> as a drug carrier*

Alexandra Migasová, Ľuboš Zauška, Veronika Huntošová, Miroslav Almáši

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta*

**Abstrakt:** V rámci výskumu bol pripravený mikropórovitý materiál založený na báze metalo-organických sietí, konkrétne UiO-66-NH<sub>2</sub>. Tento materiál bol post-synteticky povrchovo modifikovaný molekulami histidínu a do jeho pórovitej štruktúry bol uzavretý 5-fluorouracil, ktorý slúži ako proti nádorové liečivo. Pripravené vzorky boli charakterizované pomocou dostupných fyzikálno-chemických metód, vrátane infračervenej spektroskopie, práškovej röntgenovej difrakčnej analýzy, termogravimetrickej analýzy a adsorpcie/desorpcie argónu. Taktiež boli študované ich vlastnosti so zameraním sa na uvoľňovanie liečiva a biologickú aktivitu. Sledovanie kinetiky uvoľňovania liečiva z matrice bolo uskutočnené v prostrediach s rôznymi hodnotami *pH*, ktoré simulovali prostredie žalúdočnej šťavy (*pH* = 2,04), nádorových buniek (*pH* = 5,5) a intravenózne prostredie (*pH* = 7,4). Biologická aktivita bola skúmaná na gliómových bunkových líniách MG U87 so zameraním sa na pozorovanie prestupu častíc do intrabunkového priestoru vplyvom modifikácie.

**Keľúčové slová:** *metalo-organické siete, post-syntetická modifikácia, histidín, aktívny transport liečiv, 5-fluorouracil*

**Abstract:** As a part of the research, a microporous material based on metal-organic frameworks, specifically UiO-66-NH<sub>2</sub>, was prepared. This material underwent post-synthetic surface modification with histidine molecules, and 5-fluorouracil was enclosed within its porous structure, serving as an anti-cancer drug. The prepared samples were characterized using available physicochemical methods, including infrared spectroscopy, powder X-ray diffraction analysis, thermogravimetric analysis, and argon adsorption/desorption measurements. Additionally, their properties were studied with a focus on drug release kinetics and biological activity. Monitoring of drug release kinetics from the matrix was performed in environments with different *pH* values, simulating gastric fluid (*pH* = 2.04), tumour cells (*pH* = 5.5), and intravenous environment (*pH* = 7.4). Biological activity was investigated on glioma cell lines MG U87, with a focus on observing particle penetration into the intracellular space due to modification.

**Keywords:** *metal-organic frameworks, post-synthetic modification, histidine, active drug delivery, 5-fluorouracil*

## Úvod

Nádorové ochorenie akéhokolvek typu predstavuje závažný a zložitý problém, ktorý ovplyvňuje tisíce ľudí po celom svete. Jedným z najťažšie liečiteľných druhov rakoviny zostávajú nádorové ochorenia mozgu, ktoré sú známe svojou odolnosťou voči liečbe. Tá je zložitá a často si vyžaduje multimodálny prístup zahrňujúci chirurgický zákrok, rádioterapiu a chemoterapiu. V posledných desaťročiach sa v reakcii na žalostné výsledky prežitia spojené s konvenčnými terapiami aktívne skúmajú iné spôsoby liečby, ako sú imunoterapia, fotodynamická terapia, ale aj cielený transport liečiv. Veľké množstvo existujúcich liekov má neuspokojivú terapeutickú účinnosť spôsobenú prudkým uvoľňovaním vysokých dávok liečiva v nešpecifických miestach, pričom dochádza aj k poškodzovaniu zdravých buniek a tkanív [Persaud-Sharma, 2017; Suryawanshi, 2021]. Tieto nežiadúce komplikácie je možné eliminovať pomocou cieleného transportu liečiv, ktorého hlavným zámerom je dosiahnutie farmakologického účinku terapeutického činidla len na choré orgány bez ovplyvnenia zdravých buniek. Systémy cieleného transportu liečiv zvyšujú účinnosť liečiv aj riadeným a neprerušovaným uvoľňovaním terapeutického látky, ktoré uspokojuje skutočný a primeraný dopyt po liečive. Zacielenie liečiva je možné dosiahnuť použitím rôznych nosičov so schopnosťou reagovania na špecifické stimuly, ako je zmena *pH*, svetlo, teplo alebo enzýmy. Týmto sa dokáže zlepšiť rozpustnosť liečiva, zmeniť jeho distribúcia v rôznych tkanivách a orgánoch, upraviť jeho

kinetika uvoľňovania, aby sa dosiahlo kontrolované a neprerušované uvoľňovanie liečiva s podporou jeho agregácie v cielej oblasti [Tewabe, 2021].

Ako nosiče liečiv boli navrhnuté rôzne materiály vrátane nanočastíc, pričom veľká pozornosť v oblasti cielej transportu liečiv bola venovaná mikropórovitým metalo-organickým sieťam (MOF), ktoré sa vyznačujú veľkou kapacitou pre uzatvorenie liečiva, kinetickou a termodynamickou stabilitou, dobrou biokompatibilitou, nízkou cytotoxicitou a možnosťami povrchovej funkcionálizácie so získaním požadovaných fyzikálno-chemických vlastností [Kumari, 2016]. Vyššie opísané vlastnosti dosahujú materiály typu MOF na báze biogénnych a biokompatibilných iónov kovov s organickými linkerami, ktoré vytvárajú extrémne stabilné materiály, respektíve po ich degradácii v organizme nemajú jednotlivé stavebné zložky nepriaznivý vplyv na tkanivá orgánov. Medzi tento typ materiálov patrí aj UiO-66-NH<sub>2</sub>, ktorý sa vyznačuje vysokou povrchovou plochou, chemickou a termickou stabilitou [Bunzen, 2021; Liu, 2020].

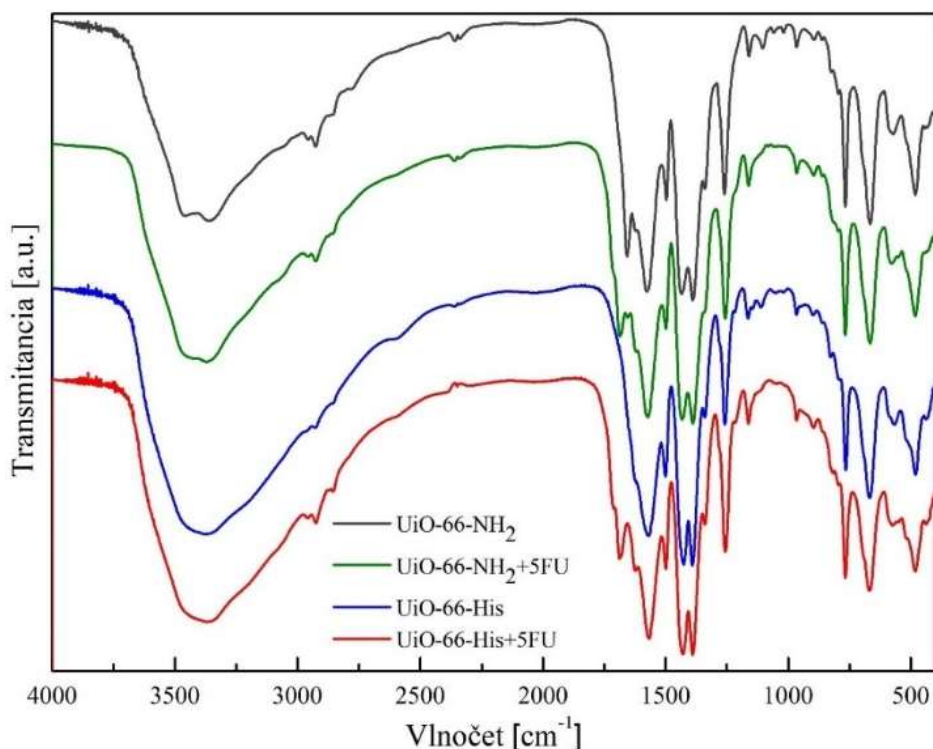
## Experimentálne metódy a výsledky

Syntéza materiálu UiO-66-NH<sub>2</sub> bola uskutočnená solvotermálnou metódou opísanou autorom Katz a kol. [Katz, 2013]. Povrchová post-syntetická modifikácia histidínom bola uskutočnená v niekoľkých krokoch. Prvým z nich bolo chránenie voľnej -NH<sub>2</sub> skupiny na molekule histidínu použitím di-*tert*-butyl dikarbonátu (Boc<sub>2</sub>O). Následne chránený histidín s Boc<sub>2</sub>O bol použitý na povrchovú modifikáciu UiO-66-NH<sub>2</sub> prostredníctvom amidovej väzby vznikajúcou medzi karboxylovou skupinou histidínu a amínovou skupinou linkeru v materiáli typu MOF. Nakoniec bola odstránená chrániaca skupina a bol získaný produkt UiO-66-His. Do pórovitej štruktúry pripravených vzoriek UiO-66-NH<sub>2</sub> a UiO-66-His bolo uzavreté liečivo 5-fluorouracil (5-FU) pomocou impregnácie a výsledné materiály boli označené ako UiO-66-NH<sub>2</sub>+5-FU a UiO-66-His+5FU.

Na potvrdenie úspešnosti syntéz a prvotnú charakterizáciu pripravených vzoriek bola použitá infračervená spektroskopia, ktorá potvrdila prítomnosť charakteristických funkčných skupín v UiO-66-NH<sub>2</sub>, UiO-66-His a liečivom impregnovaných materiáloch. Namerané IČ spektrá zlúčenín sú zobrazené na obrázku 1 a v tabuľke 1 je priradenie absorpčných pásov k prislúchajúcim vibráciám.

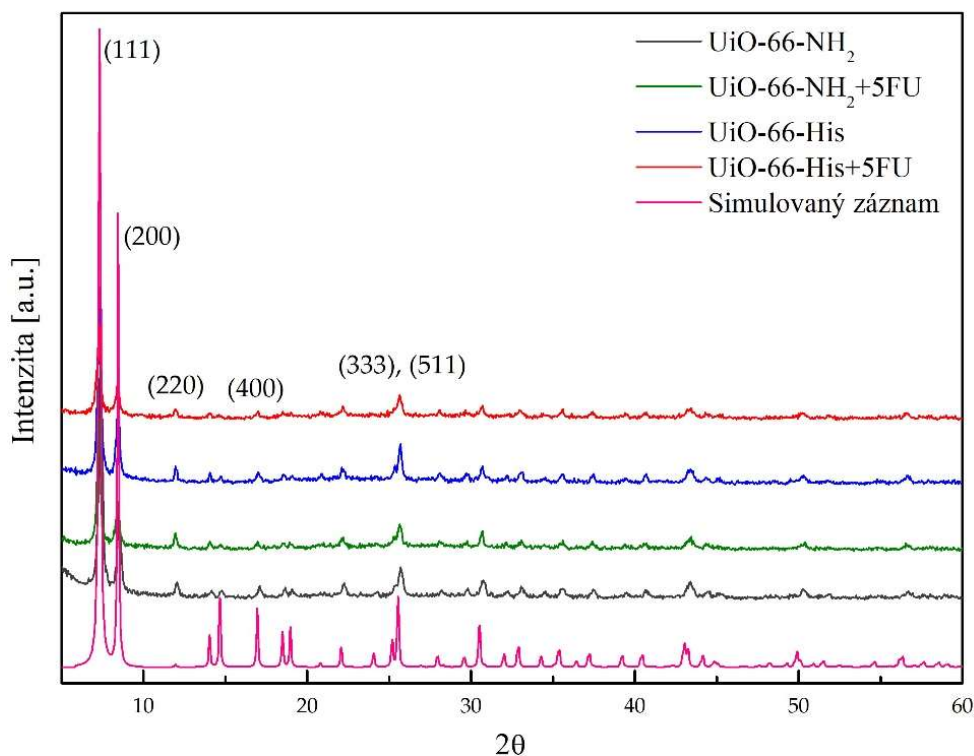
**Tab. 1:** Hodnoty vlnočtov absorpčných pásov prítomných na infračervených spektrách

	UiO-66-NH <sub>2</sub>	UiO-66-NH <sub>2</sub> +5FU	UiO-66-His	UiO-66-His+5FU
v(NH <sub>2</sub> )	3466	3444	-	-
	3363	3371	-	-
v(NH)	-	-	3373	3371
v(CH)	2958	2958	2958	2958
	2926	2925	2928	2925
v(C=O)	-	1687	-	1687
δ(NH <sub>2</sub> )	1573	1573	-	-
δ(NH)	-	-	1568	1567
v(C=C)	1497	1498	1500	1499
v(COO <sup>-</sup> )	1434	1433	1426	1428
	1389	1389	1390	1389
v(C-C)	1259	1259	1258	1256
v(C-N)	1160	1161	1163	1162
v(Zr-O-Zr)	767	768	766	767
	666	666	666	666
	572	577	567	573



Obr. 1 IČ spektrá pripravených materiálov

Následne bolo pomocou práškovej röntgenovej difrakčnej analýzy zistené, že materiály boli pripravené v nanokryštalickej forme a majú kubickú základnú bunku s veľkosťou hrany 20 Å. Z nameraných záznamov bolo možné vypočítať aj veľkosť kryštalinity, ktorá bola stanovená na priemernú hodnotu 20 nm. Namerané PXRD záznamy pripravených materiálov sú zobrazené na obrázku 2.

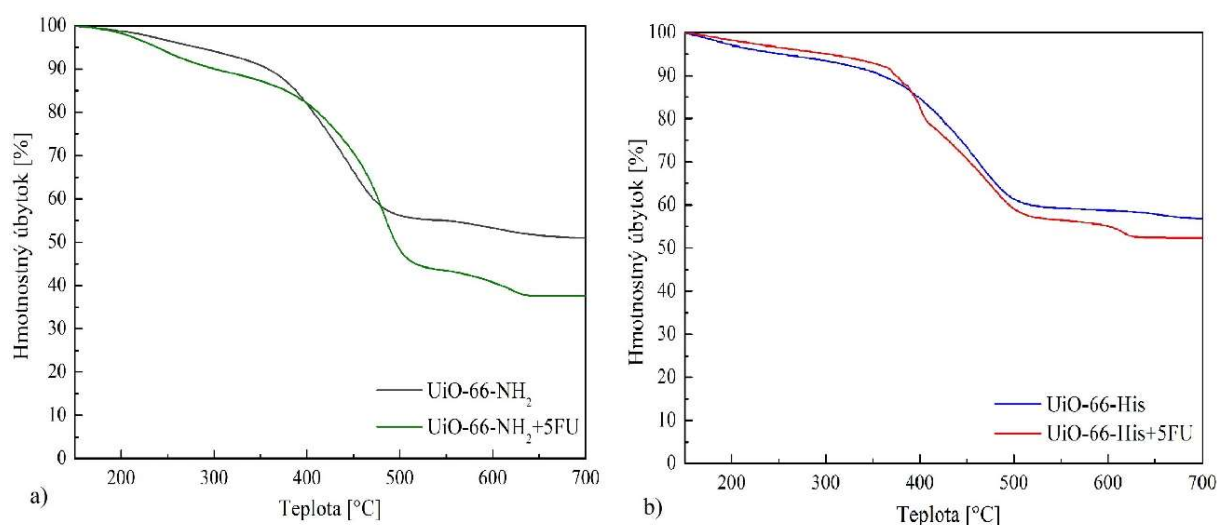


Obr. 2 Práškové röntgenové difrakčné záznamy pripravených materiálov

Na štúdium textúrnych vlastností bola využitá adsorpcia a desorpcia argónu. Veľkosť povrchu ( $S_{BET}$ ) bola vypočítaná pre nemodifikované vzorky UiO-66-NH<sub>2</sub> 1086 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup> a pre UiO-66-NH<sub>2</sub>+5FU 604

$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Modifikované materiály UiO-66-His a UiO-66-His+5FU mali špecifické povrchy 977 a 881  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Z dát objemu a polomeru pórov pre vzorky bez liečiva, teda UiO-66-NH<sub>2</sub> ( $0,462 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ , 0,552 nm) a UiO-66-His ( $0,496 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ , 0,552 nm) boli pozorované takmer totožné hodnoty, čo hovorí o viazaní histidínu prevažne na externom povrchu materiálu, čo je dôležité z hľadiska biologických testov.

Z výsledkov termogravimetrickej analýzy, ktoré sú zobrazené na obrázku 3, bolo zistené, že v prípade materiálu UiO-66-NH<sub>2</sub> bol celkový hmotnostný úbytok 48,68 %. Pri vzorke UiO-66-NH<sub>2</sub>+5FU to bolo 62,39 %, pričom množstvo uzavretého liečiva v pórovitej štruktúre bolo stanovené na 137,1 mg na 1 g materiálu. Celkový úbytok hmotnosti vzorky UiO-66-His bol 43,19 % a vzorky UiO-66-His+5FU 47,69 %. Množstvo uzavretého liečiva v póroch vzorky UiO-66-His+5FU bolo vypočítané na 45 mg na 1 g materiálu.

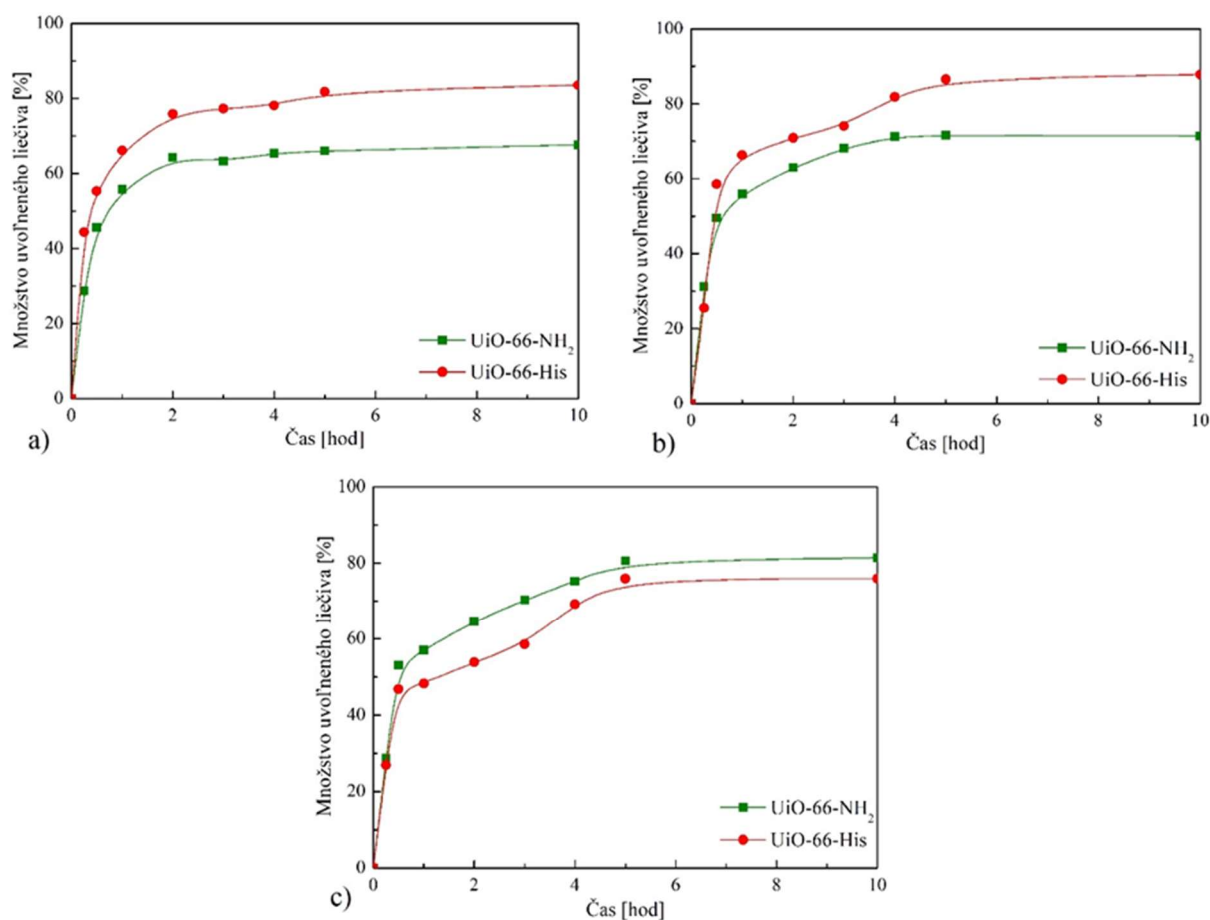


Obr. 3 Termoanalytické krivky pre a) nemodifikované vzorky a b) modifikované vzorky

Experimenty na štúdium uvoľňovania liečiva boli realizované pri teplote 37 °C v prostrediach s rôznymi hodnotami pH, ktoré simulovali prostredie žalúdočnej kyseliny ( $pH = 2,04$ ), fyziologické prostredie nádorových buniek ( $pH = 5,5$ ) a intravenózne prostredie, respektíve fyziologické prostredie zdravých buniek ( $pH = 7,4$ ). Maximálne uvoľnené množstvá 5-fluorouracilu sú zhrnuté v tabuľke 2 a uvoľňovacie krivky sú zobrazené na obrázku 4.

Tab. 2: Maximálne uvoľnené množstvá 5-fluorouracilu z pripravených nosičov liečiv

pH	Vzorka	Uvoľnené množstvo liečiva po 10 h		
		[%]	[ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ]	[ $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ]
2	UiO-66-NH <sub>2</sub> +5FU	67,67	33,79	0,26
	UiO-66-His+5FU	83,54	24,21	0,19
5,5	UiO-66-NH <sub>2</sub> +5FU	71,40	35,66	0,28
	UiO-66-His+5FU	87,79	25,44	0,20
7,4	UiO-66-NH <sub>2</sub> +5FU	81,42	40,66	0,31
	UiO-66-His+5FU	75,94	22,01	0,17



Obr. 4 Uvoľňovacie krivky 5-fluorouracilu z materiálov UiO-66-NH<sub>2</sub>+5FU a UiO-66-His+5FU v roztokoch s rôznym pH a) pH = 2,04 b), pH = 5,5 a c) pH = 7,4

Pri hodnote  $pH = 2,04$  (NaCl/HCl) je možné pozorovať rapídne uvoľnenie liečiva v priebehu jednej hodiny, počas ktorej sa uvoľnilo 55,15 % (27,87 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva z materiálu UiO-66-NH<sub>2</sub> a 66,14 % (19,17 mg·g<sup>-1</sup>) z modifikovaného materiálu UiO-66-His. Počas nasledujúcej hodiny bolo uvoľnených ďalších 9 % (4,21 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva z nedomodifikovaného materiálu, zatiaľ čo z modifikovaného materiálu bolo uvoľnených 9,73% (5,95 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva. V ďalších hodinách uvoľňovania bolo pozorované plató, kde nastala rovnovážna koncentrácia liečiva. Celkovo sa po 10 hodinách uvoľnilo 67,67 % (33,79 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva z materiálu UiO-66-NH<sub>2</sub> a 83,54 % (24,21 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva z materiálu UiO-66-His.

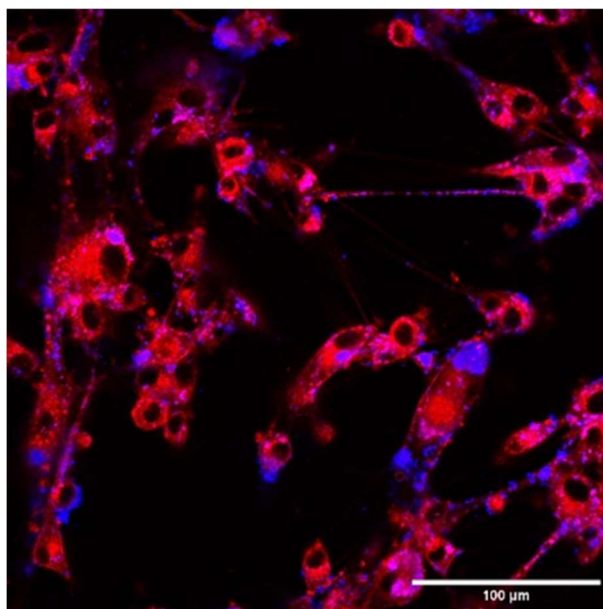
V prípade hodnoty  $pH = 5,5$  (KCl/HCl) bolo pozorované predĺžené uvoľňovanie 5-fluorouracilu z oboch matric, kde najväčší podiel bol uvoľnený v priebehu 30 minút. V tomto čase sa z materiálu UiO-66-NH<sub>2</sub> uvoľnilo 49,60 % (24,77 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva, pričom z materiálu UiO-66-His bolo uvoľnených 58,56 % (16,97 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva. Predĺžené uvoľňovanie bolo pozorované v intervale 0,5 až 4 hodiny, kedy sa uvoľnilo ďalších 21,62 % (10,8 mg·g<sup>-1</sup>) z UiO-66-NH<sub>2</sub>. Modifikovaný MOF UiO-66-His uvoľnil v tomto intervale 23,28 % (8,11 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva. Následne bola dosiahnutá rovnovážna koncentrácia v sústave, a teda je možné pozorovať plató v intervale 4 až 10 hodín. Celkové množstvo uvoľneného 5-fluorouracilu po 10 hodinách pri hodnote  $pH = 5,5$  bolo 71,40 % (35,66 mg·g<sup>-1</sup>) pre nedomodifikované častice a 87,79 % (25,44 mg·g<sup>-1</sup>) pre modifikované častice.

Pri systémoch s hodnotou  $pH = 7,4$  (NaCl/NaOH) bol pozorovaný opačný trend v prípade celkového uvoľneného množstva liečiva a zároveň bolo pozorované predĺžené uvoľňovanie liečiva oproti predošlému prípadu. Najväčšia frakcia uvoľneného liečiva bola v intervale 30 minút, kedy sa uvoľnilo 53,06 % (26,50 mg·g<sup>-1</sup>) 5-fluorouracilu z matrice UiO-66-NH<sub>2</sub> a matrica UiO-66-His uvoľnila v tomto intervale 46,80 % (13,56 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva. Predĺžené uvoľňovanie bolo pozorované pre oba materiály v rozmedzí 0,5 až 5 hodín. V tomto intervale bolo uvoľnených ďalších 27,55 % (11,06 mg·g<sup>-1</sup>) 5-fluorouracilu pre UiO-66-NH<sub>2</sub> a 29,14 % (8,45 mg·g<sup>-1</sup>) liečiva z UiO-66-His. Interval 5 až 10 hodín vykazoval plató. Celkové množstvo uvoľneného liečiva z matric v prípade

hodnoty  $pH = 7,4$  po 10 hodinách bolo 81,42 % ( $40,66 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) pre nemodifikovanú formu a 75,94 % ( $22,01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) medikamentu pre modifikovaný materiál.

Z výsledkov vyplýva, že modifikáciou materiálu histidínom je možné kontrolovať uvoľňovanie liečiva v závislosti od  $pH$ , pričom v kyslom prostredí sa liečivo uvoľňovalo rýchlejšie a vo väčšom množstve z modifikovaného materiálu. V prostredí s  $pH = 7,4$  sa pozoroval opačný trend.

Biologická aktivita pripravených materiálov bola študovaná na gliómových bunkových líniách U87 MG so zameraním sa na pozorovanie prestupu častíc do intrabunkového priestoru vplyvom modifikácie. Na obrázku 5 je možné pozorovať červené nádorové bunky, ktoré sú zafarbené hypericínom. Modrá farba znázorňuje nanočastice modifikovaného materiálu UiO-66-His vyskytujúce sa v medzibunkovom priestore a ružovou farbou sú zvýraznené nanočastice, ktoré interagujú s hypericínom v intrabunkovom priestore. Súčasne bolo pozorované, že modifikácia povrchu nanočastíc zabezpečila lepší prechod bunkovou membránou a bol pozorovaný transport častíc medzi bunkami cez bunkové spojenia. Zároveň bola sledovaná proliferácia buniek na základe podávaných cytostatík 5-fluorouracilu. Bolo zistené, že na základe riadeného uvoľňovania liečiva boli bunky usmrčovanej efektívnejšie modifikovanými vzorkami s menším množstvom liečiva ako nemodifikované vzorky s väčším obsahom liečiva a dokázali sa vyrovnáť čistému liečivu podávaného k bunkovej línii.



Obr. 5 Snímka gliómových bunkových línií a nanočastíc UiO-66-His

## Záver

Výskum bol zameraný na štúdium syntézy a analýzy materiálu na báze metalo-organických sietí, konkrétne UiO-66-NH<sub>2</sub>, pre aplikáciu v oblasti cieleného transportu liečiv. Príprava základného materiálu bola uskutočnená solvotermálnou syntézou, počas ktorej ako prekursor boli využité chlorid zirkoničitý a kyselina 2-aminotereftalová. Post-syntetická modifikácia bola uskutočnená prostredníctvom amidickej väzby, kde na ochránenie voľných -NH<sub>2</sub> skupín v molekulách histidínu bol použitý Boc<sub>2</sub>O. Bola uskutočnená post-syntetická povrchová modifikácia voľných amínových skupín molekulami histidínu. Nakoniec bol uzavretý 5-fluorouracil ako proti nádorové liečivo do pórovitej štruktúry pripravených vzoriek. Pripravené vzorky boli charakterizované dostupnými fyzikálno-chemickými metódami, ako je infračervená spektroskopia, prášková röntgenová difrakčná analýza, adsorpcia/desorpcia argónu a termogravimetrická analýza.

Z hľadiska skúmania vlastností bol kladený dôraz na štúdium uvoľňovania liečiva, počas ktorého bol pozorovaný významný vplyv modifikácie, keďže v kyslom prostredí sa liečivo uvoľňovalo rýchlejšie a vo väčšom množstve z modifikovaného materiálu. Výsledky testov na biologickú aktivitu poukázali na prestupovanie častíc do intrabunkového priestoru vplyvom modifikácie. Bolo preukázané, že povrchová modifikácia nanočastíc zabezpečila lepší prechod bunkovou membránou a na základe

riadeného uvoľňovania liečiva došlo k efektívnejšiemu usmrcovaniu buniek v porovnaní s nemodifikovanými časticami.

## PodĎakovanie

Výskum bol podporený projektovými schémami: APVV ITMS2013+: 313011AUW7 NANO VIR a vvgS-2022-2184.

## Literatúra

BUNZEN, H., 2021. Chemical Stability of Metal-organic Frameworks for Applications in Drug Delivery. In: ChemNanoMat [online]. Vol. 7, no. 9, [cit. 2024-04-03]. ISSN 2199-692X. Dostupné z: doi:10.1002/cnma.202100226.

KATZ, M. et. al., 2013. A Facile Synthesis of UiO-66, UiO-67 and their Derivatives. In: Chemical Communications [online]. Vol. 49, no. 82, [cit. 2024-04-05]. ISSN 1359-7345. Dostupné z: doi:10.1039/c3cc46105j.

KUMARI, P., GHOSH, B., BISWAS, S., 2016. Nanocarriers for Cancer-targeted Drug Delivery. In: Journal of Drug Targeting [online]. Vol. 24, no. 3, [cit. 2024-04-02]. ISSN 1061-186X. Dostupné z: doi:10.3109/1061186X.2015.1051049.

LIU, X., 2020. Metal-organic Framework UiO-66 Membranes. In: Frontiers of Chemical Science and Engineering [online]. Vol. 14, no. 2, [cit. 2024-04-03]. ISSN 2095-0179. Dostupné z: doi:10.1007/s11705-019-1857-5.

PERSAUD-SHARMA, D. et. al., 2017 Disparities in Brain Cancer in the United States: A Literature Review of Gliomas. In: Medical Sciences [online]. Vol. 5, no. 3, [cit. 2024-04-02]. ISSN 2076-3271. Dostupné z: doi:10.3390/medsci5030016.

SURYAWANSHI, Y., R., SCHULZE, A., J., 2021. Oncolytic Viruses for Malignant Glioma: On the Verge of Success?. In: Viruses [online]. Vol. 13, no. 7, [cit. 2024-04-02]. ISSN 1999-4915. Dostupné z: doi:10.3390/v13071294.

TEWABE, A. et. al., 2021. Targeted Drug Delivery — From Magic Bullet to Nanomedicine: Principles, Challenges, and Future Perspectives. In: Journal of Multidisciplinary Healthcare [online]. Vol. 14, [cit. 2024-04-03]. ISSN 1178-2390. Dostupné z: doi:10.2147/JMDH.S313968.

# ANTRACHINÓNOVÝ PROFIL VYBRANÝCH ZÁSTUPCOV RASTLÍN RODU *HYPERICUM*

*Anthraquinone profile of selected representatives of the genus Hypericum*

Romana Mižáková, Miroslava Bálintová, Katarína Bruňáková

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

**Abstrakt:** Antrachinónové deriváty sú najväčšou skupinou prírodných chinónov. Prirodzene sa vyskytujú v rastlinách, ale aj iných organizmoch, ako sú baktérie, huby a niektoré živočíchy. Patria k zlúčeninám, ktoré sú typické pre *Hypericum* spp. V rastlinách sa vyskytujú vo forme aglykónov, ale aj O- a C-glykozidov. Cieľom tejto práce je detegovať antrachinónové deriváty a ich aglykónové aj glykozidové formy s použitím vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC). V analyzovaných vzorkách sme detegovali látky antrachinónovej povahy, konkrétne deriváty emodínu (označené „E“) a skyrín (označené „S“). V populácii *Hypericum* sp. *in situ* sme zaznamenali najväčšiu variabilitu v rámci skyrínových derivátov (S1-S3, S5-S8). Najviac emodínových derivátov sme detegovali vo výhonkoch *H. perforatum* kultivovaných v podmienkach *in vitro*. Povahu detegovaných antrachinónových derivátov sme zisťovali kyslou a alkalickou hydrolyzou, na základe ktorej sa potvrdili predpoklady, že ide o O-glykozidy, s výnimkou metabolitov S5 a S6, ktoré sa pri kyslej hydrolyze úplne neštiepili. Predpokladáme, že ide o C-glykozidy, resp. že obsahujú vo svojej štruktúre aglykóny s antrachinónovou štruktúrou.

**KLúčové slová:** *Hypericum* spp., antrachinónové glykozidy, emodín, skyrín, HPLC

**Abstract:** Anthraquinone derivatives are the largest group of natural quinones. They occur naturally in plants, but also in other organisms such as bacteria, fungi and some animals. They belong to compounds that are typical for *Hypericum* spp. In plants, they occur in form of aglycones, but also O- and C-glycosides. The aim of this work is to detect anthraquinone derivatives and their aglycone and glycoside forms using high performance liquid chromatography (HPLC). In the analyzed samples, we detected substances of anthraquinone nature, specifically derivatives of emodin (labeled "E") and skyrin (labeled "S"). In the population of *Hypericum* sp. *in situ* we recorded the greatest variability within skyrin derivatives (S1-S3, S5-S8). We detected the most emodin derivatives in the shoots of *H. perforatum* cultivated under *in vitro* conditions. We determined the nature of the detected anthraquinone derivatives by acid and alkaline hydrolysis, based on which the assumptions that they are O-glycosides were confirmed, with the exception of metabolites S5 and S6, which were not completely cleaved during acid hydrolysis. We assume that they are C-glycosides, or that they contain aglycones with an anthraquinone structure in their structure.

**Keywords:** *Hypericum* spp., anthraquinone glycosides, emodin, skyrin, HPLC

## Literárny prehľad

Rod *Hypericum* zahŕňa viac ako 500 druhov, ktoré sú taxonomicky zaradené do 36 sekcií (Robson, 2016), spomedzi ktorých je najviac študovaným a charakterizovaným druhom *Hypericum perforatum* L. (ľubovník bodkovaný). Phytochemická analýza jednotlivých druhov *Hypericum* spp. taxonomicky zaradených do rôznych sekcií tohto rodu preukázala prítomnosť farmakologicky účinných látok s antidepresívnymi, protirakovinovými či antivírusovými účinkami. Sekundárne metabolity tohto rodu najčastejšie patria k naftodiantrónom, floroglucinolom, fenolovým kyselinám, flavonoidom či xantónom (Bálintová a kol., 2019; Ion a kol., 2022). Antrachinóny sa prirodzene vyskytujú vo vakuolách rastlinných buniek v mnohých rastlinných čeľadiach, ako napr. *Hypericaceae*, *Polygonaceae*, *Fabaceae*, *Rubiaceae*, *Rhamnaceae*, *Liliaceae*, *Verbenaceae* či *Valerianaceae* (Wang a kol., 2021; Wang a kol., 2023).

V rámci rodu *Hypericum* sú najvýznamnejšími antrachinónovými derivátmi predovšetkým naftodiantróny hypericín a pseudohypericín, ich protoformy protohypericín a protopseudohypericín, antrachinón emodín a bisantrachinóny skyrín, oxyskyrín, iridoskyrín, rubroskyrín a luteoskyrín (Pradeep a kol., 2020). Identifikované boli aj glykozidy S-(+)-skyrín-6-O- $\beta$ -glukopyranozid, R-(-)-



skyrín-6-O- $\beta$ -glukopyranozid, S-(+)-skyrín-6-O- $\beta$ -xylopyranozid a S-(+)-skyrín-6-O- $\alpha$ -arabinofuranozid, 1,2,4,5-tetrahydroxy-7-metyl-9,10-antrachinón-2-O- $\beta$ -glukopyranozid a skyrín-6-O- $\beta$ -glukopyranozid (Wirz a kol., 2000; Kimáková a kol., 2018; Revuru a kol., 2020).

Antrachinóny môžu vznikáť polyketidovou (napr. emodín a chryzofanol) alebo šikimátovou dráhou (napr. alizarín) (Diaz-Muñoz a kol., 2018). Podľa rozdielu v štruktúre možno antrachinónové zlúčeniny rozdeliť do dvoch hlavných kategórií: antrachinóny emodínového typu s dvomi hydroxylovými skupinami na uhlíkoch C1 a C8 a antrachinóny alizarínového typu, ktoré majú hydroxylovú skupinu len na uhlíku C1 (Wang a kol., 2023). Antrachinóny sa môžu vyskytovať vo forme aglykónov alebo glykozidov. Glykozidy predstavujú veľkú skupinu sekundárnych metabolitov v rastlinách a pozostávajú z dvoch viazaných častí – sacharidovej (glykón,) a nesacharidovej (aglykón alebo genín), ktoré sú spojené glykozidickou väzbou (Bartnik a Facey, 2017; Louie a kol., 2020; Soto-Blanco, 2022). Aglykón je naviazaný na anomérny C1 uhlík glykónu. Vďaka prítomnosti glykónu sú glykozidy rozpustné vo vode. Najbežnejším glykónom je glukóza a vytvorené glykozidy sú známe ako glukozidy. Ďalšie typické glykóny zahŕňajú l-ramnózu (ramnozidy), l-fruktózu (fruktozidy), l-arabinózu (arabinozidy) a kyselinu glukurónovú (glukuronidy) (Soto-Blanco, 2022). Na základe toho, cez ktorý atóm vzniká glykozidická väzba medzi sacharidom a aglykónom, možno glykozidy rozlíšiť na O-glykozidy, N-glykozidy, S-glykozidy a C-glykozidy, pričom najbežnejšími glykozidmi v rastlinách sú O-glykozidy (Bartnik a Facey, 2017; Soto-Blanco, 2022). Antrachinónové deriváty sa najčastejšie vyskytujú v O- a C- glykozidovaných formách (Soto-Blanco, 2022).

Glykozylácia sekundárnych metabolitov má v rastlinách kľúčovú úlohu v rôznych biologických procesoch. V dôsledku glykozylácie sú hydrofóbne metabolity lepšie rozpustné, čo ovplyvňuje ich biologickú distribúciu a metabolizmus, nakoľko zvýšená rozpustnosť umožňuje ich transport cez bunkové membrány. Naviazanie glykónu na metabolity zvyšuje ich molekulovú hmotnosť a teplotu topenia, čo zvyšuje stabilitu prchavých zlúčenín. To umožňuje syntézu a uskladňovanie prekursorov prchavých zlúčenín, ktoré sa môžu uvoľniť v prípade potreby hydrolýzou. Stabilita glykozylovaných metabolitov závisí od polohy, kde je naviazaný glykón (napr. 6-O-glukozidy kyseliny askorbovej sú menej stabilné než jej 2-O-glukozidy či neglykozylovaná kyselina askorbová). Okrem toho glykozylácia predstavuje detoxikačný mechanizmus toxických látok, ktoré sa môžu v prípade obrany proti parazitom a bylinožravcom reaktivovať na aglykóny (napr. produkcia kyanogénnych glykozidov rastlinami) (Kytidou a kol., 2020).

Glykozidovú väzbu možno štiepiť použitím chemických a enzymatických činidiel (Brito-Arias, 2022) alebo prostredníctvom glykozyláz v procese hydrolýzy (Kytidou a kol., 2020). V kyslom prostredí dochádza k acetolýze glykozidu. Vo všeobecnosti sú v dôsledku C-C väzby stabilnejšie C-glykozidy a pri kyslej hydrolýze dochádza prednostne k rozpadu O-glykozidov (Xie a kol., 2022). Na degradáciu O-glykozidov postačuje prostredie s mierne zníženým pH (Brito-Arias, 2022).

## Materiál a metódy

### Rastlinný materiál a kultivačné podmienky

Rastlinný materiál použitý v tejto práci predstavujú populácie *in situ* rastlín rodu *Hypericum*, ktoré boli zbierané v areáli Botanickej záhrady UPJŠ a *in vitro* kultúry výhonkov druhov rodu *Hypericum* (*H. perforatum*, *H. annulatum*, *H. tomentosum*) s potvrdenou biosyntézou hypericínu a hypericín neprodukujúcich rastlín (*H. pulchrum*, *H. kalmianum*, *H. androsaemum*), ktoré sú súčasťou explantátovej banky Katedry genetiky UPJŠ. *In vitro* výhonky boli kultivované na tuhom MS médiu s obsahom minerálnych solí podľa Murashige & Skoog (1962), vitamínmi B5 podľa Gamborg a kol. (1968), 30 g/l sacharózy, 2 mg/l glycínu a 7g/l agaru za štandardných podmienok: teplota  $24 \pm 2$  °C, 40% relatívna vlhkosť vzduchu, fotoperiódá 16/8 hodín (svetlo/tma) a iradiácii 90  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . pH médií bolo pred sterilizáciou v autokláve upravené na hodnotu 5,6 – 5,65 a médiá boli rozliate do kultivačných nádob po 30 ml. Subkultivácia prebiehala v pravidelných 5 – 6 týždňových intervaloch, jedna kultivačná nádoba obsahovala 8 výhonkov dlhých cca. 2 cm. Korene boli prenesené do tekutého média s rovnakým zložením na odvodnenie koreňových kultúr, ktoré boli kultivované v tme na rotačnej trepačke (120 rpm) za štandardných podmienok.

## Príprava vzoriek na HPLC analýzu

Rastlinný materiál sme nechali vysušiť pri izbovej teplote, následne bol dosušený v sušičke BINDER pri teplote 40 °C a zhomogenizovaný v homogenizátore TissueLyser II Qiagen. 500 mg zhomogenizovanej sušiny bolo extrahovaných v 50 ml 100 % metanolu (MeOH) ultrazvukom 30 min. pri laboratórnej teplote. Filtrát bol odparený do sucha pri teplote 40°C a 60 rpm pomocou rotačného evaporátora (Hei-VAP Advantage G1 HL; Heidolph, Nemecko) napojeného na vákuovú pumpu (KNF Laboport N 816.3KT.18, Neuberger), pričom vznikol tzv. odparok. Na prípravu organických frakcií bol použitý prístup kvapalina – kvapalina (LLE). Odparok bol dvojkrokovovo sekvenčne rozdelený do frakcií destilovaná voda a hexán v pomere 1:1. Horná, zreteľne oddelená vrstva, ktorú predstavovala hexánová frakcia, bola odparená do sucha pri teplote 40°C pomocou rotačného evaporátora. Spodná, vodná frakcia, bola následne extrahovaná pomocou deliaceho lievika do 25 ml etylacetátu. Etylacetátová frakcia (opäť horná vrstva) bola pomocou rotačného evaporátora odparená do sucha pri teplote 40°C a pri 60 rpm. Odparok oboch frakcií boli rozpustené v 1,5 ml 100% MeOH (Sigma, Nemecko) a uskladnené v tme až do HPLC analýzy.

Na analýzu metabolického profilu koreňov bolo použitých 100 mg zhomogenizovaného materiálu, ktorý bol extrahovaný v 1,5 ml 100% MeOH v ultrasonifikačnej vani po dobu 30 min, ktoré boli následne centrifugované 20 min. pri 14 000 rpm. Supernatant bol uskladnený v tme a priamo použitý na HPLC analýzu.

Na prípravu vzoriek na hydrolyzu bolo použitých 50 mg zhomogenizovanej sušiny výhonkov *in situ*, ktorá bola extrahovaná 1,5 ml 100% metanolu v ultrasonifikačnej vani po dobu 30 min. pri izbovej teplote. Vzorky boli následne centrifugované 20 min. pri 14 000 rpm. Po centrifugácii bol odobratý supernatant, ktorý bez ďalšieho zásahu slúžil ako kontrolná vzorka. K zvyšnému supernatantu bola v prípade kyslej hydrolyzy pridaná 12% HCl tak, aby bola výsledná koncentrácia 1,65; 2,2; 2,357; 2,475 M HCl. Jednotlivé vzorky boli inkubované vo vodnom kúpeli s teplotou 40°C/50°C/60°C 0,5 až 2,5 hodiny v polhodinových intervaloch. Po uplynutí požadovaného časového intervalu bola reakcia zastavená buď umiestnením vzorky do ľadu, alebo pridaním 24 % NaOH. Pri alkalickéj hydrolyze bol postup prípravy extraktu rovnaký. K supernatantom bol pridaný 24% NaOH, s výslednou koncentráciou v zmesi 0,667; 1,2; 2; 2,57; 3 M NaOH. Vzorky boli inkubované vo vodnom kúpeli s teplotou 50°C 2 hodiny. Po ukončení inkubačného času bola reakcia zastavená pridaním 12% HCl a umiestnením vzoriek do ľadu v tme až do HPLC analýzy.

## Gradientová vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC)

Obsah sekundárnych metabolitov bol analyzovaný vysokoúčinnou kvapalinou chromatografiou (HPLC) s využitím systému Agilent 1260 HPLC (Agilent Technologies, USA) vybaveného DAD („diode array detector“) a UV-Vis (ultraviolet-visible) lampou. Analyzované metabolity boli identifikované na základe porovnania absorbných spektier a retenčných časov chromatografických pík a príslušných referenčných látok (štandardov). Kvantifikácia prebehla na základe kalibračných kriviek. Antrachinónové deriváty a ich glykozidované formy boli detegované pri vlnovej dĺžke 440 nm podľa Mižáková (2022) s využitím kolóny Kinetex C18 100Å 150 x 4,6 mm s veľkosťou častíc 5 µm (Phenomenex, USA) a teplotou 30°C. Injekčný objem vzoriek bol 20 µl a prietok fázy 0,9 ml/min. Mobilná fáza sa miešala z roztoku A – 5% acetonitril (ACN; Centralchem, Slovensko), a roztoku B – 80% ACN (Tab. 1). pH oboch roztokov bolo upravené na 2,7 použitím 25% kyseliny trifluoroctovej (TFA).

Tab. 1: Nastavenie elučných podmienok na analýzu antrachinónov podľa Mižáková (2022)

Roztok	0 min.	20 min.	25 min.	35 min.	40 min.	45 min.
A (5% ACN)	100 %	40 %	26 %	26 %	0 %	100 %
B (80% ACN)	0 %	60 %	74 %	74 %	100 %	0 %

## Výsledky a diskusia

Na extrakciu antrachinónov sa zvyčajne používajú polárne rozpúšťadlá ako etanol, metanol, acetón a ich zmesi (Duval a kol., 2016). Podľa viacerých autorov je kvôli vyššej výťažnosti extrakcie preferovaný metanol (Genovese a kol., 2010; Jawade a Chavan, 2013). Vysušený rastlinný materiál sme extrahovali v metanole za použitia ultrazvuku, ktorý sa využíva na zvýšenie účinnosti extrakcie (Albu a kol., 2004 a Jibril a kol., 2018). V našej práci sme na prípravu vzoriek použili extrakciu kvapalina-kvapalina (LLE, liquid-liquid extraction), ktorá sa bežne využíva na separáciu hydrofóbných zložiek (Karioti a kol., 2009). Podľa Locatelli a kol. (2012) je na extrakciu aglykónov vhodné použitie zmesi nepolárneho rozpúšťadla s vodou, pričom glykozidy a dimerické formy antrachinónov sa prednostne uvoľňujú do etylacetátu (Donfack a kol., 2014). Z tohto dôvodu sme využili dvojkrokovú sekvenčnú extrakciu antrachinónových derivátov hexánom a etylacetátom. Na základe aspoň 90% zhody absorbných spektier (AS) s komerčne dostupnými štandardmi emodínu a skyrínu sme v zástupcoch *Hypericum* spp. detegovali 11 píkov zodpovedajúcich derivátom emodínu (metabolity označené ako „E“) a derivátom skyrínu (metabolity označené ako „S“) v nasledovných retenčných časoch (Rt): E1 (Rt = 15,9 min), E5 (Rt = 24,6 min), S1 (Rt = 17,4 min), S2 (Rt = 18,6 min), S3 (Rt = 18,8 min), S4 (Rt = 18,9 min), S5 (Rt = 22,9 min), S6 (Rt = 23,1 min), S7 (Rt = 24,9 min), S8 (Rt = 25,1 min) a S11 (Rt = 19,9 min). Metabolit E1 sa extrahoval do hexánovej fázy, kým E5 sme detegovali v etylacetátovej fáze, ktorá má v porovnaní s hexánom vyššiu polaritu. Metabolity skyrínového typu S4-S8 sa extrahovali do oboch fáz.

V rastlinách *Hypericum* spp. kultivovaných *in vitro* sme identifikovali antrachinónové deriváty len v hypericín-produkujúcich druhoch *H. perforatum* a *H. annulatum*. V rámci *in vitro* rastlín sa antrachinónový profil *H. perforatum* a *H. annulatum* odlišoval (Tab. 2); antrachinónové deriváty S5 a S6, ktoré boli najviac zastúpené v *H. perforatum*, v *H. annulatum* detegované neboli. V *H. annulatum* bol najviac zastúpený metabolit S7 a detegovali sme tam aj metabolity S3 a S11. Predpokladáme, že v *H. tomentosum* bol obsah antrachinónových derivátov pod detekčným limitom. Podľa Henzelyová a Čellárová (2018) je obsah hypericínov v listoch *H. tomentosum* nízky kvôli prítomnosti nízkeho počtu tmavých nodulov, čo sa môže vzťahovať aj na naše antrachinóny. V koreňoch sme nedetegovali antrachinónové deriváty.

Tab. 2: Obsah metabolitov v µg/ 1mg sušiny vo vzorkách *H. perforatum* a *H. annulatum* kultivovaných v podmienkach *in vitro*. (nd – nedetegované)

	E1	E5	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S11
<i>H. perforatum</i> ( <i>in vitro</i> )	0,0181	0,0031	nd	0,0042	0,1549	0,0332	nd	0,0056	nd
<i>H. annulatum</i> ( <i>in vitro</i> )	0,0036	nd	0,0015	0,0075	nd	nd	0,0218	0,0068	0,0048

Vzhľadom na prirodzene vyšší obsah sekundárnych metabolitov v rastlinách pochádzajúcich z prírodných populácií, sme najviac metabolitov zachytili v *Hypericum* sp. (Tab. 3). Predpokladáme, že ide o O-glykozidy, ktorých produkcia bola v rode *Hypericum* potvrdená (Wirz a kol., 2000; Kimáková a kol., 2018; Revuru a kol., 2020). Pri kyslej hydrolýze sa rozkladali skoro všetky antrachinóny s výnimkou S5 a S6, ktorých časť zostávala v stabilnom množstve bez ohľadu na teplotu, dĺžku hydrolýzy a koncentráciu HCl. Úplný rozpad S5 a S6 sme dosiahli alkalickou hydrolýzou použitím 3 M NaOH po 2 h pri 50°C. Predpokladáme, že ide o C-glykozidy, ktoré sa neštiepia pri kyslej (Levy a Tang, 1995), ale štiepia sa pri alkalicknej hydrolýze (Bai a kol., 2018).

Tab. 3: Obsah metabolitov v µg/ 1mg sušiny vo vzorkách *in situ* populácie *Hypericum* sp. (kontrolné vzorky; kyslá hydrolýza – 1,65 M HCl, 50°C, 2 hodiny, reakcia zastavená pomocou NaOH; alkalická hydrolýza – 2 M NaOH, 2 h, 50°C), nd - nedetegované

	E1	S1	S2	S3	S5	S6	S7	S8
Kontrola	0,0106	0,0045	0,0030	0,0050	0,0424	0,0216	0,0115	0,0082
Kyslá h.	nd	nd	nd	nd	0,0278	0,0150	nd	nd
Alkalická h.	nd	nd	nd	nd	0,0224	0,0133	nd	nd

Výsledky kyslej hydrolyzy potvrdili naše predpoklady, že metabolity E1, S1-S3, S7 a S8 sú O-glykozidmi emodínu a skyrínu, alebo ich derivátov. Na základe rozpadu metabolitov S5 a S6 pri alkalickej hydrolyze predpokladáme, že ide o C-glykozidy skyrínu, prípadne sa v rovnakom retenčnom čase zachytáva iný aglykón s antrachinónovou štruktúrou. Na presnú identifikáciu týchto metabolitov je potrebné uskutočniť ďalšie analýzy (napr. LC-MS).

## Záver

V uvedenej práci sme sa zamerali na detekciu aglykónových a glykozidových foriem antrachinónových derivátov vo vybraných zástupcoch *Hypericum* spp. Na ich identifikáciu sme použili kvapalinovú chromatografiu (HPLC-DAD). Vzorok boli pripravené dvojkrokovou sekvenčnou extrakciou LLE. Ako extrakčné činidlá sa použili nepolárny hexán, do ktorého sa prednostne extrahovali aglykóny, a etylacetát, ktorý je vhodnejší na extrakciu glykozidov. Na základe výsledkov analýzy HPLC sme potvrdili produkciu antrachinónových derivátov v hypericín-produkujúcich orgánoch, a to výhonkoch *H. perforatum* a *H. annulatum*. V hypericín-neprodukujúcich druhoch a vo všetkých koreňoch sme antrachinónové deriváty nedetegovali. Najviac rôznych skyrínových derivátov sme zaznamenali v *in situ* populácii *Hypericum* sp. Najviac metabolitov identifikovaných ako deriváty emodínu (E1 a E5) sme detegovali v *H. perforatum* (*in vitro*). Na základe výsledkov hydrolyzy sme potvrdili, že metabolity E1, S1-S3, S7 a S8 predstavujú O-glykozidy. V prípade S5 a S6 predpokladáme, že ide buď o C-glykozidy, alebo zmes O-glykozidov s neznámym antrachinónovým aglykónom. Presné určenie štruktúry vyžaduje ďalšie analýzy (napr. LC-MS).

## PodĎakovanie

Táto práca bola financovaná z grantu VEGA 1/0546/22.

## Literatúra

- Albu, S. a kol. (2004): Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. In *Ultrason Sonochem.* 11(3-4):261-5. doi: 10.1016/j.ulsonch.2004.01.015.
- Bai, H-H. a kol. (2018): Hydroxycinnamoylmalated flavone C-glycosides from *Lemna japonica*. In *Fitoterapia.* 124:211-216. doi: 10.1016/j.fitote.2017.11.010.
- Bálintová, M. a kol. (2019): Targeted metabolomic profiling reveals interspecific variation in the genus *Hypericum* in response to biotic elicitors. In *Plant Physiol Biochem.*, 135:348-358. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.12.024.
- Bartnik, M. – Facey, P.C. (2017): Glycosides. In *Pharmacognosy. Fundamentals, Applications and Strategies.* Academic Press, s. 101-161. ISBN 978-0-12-802104-0
- Brito-Arias, M. (2022). Hydrolysis of Glycosides. In: *Synthesis and Characterization of Glycosides.* Springer, Cham. s. 459-475. Online ISBN 978-3-030-97854-9
- Diaz-Muñoz, G. a kol. (2018): Anthraquinones: An Overview. In: *Studies in Natural Products Chemistry.* Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, s. 313-338. ISBN 978-0-4446-4056-7.
- Donfack, A. R. N. a kol. (2014): Two new anthraquinone dimers from the stem bark of *Pentaschimperia* (*Rubiaceae*). In: *Phytochem. Lett.* 8:55–58. doi: 10.1016/j.phytol.2014.01.012.
- Duval, J. a kol. (2016): Research advances for the extraction, analysis and uses of anthraquinones: A review. In *Industrial Crops and Products.* 94(87), s. 812-833doi: 10.1016/j.indcrop.2016.09.056.

- Gamborg, O. L. – Miller, R.A. – Ojima, K. (1968): Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. In *Exp Cell Res.*, 50(1): 151-158. doi: 10.1016/0014-4827(68)90403-5
- Genovese, S. a kol. (2010): Comparison of three different extraction methods and HPLC determination of the anthraquinones aloe-emodine, emodine, rheine, chrysophanol and physcione in the bark of *Rhamnus alpinus* L. (*Rhamnaceae*). In: *Phytochem. Anal.* 21:261–267. doi: 10.1002/pca.1195.
- Henzelyová, J. – Čellárová, E. (2018): Modulation of naphthodianthrone biosynthesis in hairy root-derived *Hypericum tomentosum* regenerants. In *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(5). s. 1-12 doi:10.1007/s11738-018-2664-1
- Ion, V. a kol. (2022): *Hypericum* spp.—An Overview of the Extraction Methods and Analysis of Compounds. In *Separations*. 9(1):17 doi: 10.3390/separations9010017
- Jawade, N.R. – Chavan, A.R. (2013): Ultrasonic-Assisted Extraction of Aloin from Aloe vera Gel. In *Procedia Engineering*, 51, s. 487-493. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.01.069>
- Jibril, S. a kol. (2019): Application of Box-Behnken design for ultrasound-assisted extraction and recycling preparative HPLC for isolation of anthraquinones from *Cassia singueana*. In *Phytochem Anal.* 30(1):101-109. doi: 10.1002/pca.2795.
- Karioti, A. – Vincieri, F.F. – Bilia, A.R. (2009): Rapid and efficient purification of naphthodianthrone from St. John's wort extract by using liquid–liquid extraction and SEC. In *J. Sep. Sci.* 32(9):1374-82. doi: 10.1002/jssc.200800700.
- Kimáková, K. a kol. (2018): Phenotyping the genus *Hypericum* by secondary metabolite profiling: emodin vs. skyrin, two possible key intermediates in hypericin biosynthesis. In *Anal Bioanal Chem.*, 410(29): 7689–7699. doi: 10.1007/s00216-018-1384-0
- Kytidou, K. a kol. (2020): Plant Glycosides and Glycosidases: A Treasure-Trove for Therapeutics. In *Front Plant Sci*, 11: 357. doi: 10.3389/fpls.2020.00357
- Levy, D. E. – Tang, C. (1995): *The Chemistry of C-Glycosides*. Pergamon Press: Oxford, eBook ISBN: 780080529011 291 s.
- Locatelli, M. a kol. (2012): Development and application of high-performance liquid chromatography for the study of two new oxyprenylated anthraquinones produced by *Rhamnus species*. In: *J. Chromatogr. A*. 1225:113–120. doi: 10.1016/j.chroma.2011.12.085.
- Louie, K. a kol. (2020): Mass Spectrometry for Natural Product Discovery. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. s. 263-306 ISBN 9780124095472 doi:10.1016/b978-0-12-409547-2.14834-6
- Mižáková, R. (2022): Aktivácia stíšených biosyntetických génových klastrov endofytických húb. Diplomová práca, 79 s.
- Murashige, T. – Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. In *Physiol. In Plantarum*, 15(3):473 – 497 doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Pradeep, M. – Kachlicki, P. – Franklin, G. (2020). Simultaneous determination of naphthodianthrone, emodin, skyrin and new bisanthrones in *Hypericum perforatum* L. in vitro shoot cultures. In: *Industrial Crops & Products*. Vol. 144. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112003>

- Revuru B. a kol. (2020): MALDI-HRMS Imaging Maps the Localization of Skyrin, the Precursor of Hypericin, and Pathway Intermediates in Leaves of *Hypericum* Species. In *Molecules.*, 31;25(17):3964. doi: 10.3390/molecules25173964.
- Robson, N. K. B. (2016): And then came molecular phylogenetics—Reactions to a monographic study of *Hypericum* (*Hypericaceae*) In *Phytotaxa.* 255(3):181 doi: 10.11646/phytotaxa.255.3.1
- Soto-Blanco, B. (2022). Herbal glycosides in healthcare. In: *Herbal Biomolecules in Healthcare Applications.* Academic Press, s. 239-282. ISBN 978-0-323-85852-6 doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85852-6.00021-4>
- Wang, D. a kol. (2021): Pharmacokinetics of Anthraquinones from Medicinal Plants. In *Front Pharmacol.*, 12: 638993. doi: 10.3389/fphar.2021.638993
- Wang, P. a kol. (2023): Plant anthraquinones: Classification, distribution, biosynthesis, and regulation. In *J Cell Physiol.*, s. 1-49 doi: 10.1002/jcp.31063.
- Wirz, A. a kol. (2000). Bisanthraquinone glycosides of *Hypericum perforatum* with binding inhibition to CRH-1 receptors. In *Phytochemistry.*, 55(8):941-7. doi: 10.1016/s0031-9422(00)00305-8.
- Xie, L. a kol. (2022): Comparison of Flavonoid O-Glycoside, C-Glycoside and Their Aglycones on Antioxidant Capacity and Metabolism during In Vitro Digestion and *In situ*. In *Foods.*, 11(6): 882. doi: 10.3390/foods11060882

# GENETICKÁ VARIABILITA ROZTOČOV ČEĽADE DAMAEIDAE (ACARI, ORIBATIDA)

*Genetic variation of mites of the family Damaeidae (Acari, Oribatida)*

**Veronika Petrovová, Andrea Rendošová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta*

**Abstrakt:** Roztoče pancierniky (Acari, Oribatida) tvoria jednu z najpočetnejších a najrozmanitejších skupín pôdnej mezofauny. Obzvlášť zástupcovia čeľade Damaeidae sa dokázali prispôsobiť širokému spektru biotopov, od povrchu až po subteránne prostredie. Druhy obývajúce povrch vykazujú vysokú genetickú variabilitu, čo súvisí s ekologickou rozmanitosťou daného prostredia, ale taktiež aj s absenciou bariér v ich šírení. Naopak, druhy obývajúce jaskyne sú viac izolované a preto je ich genetická variabilita nižšia. Predkladaný výskum je preto zameraný na zhodnotenie genetickej variability panciernikov z pôdneho povrchu v blízkosti jaskýň a panciernikov z vnútra jaskýň. Jeho prvým čiastkovým cieľom bolo vytipovať vhodné druhy čeľade Damaeidae pre štúdium genetickej variability roztočov panciernikov. Materiál bol zozbieraný zo 16 lokalít po celom Slovensku, kde je zároveň potenciál získať druhy z jaskýň rovnakej čeľade. Zber vzoriek sa realizuje metódou preosievania a metódou individuálneho zberu. Z každého jedinca je vyizolovaná DNA, z ktorej sa amplifikuje fragment génu cytochróm c oxidázovej podjednotky I. Na základe získaných dát bude možné splniť druhý cieľ štúdie a to zhodnotiť mieru genetickej variability u vybraných druhov roztočov panciernikov. Výsledky tohto výskumu prispievajú k lepšiemu pochopeniu toku génov a fungovania populácií panciernikov v prirodzených podmienkach.

**Ľúčové slová:** *pancierniky, Damaeidae, genetická variabilita, povrch, jaskyňa*

**Abstract:** Oribatid mites (Acari, Oribatida) form one of the most abundant and diverse groups of soil mesofauna. In particular, members of the Damaeidae family have been able to adapt to a wide range of habitats, from surface to subterranean environments. Surface-dwelling species show high genetic variability, which is related to the ecological diversity of the given environment, but also to the absence of barriers to their spread. On the contrary, cave-dwelling species are more isolated and their genetic variability is lower. The presented research is therefore aimed at evaluating the genetic variability of oribatid mites from the soil surface near caves and oribatid mites from inside caves. The first sub-goal was to select suitable species of the Damaeidae family for studying the genetic variability of oribatid mites. The material was collected from 16 locations throughout Slovakia, where there is also the potential to obtain species from caves of the same family. The collection of samples is carried out by the method of sieving with the method of individual collection. DNA is isolated from each individual, from which a fragment of the cytochrome c oxidase subunit I gene is amplified. Based on the obtained data, it will be possible to fulfill the second goal of the study, that is to evaluate the degree of genetic variability in selected species of oribatid mites. The results of this research will contribute to a better understanding of gene flow and the functioning of oribatid mite populations in natural conditions.

**Keywords:** *oribatid mites, Damaeidae, genetic variation, surface, cave*

## Úvod

Roztoče pancierniky (Acari, Oribatida) tvoria dominantnú skupinu malých, v pôde žijúcich článkonožcov, ktorá pozostáva z viac ako 10000 známych druhov po celom svete (Behan-Pelletier & Lindo, 2023). Mnohé z panciernikov sa dokázali prispôsobiť rôznym biotopom, vrátane subteránneho prostredia (Maraun & Scheu, 2000; Maraun a kol., 2007). Podzemné ekosystémy sa vo všeobecnosti považujú za biotopy, ktoré môžu slúžiť ako útočisko pre rôzne druhy počas nevyhovujúcich podmienok na povrchu (Kováč, Parimuchová & Miklisová, 2016). Svojimi konštantnými mikroklimatickými podmienkami sa odlišujú od povrchového prostredia, kde dochádza k výraznejším výkyvom faktorov prostredia (Yosii, 1956). Jaskynné populácie rôznych živočíchov však majú nižšiu genetickú diverzitu než povrchové (Laing, Carmody & Peck, 1976; Panaram &

Borowsky, 2005). Okrem odlišných podmienok je jedným z ďalších dôvodov výrazná izolácia jaskynných populácií s veľmi obmedzeným medzipopulačným génovým tokom (Caccone, 1985; Pérez-Moreno et al., 2017; Kokořová et al. 2021), zatiaľ čo povrchové druhy nie sú na lokálnej úrovni geograficky izolované, čo umožňuje plynulejší tok génov na väčšom území (Panaram & Borowsky, 2005).

Výskumu genetickej variability panciernikov sa doteraz venovala pomerne malá pozornosť. Bolo publikovaných niekoľko prác týkajúcich sa zástupcov čeľadí Camiisidae (Heethoff et al., 2007), Scutoverticidae (Schäffer et al., 2010) a tiež partenogenetických druhov (napr. Schaefer et al., 2005), no čeľaď Damaeidae je často prehliadaná, aj keď bola u nich objavená kryptická diverzita, neskôr podporená prítomnosťou morfológických a ekologických rozdielov (napr. Pfingstl et al., 2019). Pancierniky tejto čeľade sú tmavé, stredne veľké až veľké druhy s veľkosťou tela od 500 do 1000  $\mu\text{m}$ . Majú trojuholníkovité prodorzum (prednú časť tela), väčšinou okrúhly, pologuľovitý notogaster (zadnú časť tela) a typické sú pre nich najmä dlhé nohy s početnými chlpmi (Miko in Weigmann, 2006). Tieto pancierniky predstavujú K-strategickú, málo pohyblivú saprofágnu skupinu (Lebrun et al. in Schuster & Murphy, 1991; Norton & Behan-Pelletier, 2009), ktorá obýva rôzne povrchové habitaty, pričom málo početné spoločenstvá nájdeme aj v jaskyniach (Luptáček & Miko, 2003; Starý, 2008). Preto sú vhodnou skupinou pre porovnanie rozdielov v genetickej variabilite jaskynných a povrchových druhov.

V predkladanej štúdií sa zameriavame pochopenie toku génov a fungovania populácií panciernikov žijúcich na povrchu pôdy pred jaskyňami a vo vnútri jaskýň. Výskum má dve dôležité čiastkové ciele a to: (1) vytipovať vhodné druhy čeľade Damaeidae pre štúdium genetickej variability roztočov panciernikov; a (2) zhodnotiť mieru genetickej variability u vybraných druhov roztočov panciernikov.

## Materiál a metódy

Zber materiálu sa začal v roku 2023 na viacerých lokalitách po Slovensku. Na získanie povrchových druhov sa pred vybranými jaskyňami vykonalo preosievanie a tieto vzorky boli v laboratóriu vložené do vysoko-gradientného extraktora (Crossley & Blair 1991) na 7 dní, počas ktorých sa extrahovali všetky pôdne mikročlánkonožce. Zachytené jedince boli uschovávané v 96% etanole pri teplote -20°C až do spracovania v molekulárnom laboratóriu. Druhy obývajúce jaskyne sa ešte stále metódou individuálneho zberu zo stien jaskyne a organického materiálu, a taktiež boli uchovávané v 96% etanole v mrazničke. Aby sa zabránilo degradácii DNA, jedince boli počas celého triedenia v etanole a pozorované boli iba pod binokulárnym stereomikroskopom. Pancierniky nami študovanej čeľade boli určované podľa identifikačného kľúča od Mika (in Weigmann, 2006).

Všetky laboratórne práce s DNA sa vykonávali za sterilných podmienok, aby sa zabránilo kontaminácii vzoriek. Izolácia genomickej DNA bola vykonávaná nedeštruktívnou metódou z celých jedincov pomocou komerčného kolónkového kitu NucleoSpin®Tissue a podľa modifikovaného protokolu od Katza a kol. (2018). Táto metóda nám umožňuje získať od toho istého jedinca súčasne genetickú informáciu a aj materiál na morfológickú determináciu druhu. Inkubácia jedincov pri izolácii DNA prebiehala pri 56°C približne 18 hodín. Pri elúcii bolo použitých 50  $\mu\text{l}$  elučného pufru namiesto 100  $\mu\text{l}$ .

Polymerázová reťazová reakcia (PCR) sa uskutočnila s reakčným objemom 11,5  $\mu\text{l}$  pozostávajúcim zo 7,625  $\mu\text{l}$  ultračistej vody, 1,25  $\mu\text{l}$  10x reakčného pufru (TopBio), 1  $\mu\text{l}$  zmesi dNTPs, 0,75  $\mu\text{l}$  každého primeru, 0,125  $\mu\text{l}$  Taq polymerázy (TopBio) a 1,5  $\mu\text{l}$ , respektíve 2  $\mu\text{l}$  templátovej DNA. Univerzálne primery LCO a HCO (Folmer, 1994) a primery LCO-JJ a HCO-JJ (Astrin & Stüben, 2008) sa použili na amplifikáciu mitochondriálneho génu cytochrómoxidázovej podjednotky 1 (COI). PCR reakcia sa uskutočnila za podmienok teplotného cyklovania pre štandardné Folmerove primery: 94°C počas 1 minúty, po ktorej nasledovalo 37 cyklov (94°C počas 20 s, 47°C počas 40 s a 70°C počas 50 s), nasleduje 1 min 30 s pri 72°C. Pri použití primerov JJ boli podmienky tepelného cyklovania nasledovné: 94°C počas 3 minút, po ktorých nasledovalo 5 cyklov (94°C počas 30 s, 45°C počas 1 minúty 30 s, 72°C počas 1 minúty) a ďalších 35 cyklov (94°C počas 30 s, 51°C počas 1



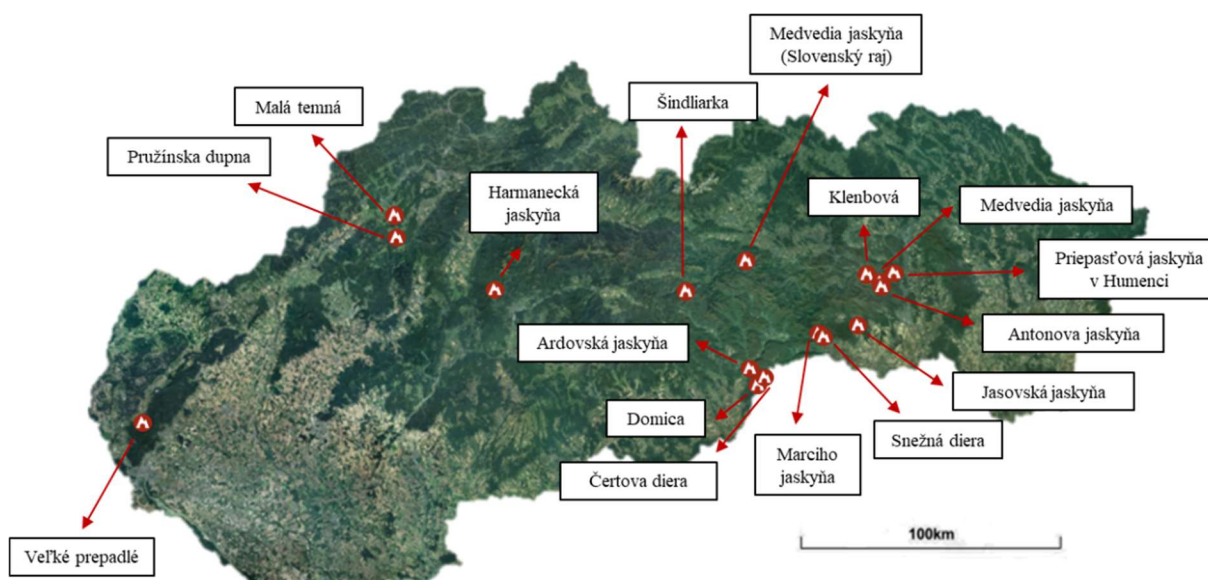
minúty 30 s a 72°C počas 1 minúty) a potom 1 minúta pri 72°C. Úspešnosť PCR reakcie bola overená elektroforézou s využitím 1,5% agarózového gélu.

Získané pozitívne produkty boli enzymaticky purifikované zmesou 0,5 µl Exonukleázy I a 1 µl FastAP (ThermoFisher Scientific, USA) na vzorku a následne inkubované pri 37°C počas 30 minút a 15 minút pri 80°C. Do prázdnej skúmavky sa pridalo 5 µl primeru, ktorý bol predtým použitý pri PCR reakcii (LCO alebo LCO-JJ) a 5 µl purifikovaného produktu. Tieto produkty sa zasielali na sekvenáciu Sangerovou metódou do Eurofins Genomics (Nemecko). Prijaté sekvencie sa upravovali pomocou programu Geneious Prime 2022.1.1 (Copyright © 2005–2022 Biomatters Ltd.), aby sa orezali nečitateľné krátke segmenty (~30 bp na 5' a 3' koncoch) a opravili nejednoznačné nukleotidy. Sekvencie boli zarovnané podľa „muscle“ (kodónového) algoritmu s použitím mitochondriálneho génového kódu bezstavovcov a predvolených parametrov. Taxonomická identita bola overená pomocou GenBank blastn vyhľadávania. Konkrétnejšie analýzy genetickej variability ešte neboli vykonané.

## Výsledky a záver

Pancierníky čeľade Damaeidae sa nachádzali v materiáli zo 16 lokalít po Slovensku (Obr. 1). Zo zozbieraného materiálu bolo vybraných 5 povrchových druhov: *Damaeus auritus* C.L.Koch, 1835, *Damaeus gracilipes* (Kulczynski, 1902), *Damaeus riparius* Nicolet, 1855, *Epidamaeus berlesei* (Michael, 1898) a *Kunstidamaeus tecticola* (Michael, 1888), ktoré sa vyskytovali vo vzorkách aspoň z 3 lokalít. Ideálny počet jedincov na molekulárne analýzy bolo 10 jedincov z každej lokality. Dokopy sa nám podarilo vybrať 163 jedincov z 10 rôznych lokalít, ktoré svojim výskytom pokryli východnú, strednú, aj západnú oblasť Slovenska. V súčasnosti máme k dispozícii prvých 63 sekvencií COI, avšak momentálne prebieha optimalizácia podmienok PCR.

V jaskyniach sme vytypovali 3 druhy: *Kunstidamaeus lengersdorfi* (Willmann, 1932), *Belba clavigera* Willmann, 1954 a *Epidamaeus berlesei* (Michael, 1898). Spomínané druhy boli nájdené vo vchodových častiach jaskýň, čo vysvetľuje výskyt druhu *E. berlesei* v oboch prostrediach. V tomto prípade máme k dispozícii sekvencie jedincov zo 4 lokalít a na ďalších lokalitách sa materiál ešte postupne zbiera. V prípade jaskynných populácií máme podmienky PCR optimalizované.



Obr. 2 Mapa lokalít, z ktorých boli odoberané vzorky

Vzhľadom na výrazný nedostatok údajov o genetických vlastnostiach pancierníkov, získané výsledky prispievajú k lepšiemu pochopeniu toku génov a fungovania povrchových a jaskynných populácií pancierníkov v prirodzených podmienkach. Genetická variabilita posluží aj ako nástroj na odhalenie prípadných kryptických druhov, ktoré nie sú morfológicky rozpoznateľné. Zvolená metóda

nedeštruktívnej extrakcie DNA umožní získať z rovnakého jedinca súčasne genetickú informáciu aj materiál na morfológickú determináciu. To je východiskový krok pre tvorbu a dopĺňanie databáz molekulárnych dát, ktoré sú v prípade panciernikov nedostatočné a často s nejednoznačnou druhovou identifikáciou. Štúdium vnútrodruhovej genetickej variability vybraných druhov teda prispieje aj k spoľahlivejšiemu morfológickému definovaniu druhov v budúcnosti a tým k správnejšiemu určeniu ich geografického rozšírenia a ekologických nárokov.

## Pod'akovanie

Pod'akovanie patrí Petrovi Ľuptáčikovi za pomoc pri zbere materiálu a determinácii druhov. Práca bola podporená projektami vvgS-2023-2565, APVV-21-0379 a VEGA 1/0438/22.

## Literatúra

ASTRIN, J. Jonas a Peter E. STÜBEN, 2008. Phylogeny in cryptic weevils: molecules, morphology and new genera of western Palaearctic Cryptorhynchinae (Coleoptera: Curculionidae). In *Invertebrate Systematics*. Vol. 22, no 5., p. 503–522.

BEHAN-PELLETIER, Valerie a Zoë LINDO, 2023. *Oribatid Mites. Biodiversity, Taxonomy and Ecology*. ISBN: 9781003214649.

CACCONE, Adalgisa, 1985. Gene flow in cave arthropods: a qualitative and quantitative approach. In *Evolution*. Vol. 39, no. 1, p. 1223–1235.

CROSSLEY, Dac a John M. BLAIR, 1991. A high efficiency, “low technology” Tullgren-type extractor for soil microarthropods. In *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Vol. 34, no. 1–4, p. 187–192.

FOLMER O, et al., 1994. DNA primers for the amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 1994; 3: 294–299.

HEETHOFF, Michael et al. 2007. High genetic divergences indicate ancient separation of parthenogenetic lineages of the oribatid mite *Platynothrus peltifer* (Acari, Oribatida). In *Journal of Evolutionary Biology*. Vol. 20, p. 392–400.

KATZ, D. Aron., Steven J. TAYLOR a Mark A. DAVIS, 2018. At the confluence of vicariance and dispersal: Phylogeography of cavernicolous springtails (Collembola: Arrhopalitidae, Tomoceridae) codistributed across a geologically complex karst landscape in Illinois and Missouri. In *Ecology and Evolution*. Vol. 8, no. 20, p. 10306–10325.

KOKOŘOVÁ, Petra et al. 2021. Distinct phylogeographic patterns in populations of two oribatid mite species from the genus *Pantelozetes* (Acari, Oribatida, Thyrisomidae) in Central Europe. In *Experimental and Applied Acarology*. Vol. 83, no. 4, p. 493–511.

KOVÁČ, Ľubomír, Andrea PARIMUCHOVÁ, Dana MIKLISOVÁ, 2016. Distributional patterns of cave Collembola (Hexapoda) in association with habitat conditions, geography and subterranean refugia in the Western Carpathians. In *Biological Journal of the Linnean Society*. Vol. 119, no. 3, p. 571–592.

LAING D., Cameron, George R. CARMODY a Stewart B. PECK, 1976. How Common are Sibling Species in Cave-Inhabiting Invertebrates? In *The American Naturalist*. Vol. 110, no. 971, p. 184–189.

- LEBRUN, Jean-Pierre et al. 1991. The life strategies of mites. In Schuster, R. & Murphy, P. W. The Acari. Reproduction, development and life-history strategies. Springer, Dordrecht, p. 3–22.
- ĽUPTÁČIK, Peter a Ladislav, MIKO, 2003. Oribatid mites (Acarina, Oribatida) of Slovak caves. In Subterranean biology. Vol. 1, p. 25–29.
- MARAUN, Mark a Stefan SCHEU, 2000. The structure of oribatid mite communities (Acari, Oribatida): patterns, mechanisms and implications for future research. In Ecography. Vol 23, no. 3, p. 374–382.
- MARAUN, Mark, Heinrich SCHATZ a Stefan SCHEU, 2007. Awesome or ordinary? Global diversity patterns of oribatid mites. In Ecography. Vol 30, p. 209–216.
- MIKO, Ladislav, 2006. Damaeidae. In Weigmann, G. (2006) Hornmilben (Oribatida). Goecke & Evers, Keltern, p. 179–207.
- NORTON, A., Roy, & Valerie M. BEHAN-PELLETIER, 2009. Suborder Oribatida. In Krantz G. W. and Walter D. E. (eds): A manual of acrology. Texas Tech University Press, Lubbock, 430–564.
- PANARAM, Kanchana a Richard BOROWSKY, 2005. Gene Flow and Genetic Variability in Cave and Surface Populations of the Mexican Tetra, *Astyanax mexicanus* (Teleostei: Characidae). In Copeia. Vol. 2005 no. 2, p. 409–416.
- PÉREZ-MORENO, J. George et al. 2017. The role of isolation on contrasting phylogeographic patterns in two cave crustaceans. In BMC Evolutionary Biology. Vol. 17, no. 247.
- PFINGSTL, Tobias, Julia BAUMANN a Andrea LIENHARD, 2019. The Caribbean enigma: the presence of unusual cryptic diversity in intertidal mites (Arachnida, Acari, Oribatida). In Organisms Diversity & Evolution. Vol. 19, no. 4, p. 609–623.
- SCHAEFER, Ina et al. 2006. No evidence for the 'Meselson effect' in parthenogenetic oribatid mites (Oribatida, Acari). In Journal of evolutionary biology. Vol. 19, no. 1, p. 184–93.
- SCHÄFFER, Sylvia, et al. 2010 Phylogenetic analysis of European Scutovertex mites (Acari, Oribatida, Scutoverticidae) reveals paraphyly and cryptic diversity: A molecular genetics and morphological approach. In Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol. 55, p. 677–688.
- STARÝ, Jozef, 2008. Diversity and distribution of oribatid mites (Acari: Oribatida) in caves of Czech Republic. In Acta Carsol Slovaca. Vol. 46, no. 1, p. 185–197.
- YOSII, Riozo, 1956. Monographie zur Höhlencollembolen Japans.

# CYTOTOXICKÉ ÚČINKY ANTIMYKOTIKA MIKONAZOLU, INSEKTICÍDU ACETAMIPRIDU, A ICH KOMBINÁCIE NA ZDRAVÉ HUMÁNNE EPITELIÁLNE BUNKY

*Cytotoxic effects of the antifungal miconazole, the insecticide acetamiprid, and their combination on healthy human epithelial cells*

Šimon Salanci<sup>1</sup>, Radka Michalková<sup>1</sup>, Viera Schwarzbacherová<sup>2</sup>, Tomáš Wolaschka<sup>3</sup>, Ján Mojžiš<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav farmakológie UPJŠ LF

<sup>2</sup>Katedra biológie a fyziológie UVLF Košice

<sup>3</sup>Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky ULVF Košice

**Abstrakt:** Cytotoxicita chemických zlúčenín využívaných v medicíne a priemysle predstavuje závažný zdravotnícky a environmentálny problém. Medzi látky kumulujúce sa v životnom prostredí s potvrdeným negatívnym vplyvom na bunky možno zaradiť aj niektoré antimykotiká a insekticídy. Miconazol, inhibítor 14- $\alpha$ -demetylázy, je širokospektrálne pôsobiace imidazolové antimykotikum využívané v terapii rozličných mykotických ochorení v humánnej a veterinárnej medicíne. Acetamiprid je insekticídna látka patriaca do skupiny neonikotínoidov, jednej z najpoužívanejších skupín pesticídov využívaných na ochranu rastlín v poľnohospodárstve. Okrem pozitívneho efektu prináša použitie oboch spomínaných skupín so sebou aj rad nežiaducich účinkov. Významná je ich schopnosť indukovať tvorbu reaktívnych foriem kyslíka (ROS), poškodzovať antioxidantné mechanizmy a tým navodzovať oxidačné poškodenie DNA a apoptózu. Azolové antimykotiká okrem toho z dôvodu ovplyvňovania steroidogenézy radíme aj medzi endokrinné disruptory. Cieľom práce je štúdium potenciálnych cytotoxických účinkov miconazolu, acetamipridu a ich kombinácie na zdravých humánných epiteliálnych bunkách so zameraním na indukciu tvorby ROS a apoptózy.

**Kľúčové slová:** miconazol, azoly, acetamiprid, cytotoxicita, epiteliálne bunky

**Abstract:** Cytotoxicity of chemical compounds used in medicine and industry represents a serious health and environmental problem. Certain antifungals and insecticides can also be included among the accumulating substances with a confirmed negative effect on cells. Miconazole, an inhibitor of 14- $\alpha$ -demethylase, is a broad-spectrum imidazole antifungal used in the therapy of various fungal diseases in human and veterinary medicine. Acetamiprid is an insecticide belonging to the group of neonicotinoids, one of the most widely used groups of pesticides. In agriculture neonicotinoids are routinely used for plant protection. In addition to the positive effect, the use of both mentioned groups also brings numerous undesirable effects. These groups are proved with significant ability to induce the formation of reactive oxygen species (ROS), damage antioxidant mechanisms and thereby induce oxidative DNA damage and apoptosis. In addition, because of their influence on steroidogenesis,azole antifungals are classified as endocrine disruptors. The aim of the study is to analyze the potential cytotoxic effect of miconazole, acetamiprid and their combination on healthy human epithelial cells with a focus on the induction of ROS formation and apoptosis.

**Keywords:** miconazol, azoles, acetamiprid, cytotoxicity, epithelial cells

## Úvod

Azolové antimykotiká predstavujú najväčšiu skupinu antifungálnych liečiv, ktoré sú na dennej báze aplikované v terapii a prevencii rozličných mykotických ochorení ľudí aj zvierat. Svoje uplatnenie majú azoly aj v agropriemysle, kde sú vybraní zástupcovia využívaní na ochranu rastlín ako fungicídy (Jørgensen a Heick 2021; Musiol a Kowalczyk 2012). Azolové antimykotiká inhibíciou enzýmu 14- $\alpha$ -demetyláza znižujú v mykotických bunkách syntézu ergosterolu, čím je navodený ich typický fungistatický efekt (Zhang et al. 2016). Z dôvodu, že inhibíciou rozličných enzýmov zapojených do syntézy sterolov môžu azoly negatívne ovplyvniť tvorbu steroidných hormónov, sú radené medzi endokrinné disruptory. Tieto látky môžu už pri veľmi nízkych dávkach negatívne ovplyvniť vývoj a zdravie organizmu (Trösken et al. 2004). Miconazol je širokospektrálne syntetické imidazolové

antimykotikum, ktoré má okrem typického účinku azolov tiež schopnosť indukovať tvorbu reaktívnych foriem kyslíka, a pôsobiť tak fungicídne. (Zhang et al. 2016). Zvýšená tvorba ROS, inhibícia antioxidantných mechanizmov a indukcia oxidačného stresu vedú k poškodeniu mitochondriálnych membrán a poškodeniu DNA buniek (Petricca et al. 2022). Spomínané mechanizmy sa tak okrem požadovaného antifungálneho efektu podieľajú aj na cytotoxickom účinku na zdravé bunky. Okrem bežných NÚ, akými sú predĺženie QT intervalu, gastrointestinálne NÚ a ovplyvnenie účinnosti súčasne podávaných liečiv inhibíciou CYP P450 je pozorovaná aj neurotoxicita, fototoxicita, poškodenie kostí, hepatotoxicita a hormonálne zmeny (Benitez a Carver 2019; Chen a Sorrell 2007). Vysoká stabilita dáva azolom schopnosť kumulovať sa v potravinách, vode a životnom prostredí vo forme reziduí. Použitie azolových antimykotík tak predstavuje závažný environmentálny problém vedúci k rozširovaniu rezistencie mikroorganizmov na túto skupinu látok a tiež k rozvoju nežiaducich účinkov (Mortensen et al. 2010). Vedľajšie účinky spojené s terapiou azolmi sú vo väčšine prípadov nežiaduce. Ich cytotoxický účinok môže však byť pozitívny v iných, non-antifungálnych, indikáciách. Preukázaný antiandrogénny efekt, schopnosť blokovať bunkový cyklus a potenciálny anti-angiogénny účinok môže byť využitý v terapii niektorých druhov nádorových a hormonálnych ochorení (Patel et al. 2018; Venturoli et al. 1990; Wang et al. 2020; Yuan et al. 2017) Preukázaná bola pri azoloch tiež ich aktivita voči vybraným druhom protozoárnym parazitom (Musiol a Kowalczyk 2012) a protizápalový efekt využiteľný v dermatológii a neurológii (Clark et al. 2015; Yeo et al. 2020).

Neonikotinoidy (NN) sú systémovo pôsobiace insekticídne látky široko využívané v poľnohospodárstve na ochranu rastlín voči parazitujúcemu hmyzu (Thompson et al. 2020). Po aplikácii, absorpcii rastlinou a následnom požití hmyzom sa NN ireverzibilne viažu na nikotínové acetylcholinové receptory (nAChR) lokalizované na postsynaptickej membráne, kde ako falošné neurotransmitery sprostredkujú excitačnú cholinergickú transmisu (Tomizawa a Casida 2005). Pri nízkej koncentrácii táto väzba vedie k nervovej stimulácii, pri vyšších dávkach je navodená blokáda receptorov, paralýza a smrť hmyzu (Thompson et al. 2020). Acetamidrid je NN insekticíd novej generácie. Z dôvodu až desaťkrát vyššej selektivity voči hmyzu (Tomizawa a Casida 2005) je často používaný ako menej toxická alternatíva karbamátov a organofosfátov. Hoci sú NN insekticídy vrátane acetamidridu pre svoju špecifickú štruktúru ciele na nAChR receptory hmyzu, ich široké použitie má negatívne dôsledky na cicavce a iné cieľové organizmy. Acetamidrid je perzistentný v životnom prostredí a pribúdajú dôkazy, že vystavenie tomuto insekticídu môže na ľudí a zvieratá pôsobiť genotoxicky, neurotoxicky, karcinogénne a tiež negatívne ovplyvňovať reprodukčnú schopnosť (Zuščíková et al. 2023). Vďaka širokému použitiu a schopnosti kumulovať sa v životnom prostredí radíme acetamidrid medzi environmentálne jedy. Podobne ako azoly, aj NN indukujú poškodenie lipidov, proteínov a DNA, sprostredkované pravdepodobne cestou oxidatívneho stresu. Je preukázané, že NN potencujú v bunkách tvorbu ROS a narúšajú rovnováhu enzymatických aj non-enzymatických antioxidantov (Karaca et al. 2019). Okrem toho bolo dokázané, že acetamidrid pôsobí genotoxicky a mutagénne čím spolu s oxidačným stresom indukuje molekulárne poškodenie, znižuje životaschopnosť buniek a indukuje apoptózu (Annabi et al. 2019). Štúdie tiež naznačujú, že vystavenie acetamidridu spolu s inými pesticídmi má synergické toxické účinky. Podobné zistenia boli popísané aj pri kombinácii mikonazolu s inými insekticídmi. Z dôvodu predchádzania vzniku rezistencie a zvyšovania účinnosti sú pesticídy často aplikované v kombinácii. Je preto na mieste analyzovať ich potenciálne synergické toxické účinky (Phogat et al. 2022; Jørgensen a Heick 2021).

## Cieľ práce

Cieľom tejto práce je analyzovať potenciálne cytotoxické účinky azolového antimykotika mikonazolu, NN insekticídneho prípravku Mospilan<sup>®</sup> a ich kombinácie so zameraním na indukciu apoptózy, oxidatívny stres a zmeny mitochondriálneho membránového potenciálu. Ďalším cieľom je experimentálne preskúmať mechanizmy, ktorými tieto látky negatívne ovplyvňujú zdravé humánne bunky.

## **Materiál a metodiky**

### ***Testované zlúčeniny***

Mospilan® 20SP (MO) širokospektrálny insekticíd obsahujúci 20% účinnej látky acetamiprid (NIPPON SODA, Tokyo, Japonsko) a mikonazol nitrát (MI) (HiMedia Laboratories GmbH, Odenwaldstr, Nemecko). Látky boli rozpustené v dimetylsulfoxide (DMSO) s finálnou koncentráciou DMSO 0.02% v kultivačnom médiu.

### ***Bunková kultúra***

Zlúčeniny acetamiprid a mikonazol boli testované na zdravých humánných epiteliálnych bunkách mliečnej žľazy bunkovej línie MCF-10A. Bunky boli kultivované v rastovom médiu DMEM-F12 (Biosera, Kansas City, MO, USA) suplementovanom 10% FBS, 1% antimikrobiálnych a antifungálnych látok (PNC, STR, AMB), inzulínom, hydrokortizónom a EGF (GE Healthcare, Little Chalfont, UK). Bunky boli inkubované pri štandardných podmienkach 5% CO<sub>2</sub> pri teplote 37°C.

### ***Metabolický MTT test***

Na primárnu analýzu cytotoxického účinku a stanovenie IC<sub>50</sub> testovaných zlúčenín bol využitý metabolický MTT test (Mosmann 1983). Na vykonanie testu boli bunky nasadené na 96 jamkové kultivačné platne (TPP, Švajčiarsko) v hustote 5x10<sup>3</sup> buniek na jamku. Po 24 hod inkubácii boli k bunkám pridávané testované zlúčeniny nariadené v kultivačnom médiu v koncentráciách 0; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0 µg/ml. Látky boli pridané k bunkám v troch podmienkach - samostatný MI, samostatný MO a kombinácia MI+MO v pomere 1:1. Inkubácia s testovanými látkami prebiehala 72 hod a následne bolo do každej jamky pridané MTT v objeme 10 µl (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Nemecko). Po redukcii MTT na nerozpustný formazán trvajúcej 2 hod bol do každej jamky pridaných 100µl SDS (10% dodecylsulfát sodný) na rozpustenie kryštálov. Bola vykonaná spektrofotometrická analýza absorbancie pri vlnovej dĺžke 540 nm prístrojom Cytation™ 3 Cell Imaging Multi-Mode Reader (Biotek, Winooski, VT, USA) po 24 hod od pridanej SDS.

### ***Prietoková cytometria***

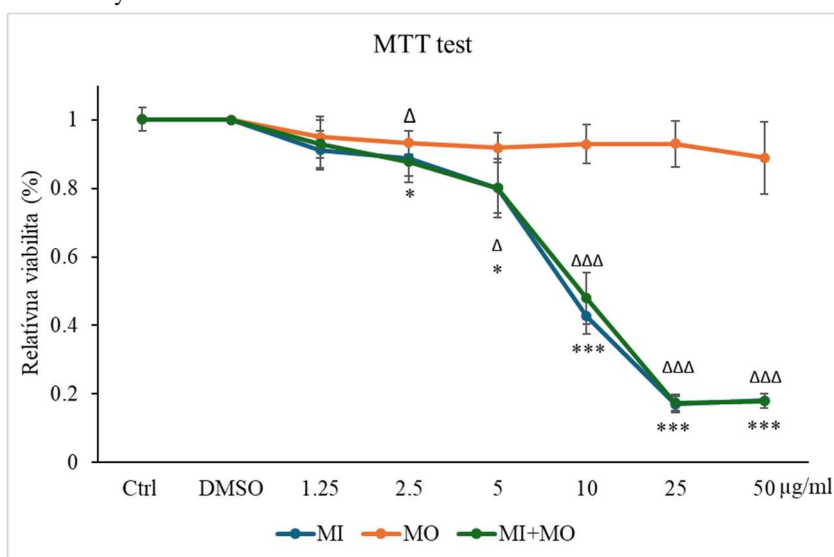
Bunky MCF-10A boli pre potreby cytometrickej analýzy kultivované v Petriho miskách (TPP, Švajčiarsko). Bunky boli nasadené v počte 2,5x10<sup>5</sup> buniek na Petriho misko (priemer 10 cm) a inkubované bez pridanej látok po dobu 24hod. Následne boli pridané látky MI, MO a kombinácia MI+MO nariadené v kultivačnom médiu v koncentrácii 10 µg/ml. Ku každej podmienke bola kultivovaná kontrolná Petriho miska, do ktorej bolo pridané médium bez testovaných látok s rovnakým obsahom DMSO ako v testovaných zlúčeninách. Po 24, 48 a 72 hod inkubácie boli bunky zozbierané z Petriho misiek, premyté a resuspendované v PBS. Na analýzu apoptózy bol použitý farbiaci roztok Annexin V–Alexa Fluor® 647 (1:300, Thermo Scientific, Rockford, IL, USA). Po inkubácii trvajúcej 30 minút pri laboratórnej teplote v tme boli vzorky premyté v PBS a do vzoriek bol pridaný 1µl propidium iodidu (0.025 mg/ml, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Mitochondriálny membránový potenciál bol analyzovaný farbením pomocou tetrametylrodamin-etylésteru (TMRE) (Molecular Probes, Eugene, OR, USA) po dobu 30 minút pri laboratórnej teplote v tme. Finálna koncentrácia TMRE bola 0.1 µmol/l. Značenie buniek pre potreby analýzy ROS bolo vykonané pomocou DHR123 (dihydrorodamin 123) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) s finálnou koncentráciou 200 nM po dobu 30 minút pri laboratórnej teplote v tme. Bunky kultivované na analýzu bunkového cyklu boli po premytí v PBS zafixované 70% etanolom a skladované pri -20 °C po dobu 24hod. Pred analýzou boli premyté v PBS, resuspendované vo farbiacom roztoku obsahujúcom 0.1 % TritonX-100 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) v PBS, ribonukleázu A (0.5 mg/ml, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) propidium iodid (0.025 mg/ml, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) a inkubované 30minút pri izbovej teplote v tme. Analýza vzoriek bola vykonaná pomocou fluorescenčnej detekcie prístrojom BD FACSCalibur flow cytometer (Becton-Dickinson, San Jose,

CA, USA). Získané dáta boli analyzované softvérom FlowJo v.10 BD (Biosciences, San Jose, CA, USA).

## Výsledky

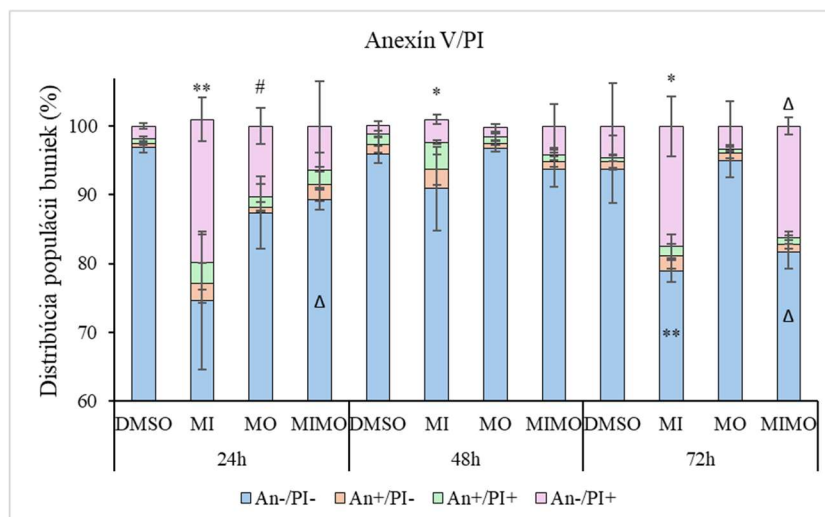
Účinok antimykotika mikonazolu a neonikotinoidného insekticídu na metabolickú aktivitu a nepriamo aj proliferáciu zdravých humánných prsníkových epiteliálnych buniek MCF-10A sme hodnotili pomocou MTT analýzy. Významné ovplyvnenie týchto parametrov po expozícii MI sme sledovali od koncentrácie 2,5  $\mu\text{g/ml}$ , MO v testovaných koncentráciách nemal významný vplyv ani po 72 hod. V kombinácii došlo k redukcii počtu viabilných buniek podobne ako po inkubácii s MI v koncentrácii 2,5  $\mu\text{g/ml}$ .  $\text{IC}_{50}$  mikonazolu bola 8,9  $\mu\text{g/ml}$ . Z dôvodu, že reziduá NN sa v prírode zvyčajne nevyskytujú vo vysokých koncentráciách, sme sa v ďalších experimentoch rozhodli pokračovať s koncentraciou 10  $\mu\text{g/ml}$  u oboch testovaných látok.

Graf 1: MTT metabolický test testovaných látok



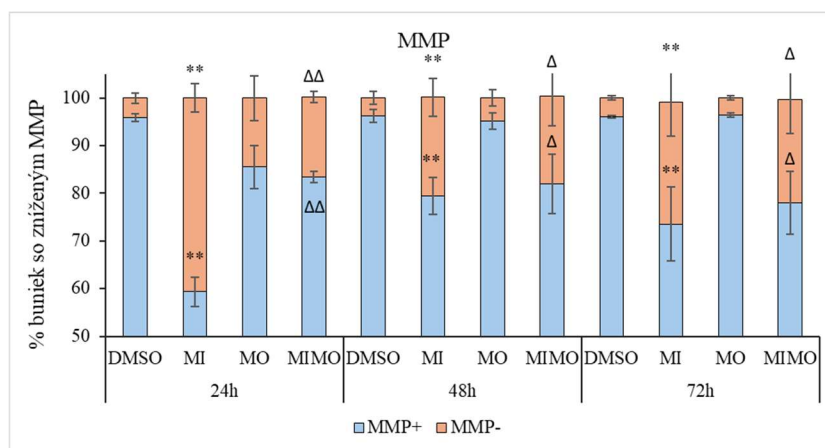
**Popis:** Účinok Mospilanu<sup>®</sup> a mikonazolu na metabolickú aktivitu buniek MCF-10A 72 hod. Údaje sú výsledkom troch nezávislých experimentov. Hodnoty predstavujú priemer  $\pm$  štandardnú odchýlku. Štatistická signifikancia: \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  MI vs. DMSO; #  $p < 0,05$ ; ###  $p < 0,001$  MO vs. DMSO

Externalizácia fosfatidylserínu, ktorý je za fyziologických podmienok lokalizovaný na vnútornej strane lipidovej dvojvrstvy bunky sa považuje za marker apoptózy v rannom štádiu. Na základe dvojitého farbenia pomocou Annexínu V a PI možno rozlíšiť dvojito-negatívne bunky, Anexín V-pozitívne bunky, dvojito-pozitívne a PI-pozitívne bunky a tak určiť mieru apoptózy. Naše experimenty ukázali, že MI samostatne a aj v kombinácii je schopný indukovať bunkovú smrť. Tento efekt sme sledovali už po 24 hod expozície s maximom po 72 hod. Po 24 hod sme tiež sledovali zvýšený počet PI-pozitívnych buniek exponovaných MO

**Graf 2:** Anexín V/PI cytometrická analýza apoptózy

**Popis:** Cytometrická detekcia apoptózy prostredníctvom farbenia Annexinom V a PI v zdravých bunkách MCF-10A exponovaných MO a MI po 24, 48 a 72hod expozícii. Analýza apoptózy týmto farbením umožňuje rozlíšiť bunky v štyroch populáciách: živé bunky (An-/PI-), bunkami v skorej fáze apoptózy (An+/PI-), dvojito-pozitívne bunky (An+/PI+) a mŕtve bunky (An-/PI+). Údaje reprezentujú priemer z troch nezávislých experimentov  $\pm$  SD. Štatistická významnosť: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  MI vs. vehikulum, #  $p < 0,05$  MO vs. vehikulum,  $\Delta$   $p < 0,05$  MI+MO vs. vehikulum.

Mitochondrie sú kľúčové bunkové organely, ktoré sa okrem svojej primárnej funkcie podieľajú na indukcii apoptotickej bunkovej smrti. Rozdiel v elektrickom potenciáli medzi vonkajšou a vnútornou mitochondriálnou membránou je kľúčovým indikátorom mitochondriálnej aktivity a nepriamo poukazuje na smrť bunky. Výsledky našej štúdie ukazujú, že MI a jeho kombinácia s MO spôsobujú významné zvýšenie počtu buniek MCF-10A so zníženým MMP vo všetkých troch expozičných časoch (24, 48 a 72 hod). MO nemal významný vplyv na zmeny v MMP.

**Graf 3:** Cytometrická analýza mitochondriálneho membránového potenciálu

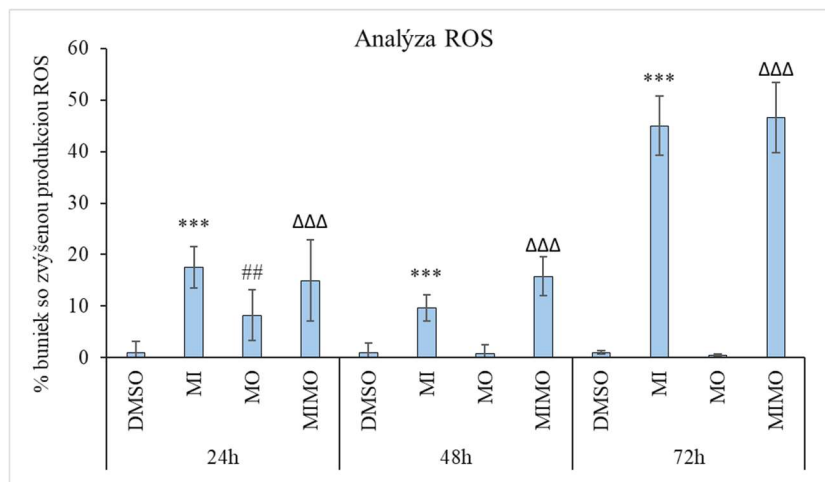
**Popis:** Zmeny mitochondriálneho membránového potenciálu v zdravých epiteliálnych bunkách MCF-10A exponovaných MO a MI po 24, 48 a 72hod expozícii. Údaje reprezentujú priemer z troch nezávislých experimentov  $\pm$  SD. Štatistická významnosť: \*\*  $p < 0,01$  MI vs. DMSO,  $\Delta$   $p < 0,05$ ;  $\Delta\Delta$   $p < 0,01$  MI+MO vs. DMSO.

Reaktívne formy kyslíka (ROS) je spoločný termín pre nestabilné, reaktívne, čiastočne redukované kyslíkové deriváty, ktoré vznikajú za fyziologických aj patologických podmienok počas metabolických procesov v rôznych bunkových organelách. Vysoké koncentrácie ROS spôsobujú oxidačné poškodenie DNA, RNA, proteínov, lipidov, mitochondrií a môžu sa zúčastňovať na apoptotickej bunkovej smrti. Naše experimenty ukázali, že v bunkách exponovaných MI a jeho kombinácii s MO došlo k signifikantnej indukcii tvorby ROS v bunkách MCF-10A vo všetkých expozičných časoch (24, 48 a 72 hod). MO významne zvýšil hladiny ROS iba po 24 hod, v ďalších expozičných časoch sme tento efekt nepozorovali.



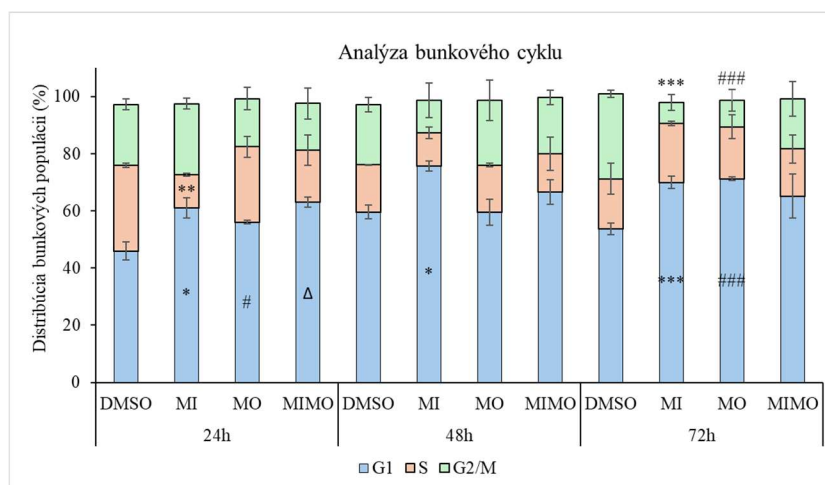
Analýza bunkového cyklu pomocou prietokovej cytometrie ukázala, že MI aj MO sú schopné indukovať inhibíciu progresie bunkového cyklu buniek MCF-10A v G1 fáze po 24 hod inkubácie. Maximálny efekt bol dosiahnutý po 72 hod expozície. V kombinácii sme tento účinok po 72 hod nepozorovali.

**Graf 4:** Cytometrická analýza produkcie ROS



**Popis:** Indukcia tvorby ROS v bunkách MCF-10A po 24, 48 a 72 hod expozícii MO a MI. Údaje sú výsledkom troch nezávislých experimentov a namerané hodnoty predstavujú priemer ± štandardnú odchýlku. Štatistická signifikancia: \*\*\*  $p < 0,001$  MI vs. DMSO, ##  $p < 0,01$  MO vs. DMSO, ΔΔΔ  $p < 0,001$  MI+MO vs. DMSO.

**Graf 5:** Analýza bunkového cyklu



**Popis:** Analýza zmien bunkového cyklu v bunkách MCF-10A po expozícii MO a MI po 72 hod. Údaje sú výsledkom troch nezávislých experimentov. Hodnoty predstavujú priemer ± štandardnú odchýlku. Štatistická signifikancia: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  MI vs. DMSO, #  $p < 0,05$ ; ###  $p < 0,001$  MO vs. DMSO, Δ  $p < 0,05$  MI+MO vs. DMSO.

## Záver

Azolové antimykotiká a NN insekticídy sú široko používané látky s potenciálom kumulovať sa v prostredí a aj v nízkych dávkach pôsobiť toxicky. Je preto na mieste sledovať ich vplyv na zdravie necieľových organizmov. Naše experimenty ukázali, že MI aj kombinácia MI+MO majú vplyv na metabolickú aktivitu zdravých epiteliálnych humánnych buniek, ktoré, môžu byť aj v reálnom svete týmto látkam exponované. Cytotoxický účinok MI bol pozorovaný od koncentrácie 2,5  $\mu\text{g/ml}$ . Tento efekt bol potvrdený Anexín V/PI analýzou, ktorá ukázala, že MI významne zväčšuje PI+ populáciu buniek samostatne, aj v kombinácii s MO už po 24 hod. Po 48 hod sme pozorovali oslabenie účinku s následným zvýšením podielu apoptotických buniek po 72 hod. Je známe, že proces apoptózy iniciovaný vonkajším podnetom môže byť reverzibilný. To naznačuje potenciálny bifázický efekt testovaných zlúčenín súvisiaci s ich metabolizmom na toxické metabolity. Apoptózu potvrdzujú aj

zmeny v regulácii bunkového cyklu s pozorovaným blokom v G1 fáze, a významné zvýšenie počtu buniek so zníženým MMP. Analýza prítomnosti ROS naznačuje, že tento efekt môže byť spojený s indukciou tvorby reaktívnych foriem kyslíka. Predkladané výsledky tejto preliminárnej štúdie sú zamerané striktne na popis toxických účinkov MI, MO a ich kombinácie. Pre lepšie pochopenie komplexných mechanizmov zodpovedných za cytotoxické účinky testovaných látok a potvrdenie ich potenciálnej synergickej aktivity bude potrebné vykonať ďalšie experimenty a analýzy.

## Pod'akovanie

Táto práca vznikla na základe spolupráce s Katedrou biológie a fyziológie UVLF Košice a realizovaná bola vďaka finančnej podpore projektov VEGA 1/0539/21 a VEGA 1/0166/21.

## Literatúra

ANNABI, E., BEN SALEM, I. a ABID-ESSEFI, S., 2019. Acetamiprid, a neonicotinoid insecticide, induced cytotoxicity and genotoxicity in PC12 cells. *Toxicology mechanisms and methods* [online]. 2019, roč. 29, č. 8, s. 580–586. ISSN 1537-6524 (Electronic). Dostupné na: doi:10.1080/15376516.2019.1624907

BENITEZ, L.L. a CARVER, P.L., 2019. Adverse Effects Associated with Long-Term Administration of Azole Antifungal Agents. *Drugs* [online]. 2019, roč. 79, č. 8, s. 833–853. ISSN 11791950. Dostupné na: doi:10.1007/s40265-019-01127-8

CHEN, S.C.A. a SORRELL, T.C., 2007. Antifungal agents. *The Medical journal of Australia* [online]. 2007, roč. 187, č. 7, s. 404–409. ISSN 0025-729X (Print). Dostupné na: doi:10.5694/j.1326-5377.2007.tb01313.x

CLARK, G.W., POPE, S.M. a JABOORI, K.A., 2015. Diagnosis and treatment of seborrheic dermatitis. *American family physician*. 2015, roč. 91, č. 3, s. 185–190. ISSN 1532-0650 (Electronic).

JØRGENSEN, L.N. a HEICK, T.M., 2021. Azole Use in Agriculture, Horticulture, and Wood Preservation – Is It Indispensable? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 2021, roč. 11, č. September, s. 1–16. ISSN 22352988. Dostupné na: doi:10.3389/fcimb.2021.730297

KARACA, B.U. et al., 2019. Toxic effects of subchronic oral acetamiprid exposure in rats. *Toxicology and industrial health* [online]. 2019, roč. 35, č. 11–12, s. 679–687. ISSN 1477-0393 (Electronic). Dostupné na: doi:10.1177/0748233719893203

MORTENSEN, K.L. et al., 2010. Environmental study of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* and other aspergilli in Austria, Denmark, and Spain. *Antimicrobial agents and chemotherapy* [online]. 2010, roč. 54, č. 11, s. 4545–4549. ISSN 1098-6596 (Electronic). Dostupné na: doi:10.1128/AAC.00692-10

MOSMANN, T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods* [online]. 1983, roč. 65, č. 1–2, s. 55–63. ISSN 0022-1759 (Print). Dostupné na: doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4

MUSIOL, R. a KOWALCZYK, W., 2012. Azole Antimycotics - A Highway to New Drugs or a Dead End? *Current Medicinal Chemistry* [online]. 2012, roč. 19, č. 9, s. 1378–1388. ISSN 09298673. Dostupné na: doi:10.2174/092986712799462621

PATEL, V., LIAW, B. a OH, W., 2018. The role of ketoconazole in current prostate cancer care. *Nature Reviews Urology* [online]. 2018, roč. 15, č. 10, s. 643–651. ISSN 17594820. Dostupné na: doi:10.1038/s41585-018-0077-y

PETRICCA, S. et al., 2022. Synergistic Activity of Ketoconazole and Miconazole with Prochloraz in Inducing Oxidative Stress, GSH Depletion, Mitochondrial Dysfunction, and Apoptosis in Mouse Sertoli TM4 Cells. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, roč. 23, č. 10. ISSN 14220067. Dostupné na: doi:10.3390/ijms23105429

PHOGAT, A. et al., 2022. Toxicity of the acetamiprid insecticide for mammals: a review. *Environmental Chemistry Letters* [online]. 2022, roč. 20, č. 2, s. 1453–1478. ISSN 16103661. Dostupné na: doi:10.1007/s10311-021-01353-1

THOMPSON, D.A. et al., 2020. A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: Current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. *Environmental Science: Processes and Impacts* [online]. 2020, roč. 22, č. 6, s. 1315–1346. ISSN 20507895. Dostupné na: doi:10.1039/c9em00586b

TOMIZAWA, M. a CASIDA, J.E., 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual review of pharmacology and toxicology* [online]. 2005, roč. 45, s. 247–268. ISSN 0362-1642 (Print). Dostupné na: doi:10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095930

TRÖSKEN, E.R. et al., 2004. Comparative assessment of the inhibition of recombinant human CYP19 (aromatase) by azoles used in agriculture and as drugs for humans. *Endocrine research* [online]. 2004, roč. 30, č. 3, s. 387–394. ISSN 0743-5800 (Print). Dostupné na: doi:10.1081/erc-200035093

VENTUROLI, S. et al., 1990. Ketoconazole therapy for women with acne and/or hirsutism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* [online]. 1990, roč. 71, č. 2, s. 335–339. ISSN 0021-972X (Print). Dostupné na: doi:10.1210/jcem-71-2-335

WANG, W. et al., 2020. Itraconazole exerts anti-liver cancer potential through the Wnt, PI3K/AKT/mTOR, and ROS pathways. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* [online]. 2020, roč. 131, s. 110661. ISSN 1950-6007 (Electronic). Dostupné na: doi:10.1016/j.biopha.2020.110661

YEO, I.J. et al., 2020. Antifungal drug miconazole ameliorated memory deficits in a mouse model of LPS-induced memory loss through targeting iNOS. *Cell Death and Disease* [online]. 2020, roč. 11, č. 8. ISSN 20414889. Dostupné na: doi:10.1038/s41419-020-2619-5

YUAN, S.-Y. et al., 2017. Miconazole induces apoptosis via the death receptor 5-dependent and mitochondrial-mediated pathways in human bladder cancer cells. *Oncology reports* [online]. 2017, roč. 37, č. 6, s. 3606–3616. ISSN 1791-2431 (Electronic). Dostupné na: doi:10.3892/or.2017.5608

ZHANG, L.W. et al., 2016. Efficacy and safety of miconazole for oral candidiasis: A systematic review and meta-analysis. *Oral Diseases* [online]. 2016, roč. 22, č. 3, s. 185–195. ISSN 16010825. Dostupné na: doi:10.1111/odi.12380

ZUŠČÍKOVÁ, L. et al., 2023. Screening of Toxic Effects of Neonicotinoid Insecticides with a Focus on Acetamiprid: A Review. *Toxics* [online]. 2023, roč. 11, č. 7. ISSN 23056304. Dostupné na: doi:10.3390/toxics11070598

# CHARAKTERIZÁCIA ALTERNATÍVNYCH TROMBOLYTÍK ZÍSKANÝCH RIADENOU EVOLÚCIOU

*Characterization of alternative thrombolytics obtained by directed evolution*

Monika Štulajterová<sup>1</sup>, Mária Tomková<sup>2</sup>, Erik Sedlák<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

<sup>2</sup>Centrum Interdisciplinárnych biovied, Technologický a inovačný park, UPJŠ

**Abstrakt:** Trombóza, tvorba krvných zrazenín, má značný dopad na zdravie človeka. Akútna arteriálna trombóza je hlavnou príčinou väčšiny infarctov myokardu (srdcových záchvatov) a približne 80 % mozgových príhod. Súhrnne tieto stavy predstavujú hlavnú príčinu úmrtnosti vo vyspelých krajinách (Mackman, 2008). Rýchla liečba trombolitikami môže obnoviť prietok krvi predtým, ako dôjde k veľkému poškodeniu mozgu, a zlepšiť zotavenie po mŕtvici (Wardlaw a kol., 2014). Od ideálneho trombolytického činidla sa očakáva, že jeho podanie nespôsobí tvorbu sekundárnych zrazenín, bude mať vysokú fibrínovú špecifitu, zníži krvácavé komplikácie, zostane v krvi dostatočne dlho, aby sa minimalizovalo dávkovanie a nebude antigénne pre prípad potreby opakovaného použitia. Terajšie trombolytické lieky majú obmedzenú účinnosť a vyskytujú sa u nich rôzne hemoragické komplikácie, čo vedie k hľadaniu alternatívnych trombolytík (Nikitin a kol., 2021). Bakteriálna stafylokináza (SAK) predstavuje takúto alternatívu k súčasne používaným trombolitikám. Je to proteín s relatívne malou molekulovou hmotnosťou ~16 kDa, ktorý aktivuje premenu plazminogénu viazaného na fibrín, prostredníctvom tvorby ekvimolárneho (1:1) komplexu s plazmínom. SAK sa považuje za sľubné trombolytické činidlo s nízkymi výrobnými nákladmi a miernymi vedľajšími účinkami (Nedaeinia a kol., 2020). Aby sa zvýšila účinnosť SAK a minimalizovali potenciálne nežiadúce účinky, je dôležité zvýšiť jeho afinitu a selektivitu voči plazmínu. Jednou z mála metód, ktorá by umožnila vhodnú modifikáciu SAK, je metóda riadenej evolúcie proteínov. V našej štúdii sme využili ribozómový displej na evolúciu nových variantov SAK s vyššou afinitou voči plazmínu. V tomto príspevku uvádzame proces purifikácie vybraných variantov SAK a ich základnú funkčnú a biofyzikálnu charakterizáciu.

**KLúčové slová:** trombóza, trombolytiká, stafylokináza, ribozómový displej, riadená evolúcia

**Abstract:** Thrombosis, the formation of blood clots, has a significant impact on human health. Acute arterial thrombosis is the main cause of most myocardial infarctions (heart attacks) and about 80% of strokes. Collectively, these conditions represent the leading cause of mortality in developed countries (Mackman, 2008). Prompt treatment with thrombolytics can restore blood flow before major brain damage occurs and improve stroke recovery (Wardlaw et al., 2014). The ideal thrombolytic agent is expected to be non-inducing secondary clots when administered, have high fibrin specificity, reduce bleeding complications, remain in the blood long enough to minimize dosing, and be non-antigenic if repeated use is required. Current thrombolytic drugs have limited efficacy and various hemorrhagic complications occur with them, which leads to the search for alternative thrombolytics (Nikitin et al., 2021). Bacterial staphylokinase (SAK) represents such an alternative to currently used thrombolytics. It is a protein with a relatively small molecular weight of ~16 kDa that activates the conversion of plasminogen bound to fibrin through the formation of an equimolar (1:1) complex with plasmin. SAK is considered a promising thrombolytic agent with low production costs and moderate side effects (Nedaeinia et al., 2020). In order to increase the effectiveness of SAK and minimize potential side effects, it is important to increase its affinity and selectivity towards plasmin. One of the few methods that would allow appropriate modification of SAK is the method of directed protein evolution. In our study, we used ribosome display to evolve new SAK variants with higher affinity for plasmin. In this paper, we present the purification process of selected SAK variants and their basic functional and biophysical characterization.

**Keywords:** thrombosis, thrombolytics, staphylokinase, ribosome display, directed evolution

## Úvod

Kardiovaskulárne ochorenia (KVO) predstavujú vážny celosvetový problém. V Spojených štátoch a v európskych krajinách, sa každoročne evidujú milióny úmrtí vyvolaných týmito ochoreniami (Pulicherla a kol., 2013). Odhaduje sa, že v roku 2020 boli KVO príčinou približne 19 miliónov úmrtí, čo predstavuje približne 32 % všetkých úmrtí na svete (Coronado a kol., 2022). Medzi tieto choroby patrí akútny infarkt myokardu a cievna mozgová príhoda, ktoré majú výrazný vplyv na celosvetovú mortalitu a morbiditu. Trombolytické poruchy zapríčiňujú stratu životov, úbytok kvality života prežívajúcich pacientov a ich rodín ako aj obrovské socioekonomické zaťaženie (Nikitin a kol., 2021).

Trombóza, upchanie ciev fibrínovými zrazeninami, spôsobuje, že okolité tkanivá nie sú zásobované dostatočným množstvom kyslíka a živín, čo môže spôsobiť ich nezvratné poškodenie (Nikitin a kol., 2022). Ženy majú nižšie riziko vzniku trombózy ako muži, avšak tehotenstvo alebo užívanie perorálnych antikoncepčných prostriedkov predstavujú dôležité rizikové faktory (Kyrle a kol., 2005).

Trombolytiká patria k skupine liekov, prostredníctvom ktorých dochádza k rozpusteniu intravaskulárnych zrazenín (Baig a kol., 2023). Tieto činidlá sa často označujú ako aktivátory plazminogénu. Väčšina dostupných trombolytík sú serínové proteázy, ktoré štiepia plazminogén na aktívny plazmín (Ma a kol., 2019) (Baig a kol., 2023).

Vývoj trombolytických činidiel viedol k vzniku troch generácií trombolytík, pričom každá má svoje výhody a nevýhody. Trombolytiká prvej generácie, ako je streptokináza a urokináza, majú v dôsledku systémovej aktivácie plazminogénu vysoké riziko komplikácií spojených s krvácaním. Trombolytiká druhej generácie, akými sú altepláza a tPA, majú vyššiu špecifickosť pre fibrín a nižšie riziko krvácajúcich komplikácií, ale môžu stále spôsobiť krvácanie. Trombolytiká tretej generácie, ako retepláza a tenektepláza, sú chimerické molekuly, ktoré kombinujú výhody prvých dvoch generácií, ich nevýhody nie sú v poskytnutých zdrojoch obširnejšie zdokumentované (Ali a kol., 2014).

Vďaka svojim fibrinolytickým vlastnostiam sa stafylokináza skúma ako sľubný liek v liečbe cievnej oklúzie. SAK je relatívne malý proteín s veľkosťou 15.5 kDa, produkovaný bakteriálnymi kmeňmi *Staphylococcus aureus*. SAK zvyšuje schopnosť baktérií preniknúť hlbšie do tkanív prostredníctvom aktivácie plazminogénu. Medzi jeho výhody patrí vysoká fibrínová špecifickosť a nízke výrobné náklady v porovnaní s inými trombolytikami. Ďalšími pozitívami SAK je jej schopnosť zabrániť systematickej degradácii fibrinogénu a zníženie rizika vnútorného krvácania. Jednou z hlavných nevýhod tohto proteínu je vytváranie neutralizačných protilátok, ktoré môžu obmedziť jej opakované podanie (Vanderschueren, 2000). SAK vytvára neaktívny komplex s plazminogénom, avšak s plazmínom vytvára stechiometrický 1:1 aktívny komplex. V ňom SAK modifikuje substrátovú špecifitu plazmínu zo všeobecnej proteázy štiepiacej fibrín na enzým selektívne štiepiaci väzbu Arg561-Val562 plazminogénu, ktorý sa s nimi nachádza v ternárnom komplexe, čím sa získa nová molekula plazmínu. Komplex SAK.plazmín, je v prípade neprítomnosti zrazeniny rýchlo inhibovaný alfa2-antiplazmínom (Nguyen et al., 2016).

Prvým z cieľov tejto práce bola produkcia a purifikácia variantov, pripravených metódou riadenej evolúcie, a to ribozómovým displejom, je možné generovať proteíny s vylepšenými vlastnosťami, akými sú vyššia väzbová afinita a vyššia stabilita. Ďalším z cieľov bolo zistiť funkčné a biofyzikálne vlastnosti vyselektovaných variantov. Táto štúdia je pilotnou štúdiou v tom zmysle, že vybrané varianty získané riadenou evolúciou charakterizujeme tak z hľadiska ich funkcie a základných biofyzikálnych vlastností. Hlavným cieľom projektu je na základe takýchto analýz a za použitia sofistikovanejších metód, napr. na báze umelej inteligencie, pochopiť vzťah medzi štruktúrou/umiestnením mutácií a biofyzikálnymi vlastnosťami variantov.

## Materiál a metódy

V tejto práci boli použité vybrané varianty, ktoré boli predtým vyprodukované v malom objeme (50 ml), pre zistenie exprimovateľnosti, alebo mutanty, ktoré na základe analýzy ich primárnej štruktúry predstavovali potenciálne efektívne varianty SAK.

Prvým krokom prípravy variantov bola transformácia buniek *E. coli* BL21 (DE3) (50 µl) pomocou tepelného šoku plazmidom (finálna koncentrácia 50 – 100 ng/µl) s génom SAK a ich vysiatie na agárové misky, ktoré sme následne nechali inkubovať cez noc pri 37 °C.

Po narastení bakteriálnych kolónií, sme inokulovali 10 ml média s ampicilínom (100 µg/ml) jednou kolóniou z Petriho misky a nechali inkubovať za neustáleho miešania pri 250 rpm v 37 °C. Na druhý deň ráno sme 5 ml nočnej kultúry preočkovali do 45 ml 2xYT média so ampicilínom (100 µg/ml) a kultúru sme nechali rásť 3 hodiny. Po danom čase sme zmerali optickú hustotu (OD) kultúry, ktorá bola predtým nariadená 10x (900 µl 2xYT média a 100 µl kultúry). Potom sme pri plameni kultúru nariadili, kedy sme pridali potrebné vypočítané množstvo starej kultúry do 500 ml 2xYT média s ampicilínom (100 µg/ml) na OD 0,1 a zmes sme znova inkubovali 1,5 hodiny pri 37 °C, 200 rpm. Po danom čase sme znova zmerali OD, ktoré by tento raz malo byť medzi 0,6 – 0,8 a banky sme ochladili vo vode s ľadom. Pridali sme 1 M IPTG (finálna koncentrácia v kultivačnom médiu 0,1 mM) a po vložení baniek do inkubátora, sme znova nechali kultúry inkubovať 18 hodín pri 20 °C.

Na druhý deň sme bakteriálne kultúry centrifugovali po dobu 15 minút pri 8000 g a 4 °C. Pelety sme následne odvážili a zmrazili v tekutom dusíku. Zmrazené pelety sme uložili v chladničke -80 °C.

Na druhý deň sme pelety rozmrazili na ľade a pridali sme k nim lyzačný pufor (na 1 g peletu pripadalo 7 ml puforu), inhibítory preteáz (leupeptín, pepstatín, pefablock) a lyzozým (1 mg lyzozýmu na 1 ml lyzačného roztoku). Na vortexe sme premiešali túto zmes a nechali sme ju na ľade inkubovať po dobu 20 minút. Zmes sme následne sonikovali 6x20 pulzov. Po sonikácii sme pridali MgCl<sub>2</sub> (finálna koncentrácia 6 mM) a práškovú DNázu (1/3 lyžičky). Zmes sme premiešali a nechali pol hodinu na ľade. Následne sme zmes centrifugovali 30 minút pri 17500 rpm.

Na izoláciu SAK sme použili metódu afinitnej chromatografie. Čistú kolónku sme prepláchli etanolom a vodou. Naplnili sme ju 4 ml (2 ml bed volume) Ni-NTA matrixom. Matrix sme premyli destilovanou vodou a ekvilibračným pufrom (200 mM NaCl, 50 mM hepes). Na takto pripravenú kolónu sme naniesli supernatant. Po pretečení „flow-through“ sme náplň premyli premývacím (200 mM NaCl, 50 mM hepes, 40 mM imidazol) roztokom. Na elúciu proteínu sme použili elučný pufor s 200 mM NaCl, 50 mM hepes, 250 mM imidazol a 10% glycerolom. Koncentrácia proteínu bola stanovená na spektrofotometrii. Po každom kroku sme odobrali frakcie, ktoré sme následne aplikovali na 15% SDS polyakylamidový gél.

Ako posledný krok purifikácie sme proteín prečistili pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC), kde sme frakcie nanášali na Superdex 75 Increase 10/300 GL kolónu. Vďaka tejto technike sme získali čistejšie proteíny, ktoré boli vyeluované do fosfátového puforu (pH = 7,5).

#### *Aktivity esej*

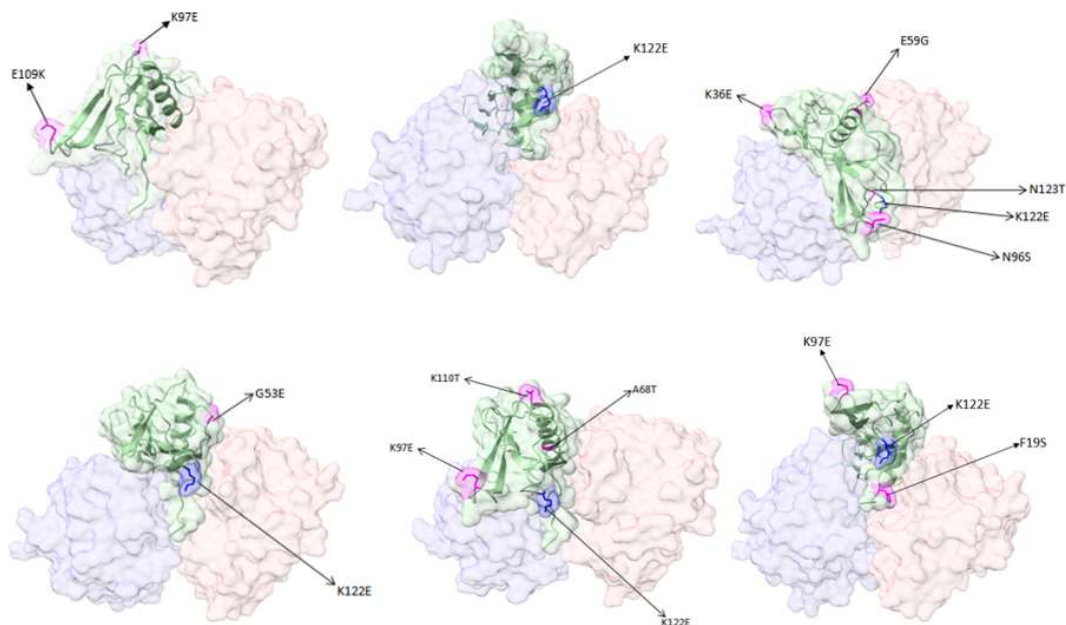
Na určenie aktivity komplexu SAK.plazmín sme využili chromogénnu esej, ktorá bola meraná pomocou plate reader-u EL 808 Ultra Microplate Reader (Biotek Instruments, inc.). Meranie prebiehalo pri 37 °C, 405 nm po dobu 40 minút s použitím plazmínového chromogénneho substrátu známeho ako Chromogenix S-225 (0,7 nM). Na esej sme použili PBS pufor (1x), plazmín (6 nM), plazminogén (550 nM) a vybrané SAK proteíny (6 nM).

#### *Cirkulárny dichroizmus (CD) spektroskopia*

Na určenie sekundárnej štruktúry a termálnej stability vybraných mutantov bol použitý Jasco J-815 (Japonsko). Proteíny boli nariadené na finálnu koncentráciu 15 mM. CD merania sa uskutočnili pri teplote v rozsahu 20 °C až 80 °C, s vlnovou dĺžkou nastavenou na 215 nm.

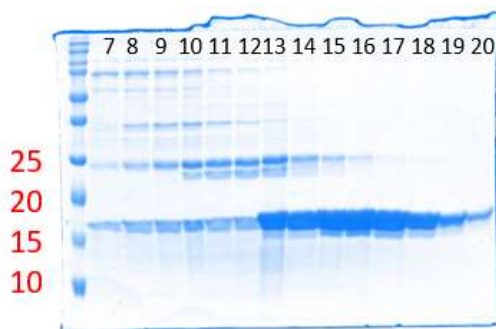
## **Výsledky a diskusia**

Časť variantov, s príslušnými mutáciami, ktoré sú znázornené nižšie (obr. 1), boli vybrané na základe ich exprimovateľnosti, okrem variantu SAK 10.4, ktorá vykazovala zvýšenú aktivitu, na základe predchádzajúcich testov a SAK 10.36, ktorá obsahuje jedinú zmenu na K122E. Táto mutácia sa s opakovaním ribozómového displeja začleňuje do viacerých variantov.



**Obr. 1** Vyselektované SAK varianty z ľava hore do prava 10.4 (K97E, E109K), 10.36 (K122E) (po 5. kole RD), 11.9 (K36E, E59G, N95S, K122E, N123T), 11.27 (G53E, K122E), 11.34 (A68T, K97E, K110T, K122E), 11.47 (F19S, K97E, K122E)

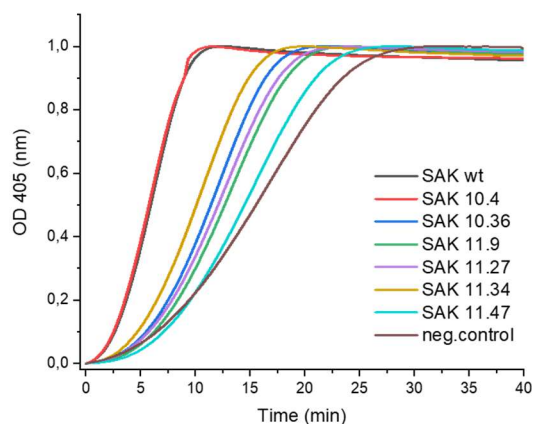
Naším prvým cieľom bola výroba a čistenie vybraných variantov. Po produkcii a purifikácii sme vzorky z frakcií naniesli na 15% SDS PAGE gély (obr. 2).



**Obr. 2** Ukážka gélu SAK 10.36, frakcie 7 – 20 na SDS PAGE gély po HPLC prečistení.

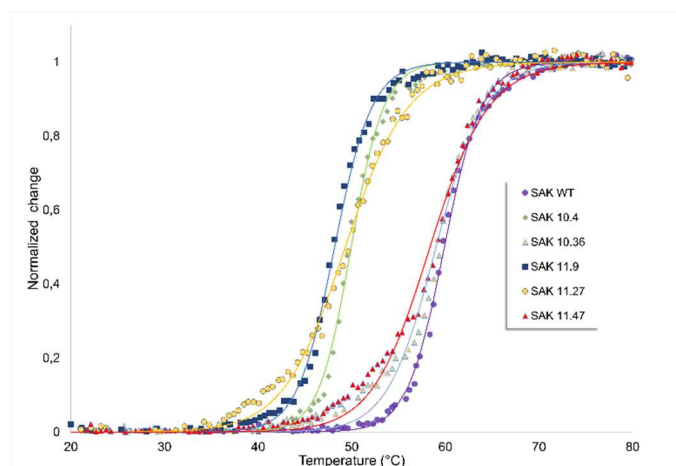
Po získaní čistých frakcií, sme mohli pristúpiť k nášmu druhému cieľu, kedy sme vzorky využili na merania biochemických a biofyzikálnych vlastností.

Ako prvé sme merali aktivitu daných mutantov. Spojením SAK a plazmínu sa vytvoril zodpovedajúci SAK.plazmín komplex. K nemu sme následne pridali plazminogén a chromogénny substrát, ktorý sa štiepi vznikajúcim plazmínom. Tento proces si môžeme odpozorovať vznikom žltého sfarbenia zmesi.



**Obr. 3** Výsledok aktivity eseje, kde sme porovnávali aktivitu SAK divokého typu (WT) s vybranými variantami. Zo zobrazených závislostí je jasné, že aktivitu porovnateľnú s WT má len jeden z variantov a to SAK 10.4. Zvyšné varianty vykazovali nižšiu aktivitu.

Analýza termálnej stability je nevyhnutná pre zistenie optimálnych podmienok pre biologické fungovanie proteínu. Ďalším získaným parametrom bola práve preto termálna denaturácia SAK proteínov.



**Obr. 4** Výsledky CD meraní. Porovnanie tepelných stabilit SAK WT a vybraných variantov, kedy varianty SAK 10.36 a 11.47 vykazovali termálnu stabilitu porovnateľnú so SAK WT.

## Záver

SAK predstavuje sľubné trombolytické liečivo tretej generácie s významným praktickým potenciálom, tak čo sa týka klinického využitia, vylepšených biofyzikálnych a funkčných vlastností proteínu a produkčných nákladov. V tejto práci sme sa sústredili na purifikáciu, produkciu a charakterizáciu biofyzikálnych vlastností vybraných SAK mutantov, ktoré boli vyvinuté jednou z metód riadenej evolúcie, ribozómovým displejom. Získané výsledky z tohto pilotného testovania limitovanej množiny proteínov možno zhrnúť nasledovne: (i) vyselektované proteíny majú porovnateľnú alebo nižšiu aktivitu ako SAK WT a (ii) na základe teplotných stabilit je možné proteíny rozdeliť do jasne definovaných dvoch skupín. Z hľadiska fibrinolytickej aktivity najaktívnejší variant SAK, variant 10.4, mal porovnateľnú aktivitu ako divoký typ SAK, avšak výrazne nižšiu stabilitu. Na druhej strane, varianty 11.47 a 10.36 s porovnateľnou teplotnou stabilitou mali výrazne nižšiu aktivitu. Všetky testované varianty mali porovnateľnú afinitu k plazmínu ako divoký typ SAK. Z uvedeného vyplýva, že testované vlastnosti SAK, t.j. afinita a stabilita, ovplyvňujú aktivitu SAK iba nepriamo. Tento záver poukazuje na nevyhnutnosť vývoja vhodnej vysoko-účinnnej metódy na priame meranie fibrinolytickej aktivity evolvovaných variantov SAK. Na vývoji tejto metódy v súčasnosti intenzívne pracujeme.



## Pod'akovanie

Táto práca bola podporená Agentúrou na výskum a vývoj (projekt APVV-20-0340), Agentúrou Ministerstva školstva, výskumu, vývoja a mládeže SR (VEGA 1/0074/22) a a Vnútrotným grantom z Univerzity P. J. Šafárika (vvg-2024-3103).

## Literatúra

ALI, M. R., et. al, 2014. Aspect of thrombolytic therapy: a review. In: The Scientific World Journal.

BAIG, M. U. and BODLE, J., 2020. Thrombolytic therapy MACKMAN, N. 2008. Triggers, targets and treatments for thrombosis. In: Nature. Vol. 451. no.7181, p. 914– 918.

CORONADO, F., et al., 2022. Peer Reviewed: Global Responses to Prevent, Manage, and Control Cardiovascular Diseases. In: Preventing chronic disease. Vol. 19.

KYRLE, P. A. and EICHINGER, S., 2005. Deep vein thrombosis. In: The Lancet. Vol. 365, no. 9465, p. 1163-1174.

MA, Y. H., et al., 2019. Targeted delivery of plasminogen activators for thrombolytic therapy: An integrative evaluation. In: Molecules. Vol. 24, no. 18.

NGUYEN, L. T. and VOGEL, H. J., 2016. Staphylokinase has distinct modes of interaction with antimicrobial peptides, modulating its plasminogen-activation properties. In: Scientific reports. Vol. 6, no.1.

NEDAEINIA, R., et al., 2020. Bacterial staphylokinase as a promising third-generation drug in the treatment for vascular occlusion. In: Molecular Biology Reports. Vol. 47, no. 1, p. 819–841.

NIKITIN, D., et al., 2021. Development and testing of thrombolytics in stroke. In: Journal of Stroke. Vol. 23, no. 1, p. 12-36.

NIKITIN, D., et al., 2022. Computer-aided engineering of staphylokinase toward enhanced affinity and selectivity for plasmin. In: Computational and structural biotechnology journal. Vol. 20, p. 1366-1377.

PULICHERLA, K. K., et al., 2013. In vitro characterization of a multifunctional staphylokinase variant with reduced reocclusion, produced from salt inducible E. coli GJ1158. In: BioMed research international.

VANDERSCHAUEREN, S., 2000. Staphylokinase for a better thrombolytic treatment of heart and platelet diseases. In: Verhandelingen-Koninklijke Academie Voor Geneeskunde van België. Vol. 62, no.1, p. 69-75.

WARDLAW, et al., 2014. Thrombolysis for acute ischaemic stroke. In: Cochrane Database of Systematic Reviews. Vol. 2014, no. 7.

# RADIAČNÉ VPLYVY KOZMICKÉHO ŽIARENIA NA PILOTOVANÉ MISIE A URÝCHĽOVANIE KOZMICKÉHO ŽIARENIA

*Radiation effects of cosmic rays on manned missions and acceleration of cosmic rays*

**Dominika Švecová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta*

**Abstrakt:** Príspevok je zameraný na kozmické žiarenie (ďalej len KŽ), jeho moduláciu, vplyv na ľudský organizmus pri pilotovaných letoch do hlbokého vesmíru a akceleráciu KŽ. Článok sa detailnejšie zaoberá jedným z vplyvov KŽ na ľudský organizmus, konkrétne javom takzvaných svetelných zábleskov (z anj. Light flashes). Svetelné záblesky sú vizuálnym efektom interakcie častíc KŽ s ľudským okom. Tento jav je predmetom výskumu už viac ako 50 rokov a jeho fyzikálny pôvod a mechanizmus vzniku stále neboli objasnené. Príspevok predstavuje model vyvinutý na preverenie rôznych potencionálnych mechanizmov svetelných zábleskov. Na vytvorenie modelu boli použité dva softvérové balíky (GEANT4, FLUKA).

**KLúčové slová:** *Kozmické žiarenie, Svetelné záblesky, Simulácie, GEANT4, FLUKA.*

**Abstract:** This article concentrates on cosmic rays (hereafter CRs), their modulation, their effect on the human organism during piloted missions to outer space, and the acceleration of the CRs. The article takes a more detailed look at one of the aspects of the effect of CRs on the human organism, specifically the phenomenon called Light flashes. The Light flashes are a visual effect of the interaction of the CRs with the human eye. This phenomenon has been the research subject for over 50 years; however, its physical origin or creation mechanism is still not fully understood. The article introduces the simulation model created to verify various potential mechanisms of the Light flashes origin. To construct the simulation model, we used two different software packages (GEANT4, FLUKA).

**Keywords:** *Cosmic rays, Light flashes, Simulations, GEANT4, FLUKA.*

## Kozmické žiarenie

Kozmické žiarenie je prúd vysoko-energetických častíc pochádzajúcich z vesmíru. Pozostáva prevažne z jadier vodíka, teda protónov, (približne 90%) alebo z alfa častíc, teda jadier Héliu, (okolo 9%). Zvyšné 1% zahŕňa ťažšie prvky ako uhlík, dusík, kyslík či železo<sup>[1]</sup>. KŽ môžeme rozdeliť pomocou viacerých kritérií. Ak sa pozeráme na zdroj KŽ potom máme tri hlavné kategórie:

- galaktické KŽ – žiarenie prichádzajúce spoza Heliosféry
- slnečné KŽ – žiarenie prichádzajúce zo Slnka
- anomálne KŽ – žiarenie uväznené v Heliosfére a urýchlené na Terminačnom šoku.

Ak kategorizujeme podľa interakcie s hmotou, potom máme dve hlavné kategórie:

- primárne KŽ – neinteragovalo s hmotou
- sekundárne KŽ – interagovalo s hmotou.

Podskupinou tejto kategorizácie je interakcia s atmosférou Zeme. Ak KŽ ešte s atmosférou neinteragovalo potom je to primárne KŽ. V prípade, že už došlo k interakcii s atmosférou Zeme potom toto KŽ nazývame sekundárnym. Hlavným predmetom nášho výskumu je primárne galaktické KŽ.

Žiarenie prichádzajúce z vesmíru bolo pomenované kozmickým žiarením niekedy v polovici 20. rokov 20. storočia. Termín kozmické žiarenie bol zavedený Robertom Millikanom<sup>[2]</sup>, KŽ však bolo objavené oveľa skôr. Cesta objavu KŽ sa začala keď si vedci všimli, že elektroskop sa spontánne vybíja ak je ponechaný na vzduchu<sup>[3]</sup>. Po objavení rádioaktivity bol dôvod tohto spontánneho vybíjania priradený vzduchu, ktorý ionizoval nejaký typ žiarenia. Odpoveď na otázku aký typ žiarenia to je ponúkol v roku 1912 Viktor Hess, ktorý zistil, že so stúpajúcou nadmorskou výškou intenzita

žiarenia najskôr klesá (približne do výšky 1 km) a potom začne prudko narastať<sup>[4]</sup>. Teda žiarenie spôsobujúce ionizáciu vzduchu, ktorý vybíja elektroskop nepochádza zo Zeme ale z vesmíru.

Intenzitu KŽ, resp. počet častíc KŽ určitej energie, vieme vyjadriť pomocou energetického spektra. Energie častíc sa pohybujú v intervale od  $10^8$  eV po  $10^{20}$  eV, pričom intenzita častíc KŽ je v intervale od  $10^{-28}$  do  $10^4$  častíc/( $m^2$  s sr GeV). Spektrum je rozdelené na viacero častí a všetky až na jednu sú popísané mocninovou funkciou. Okrem prvej časti spektra sa častice v ďalších častiach správajú pomocou mocnínovej funkcie. Zmena hodnoty spektrálneho indexu tvorí zlomy viditeľné na spektre. Tieto zlomy voláme koleno, pri energii  $10^{15}$  eV, a členok, pri energii  $10^{18}$  eV<sup>[5]</sup>. Častice v prvej časti spektra, energia od  $10^8$  do  $10^{11}$  eV<sup>[6]</sup>, majú dostatočne nízku rýchlosť na to aby mohli byť ovplyvnené magnetickým poľom Slnka (Heliosférou). Toto ovplyvnenie sa prejaví sploštením spektra KŽ a nazývame ho moduláciou.

Ako už bolo vyššie spomenuté magnetické polia objektov môžu ovplyvňovať častice KŽ. Kolízie s iregularitami v magnetickom poli môžu pre časticu znamenať získanie energie (urýchlenie častice) alebo jej stratu (spomalenie častice). Výsledok závisí od typu kolízie s iregularitami alebo takzvanými magnetickými mrakmi. Existujú dva typy zrážok a to:

- head-on – častica a magnetický mrak sa zrazia čelne – častica získava energiu
- tail-on – častica narazí akoby do chrbta mraku – častica stráca energiu

Tieto mechanizmy popísal podrobne v 1949 Enrico Fermi vo svojom článku<sup>[7]</sup>. Tieto mechanizmy boli neskôr pomenované Fermiho mechanizmy 1. a 2. rádu. Jednou z častí výskumu urýchľovania častíc KŽ je ich urýchľovanie na rázových vlnách, napríklad na Terminačnom šoku Heliosféry alebo rázových vlnách Supernov<sup>[8]</sup>.

Keďže KŽ je typom ionizujúceho žiarenia, môže byť veľmi škodlivé pre ľudský organizmus. Mnohé štúdie potvrdili škodlivosť ionizujúceho žiarenia, či už štúdie zamerané na ľudí, ktorý prežili výbuchy atómových bômb či elektrární alebo štúdie zamerané na rádioterapiu a jej vedľajšie účinky. Štúdie vykonané na astronautoch, či už Apollo misie<sup>[9]</sup> alebo misie na medzinárodných vesmírnych staniách (MIR, ISS)<sup>[10, 11]</sup>, alebo štúdie vykonané bez ľudskej prítomnosti, ako Mars Science Laboratory<sup>[12]</sup>, nám pomáhajú lepšie pochopiť vplyv KŽ na astronautov a ľudský organizmus všeobecne. Na Zemi sme od častíc dopadajúcich na nás z vesmíru chránení magnetickým poľom Zeme. Pre ľudí, ktorí však zájdu za tento ochranný štít to však vyzerá inak. Častice KŽ sú prevažne vysoko-energetické protóny, ktoré prenikajú hlboko do organizmu a môžu spôsobovať mutácie buniek a molekúl. Príkladom molekúl, ktoré by mohli byť ovplyvnené sú napríklad molekuly DNA, čo spôsobuje problémy pre jednotlivé orgány ako aj organizmus ako taký<sup>[13]</sup>. Tieto interakcie môžu spôsobiť výskyt rakoviny. Vystavenie KŽ pri dlhých misiách na Mesiace či Mars môže zvýšiť riziko výskytu rakoviny o 3%, s približne 15% rizikom smrti<sup>[14]</sup>. Ďalšie problémy, ktoré sa môžu vyskytnúť sú problémy s kardiovaskulárnym či nervovým systémom. Môže dôjsť k problémom s pamäťou či reprodukčným systémom. Jedným z najväznejších ochorení, ktoré sa môžu vyskytnúť počas letov do hlbokého vesmíru sú akútne a chronické choroby z ožiarenia. Ak nie je poskytnutá lekárska pomoc, tieto choroby môžu byť smrteľné<sup>[15]</sup>. Ďalšou oblasťou, ktorá je značne ovplyvnená KŽ je ľudské oko. Experimentálne dáta ukazujú zvýšený výskyt šedého zákalu po ožiarení KŽ<sup>[16]</sup>. Dáta taktiež ukázali zvýšenú mieru šírenia šedého zákalu kvôli KŽ<sup>[17]</sup>.

## Light flashes

Light flashes alebo svetelné záblesky je jav, ktorý nastáva pri prechode vysoko-energetický častíc KŽ ľudským okom. Poznáme tri hlavné typy svetelných zábleskov<sup>[9]</sup>:

- bodové alebo hviezdne (taktiež nazývané super nova) – 66%
- pásové – 25%
- mračná – 8%.

Všetky dosiaľ pozorované svetelné záblesky boli hlásené ako biele alebo bezfarebné, okrem jedného, ktorý bol opísaný ako modrý diamant.

Tento jav bol po prvýkrát pozorovaný počas misie Apollo 11. Posádka Apolla 11 nahlásila, že keď bol ich modul tmavý a ich oči si zvykli na tmu, videli záblesky svetla. Podobne tieto záblesky hlásili aj posádky Apolla 12 a 13. Počas všetkých ďalších letov mali astronauti nariadené sledovať tieto záblesky. Prvým experimentom skúmajúcim pôvod týchto zábleskov bol ALFMED na palube mise Apollo 16 a 17. Počas tohto experimentu sa zistilo, že pôvodom týchto zábleskov je interakcia vysoko-energetických častíc KŽ s ľudským okom<sup>[9]</sup>. Presný mechanizmus vzniku týchto zábleskov však zistený nebol. Skúmanie tohto javu pokračovalo na medzinárodných vesmírnych staniciach MIR a ISS.

Tieto experimenty (SilEye 1 a 2) pokračovali vo výskume svetelných zábleskov a navrhli dva suplementárne mechanizmy vzniku svetelných zábleskov<sup>[18, 19]</sup>:

- priama interakcia jadier ťažkých prvkov so sietnicou oka, spôsobujúca ionizáciu alebo excitáciu
- jadrové interakcie protónov KŽ s materiálom oka vytvárajúce ďalšie častice.

Ďalšie experimenty, ktoré sa zaoberali touto témou boli SilEye-3/Alteino a ALTEA program. Skúmali koreláciu medzi objektívnymi mozgovými signálmi a subjektívnym pozorovaním svetelných zábleskov pomocou pripojeného electroencefalografu (EEG)<sup>[19]</sup>. V súčasnosti sa na ISS nachádza LIDAL, detektor podobný ALTEA detektoru, ktorý sa používa ako jeden z detektorov na hodnotenie radiačného rizika<sup>[20]</sup>.

Misie, ktoré skúmali svetelné záblesky (LF) sa líšili v mnohých aspektoch, napríklad v type tienenia. Frekvencie pozorovania svetelných zábleskov pre dané misie boli nasledovné:

- ~ 2,9 LF/min. – Apollo misie<sup>[9]</sup>
- ~ 1,8 LF/min. – Skylab misie<sup>[21]</sup>
- ~ 0,18 LF/min. – MIR SilEye 1 misia<sup>[22]</sup>
- ~ 0,145 LF/min. – ISS SilEye 2 misia<sup>[22]</sup>
- ~ 0,10 LF/min. – ISS SilEye 3/Alteino<sup>[23]</sup>

## Modely ľudského oka

K modelu ľudského oka nás priviedol model odhadu radiačnej dávky vytvorený počas písania predošlých prác. Model pozostával z troch častí. Prvá časť bol model modulácie KŽ magnetickým poľom Slnka a rekonštrukcia spektier pre istú registračnú hranicu (napríklad trajektória na Mars). Druhá časť modelu sa zaoberala výpočtom energetických strát v ľudskom tele použitím Bethe-Blochovej formuly. Simulácia tejto časti modelu by sa teda dala využiť na simuláciu oka a interakcii prebiehajúcich pri prechode KŽ daným materiálom. Tretia časť modelu sa zaoberala odhadom celkovej absorbovanej energie a ekvivalentnej dávky. Výsledná hodnota ekvivalentnej dávky náš model vypočítal pre cestu na Mars bola 0,678 Sv<sup>[24]</sup>. Náš výsledok sme potom porovnávali s nameranou hodnotou z letu na Mars, ktorý podstúpil rover Curiosity v roku 2011. Ich nameraná hodnota ekvivalentnej dávky bola 0,466 Sv<sup>[12]</sup>, čo je približne 30% menej ako náš výsledok. Túto odchýlku však spôsobilo viacero faktorov. Podstatným faktorom bola neprítomnosť tienenia v našom modeli.

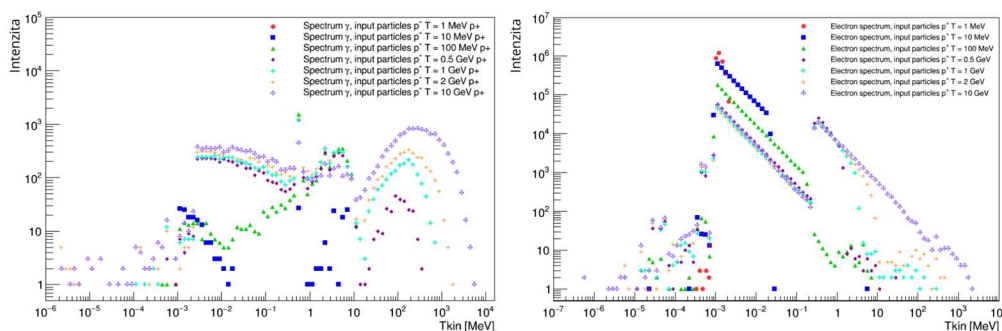
Prvý model ľudského oka pozostáva z jednoduchej aproximácie tvaru ľudského oka kvádom 3 cm dlhým, 2 cm širokým a 2 cm vysokým naplneným vodou. Okolo tohto kvádra sa nachádza kváder s dĺžkou 15 cm, šírkou 10 cm a výškou 10 cm naplnený vzduchom. Na simulácie sme použili dva voľne dostupné softvérové balíky, konkrétne GEANT4<sup>[25]</sup> a FLUKA<sup>[26]</sup>.

Model v GEANT4 balíku bol vytvorený z pôvodného cvičného príkladu (B1). Po zmene geometrie a primárnych častíc sme mohli tento jednoduchý model použiť aby sme dostali prvé výsledky. Ako primárne častice sme použili protóny s rôznymi pôvodnými energiami, a to 1, 10 a 100 MeV, a 0,5, 1, 2 a 10 GeV. Do kvádrov bolo vpustených 100 000 protónov pre každú energiu. Informácie, ktoré vieme získať z týchto simulácií sú trajektória vzniknutej častice, typ častice, ich energia, absorbovaná dávka a iné. Momentálne sa v tomto modeli zaoberáme implementáciou optických vlastností pre Čerenkovo a scintilačné žiarenie.

Model vo FLUKA balíku je podobný tomu v GEANT4, teda dva kvádre vyššie uvedených rozmerov, do ktorých sú vpúšťané protóny s pôvodnými energiami 1, 10 a 100 MeV, a 1 a 10 GeV. FLUKA simulácie majú navyše pridané optické vlastnosti pre Čerenkovo a scintilačné žiarenie. Pre každú energiu sme do kvádrov vpustili 100 000 častíc. Z FLUKY dostávame takzvané mapy fluencie pre rôzne častice ako aj pre energiu, dávku a ďalšie.

## Výsledky

Dáta zozbierané z prvých simulácií v GEANT4 boli najskôr roztriedené pomocou typu vzniknutej častice a uložené v osobitných súboroch, ktoré boli neskôr analyzované. Z informácií o jednotlivých časticiach sme potom vedeli vytvoriť potrebné histogramy, respektíve energetické spektrá pre daný druh častice. Častice registrované v týchto simuláciách boli rôzne, napríklad sekundárne protóny, elektróny, pozitrony, neutróny, alfa a gama častice a iné.

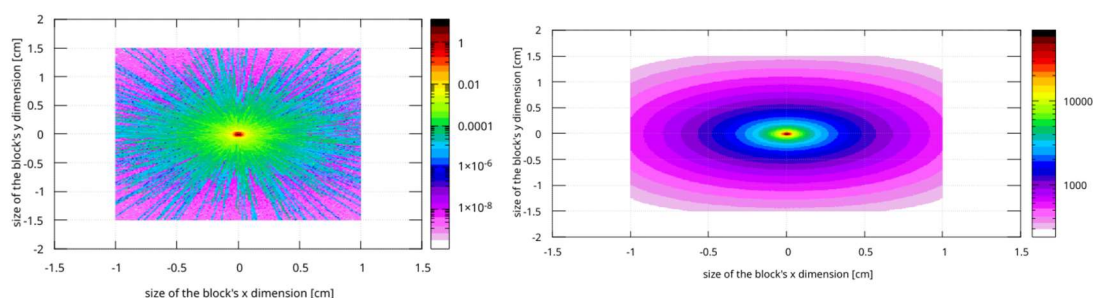


Obr. 1 Energetické spektrá sekundárnych gama častíc (vľavo) a elektrónov (vpravo)

V týchto výsledkoch nás najviac zaujímali gama častice (obr. 1). Spomedzi gama častíc ich veľmi malá časť, reprezentovaná na obrázku časticami s energiami menšími ako  $4 \cdot 10^{-6}$  MeV, sú fotóny registrovateľné ľudským okom. Je ich však rádovo miliónkrát menej než ostatných gama častíc. V GeANT4 majú fotóny v rozsahu ľudským okom viditeľných vlnových dĺžok špecifický názov optický fotón, a tie sme vo výsledkoch našich simulácií nevideli. Preto sme simulácie vylepšovali doplnením optických vlastností a zlepšovali sme spôsob ukladania informácií. Vylepšené simulácie však ešte nie sú v štádiu keď by mohli dávať hodnoverné výsledky a preto ich ešte neuvádzame.

Implementácia optických vlastností vo FLUKA simuláciách bola spravená už pri prvom modeli. Využitím kariet špecifických pre Čerenkovo a scintilačné žiarenie sme takto dostali možnosť zistiť prítomnosť viditeľných fotónov, takzvaných optických fotónov, ako bolo spomenuté vyššie. Analyzovaním dát zozbieraných z týchto simulácií dostávame mapy absorbovanej energie (v  $\text{GeV}/\text{cm}^3$ ) a mapy fluencií (v počet častíc/ $\text{cm}^2$ ), napríklad optických fotónov (obr. 2).

Podobné mapy fluencií pre optické fotóny máme aj pre ostatné energie použité pri simuláciách okrem 1 MeV simulácií. Pre 1 MeV simulácie boli tieto mapy nulové. Aby sme vedeli lepšie posúdiť prítomnosť optických fotónov v našich simuláciách, spočítali sme pre dané mapy integrály, ktoré nám povedali celkové počty optických fotónov v danom regióne. V našom prípade bol skórovaným regiónom kváder s vodou, ktorý slúži ako jednoduchý model ľudského oka. Výsledné hodnoty počtov optických fotónov v simuláciách sa nachádzajú v tab. 1.



**Obr. 2** Mapy fluencií absorbovanej energie (vľavo v  $\text{GeV}/\text{cm}^3$ ) a optických fotónov (vpravo v počet častíc/ $\text{cm}^2$ ) pre 100 MeV

**Tab. 1** Priemerný počet optických fotónov v mapách fluencií vygenerovaných jednou primárnou časticou (protónom) s uvedenou primárnou energiou (získané so štatistiky 100 000 primárnych protónov).

Primárna energia	1 MeV	10 MeV	100 MeV	1 GeV	10 GeV
Počet optických fotónov	0	563,35	9989,4	10 171	10 495

Na sietnici oka sa nachádzajú dva typy receptorov, ktoré detegujú svetlo. Čapíky zabezpečujú naše videnie počas silnejšieho svetla a vedú rozlišovať medzi farbami. Tyčinky slúžia na videnie v šere a vedú rozoznávať aj jednotlivé fotóny<sup>[27]</sup>. Tieto fotoreceptory registrujú fotóny a konvertujú ich na elektrické signály. Prah viditeľnosti bol podľa štúdie od Hechta, Shlaera a Pirennea<sup>[28]</sup> určený ako množstvo svetla, ktoré môžeme vidieť s frekvenciou 60 %. Experimentálne dáta namerané počas tejto štúdie ukazujú, že prah viditeľnosti zodpovedá približne 50 až 150 fotónom<sup>[28]</sup> dopadajúcim na tyčinky v sietnici oka. Výsledky našich simulácií vo FLUKA softvéri teda ukazujú, že tam môže dochádzať k produkcii dostatočného množstva fotónov z Čerenkovho žiarenia na to aby astronauti videli svetelné záblesky.

## Záver

Jav svetelných zábleskov bol predpovedaný v 50. rokoch minulého storočia a po prvýkrát bol tento jav pozorovaný počas misie Apollo 11. Odtedy bolo zistené, že je tento jav spôsobený vysokoenergetickými časticami KŽ. Misia SilEye 2 navrhla dva možné mechanizmy. Jeden z nich, konkrétne vznik častíc pri interakciách protónov KŽ s materiálom oka, sa snažíme overiť aj pomocou našich simulácií.

Simulácie pomocou balíka GEANT4 nám ukázali niekoľko typov vzniknutých častíc, z toho najpodstatnejšími boli gama častice, respektíve fotóny. Počas týchto prvých simulácií sme však nevedeli rozoznať či ide o takzvané optické fotóny, teda fotóny viditeľného spektra. Preto sme práve v procese implementácie optických vlastností do týchto simulácií aby sme ich mohli porovnať s výsledkami z balíka FLUKA. FLUKA simulácie nám ukázali prítomnosť optických fotónov spôsobených Čerenkovým žiarením. Mapy fluencií optických fotónov, ako aj integrály týchto máp, pre energie od 10 MeV až po 10 GeV nám ukazujú kladné hodnoty optických fotónov. Celkové počty týchto fotónov sú dostatočné na to aby ich ľudské oko registrovalo ako svetelný podnet.

V budúcnosti by sme chceli dokončiť simulácie v GEANT4 balíku a výsledky porovnať s výsledkami z FLUKA simulácií. Ďalším možným postupom je vylepšenie zjednodušeného modelu ľudského oka. Taktiež by sme sa chceli pozrieť na druhý spomínaný mechanizmus, konkrétne na priamu interakciu ťažkých jadier so sietnicou oka.

## Literatúra

- [1] BLASCHE, F. *Analýza korelovaných spršiek kosmického záření*: Diplomová práca. Opava: Slezská Univerzita v Opavě, 2009. 116 s.
- [2] MILLIKAN, R. A. a G. H. CAMERON. The origin of the cosmic rays. In *Physical Review*, 1928, roč. 32, č. 4, s. 533 – 557.
- [3] COULOMB, C. A. *Mémoires sur l'électricité et le magnétisme*. Paríž: Académie royale des sciences, 1789.
- [4] HESS, V. F. Über beobachtungen der durch dringen den strahlungbeisieben freiballonfahrten. In *Physikalische Zeitschrift*, 1912, roč. 13, s. 1084 – 1091.
- [5] BATALHA, L. M. L. M. *Solar modulation effects on cosmic rays*: Dizertačná práca. Lisabon: Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, 2012. 78 s.
- [6] BOBIK, P. et al. Estimation of the modulation level of cosmic rays at high energies. In *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, 2021, roč. 503, č. 3, s. 3386 – 3393.
- [7] FERMI, E. On the origin of the cosmic radiation. In *Physical Review*, 1949, roč. 75, č. 8, s. 1169 – 1174.
- [8] COLGATE, S. A. a M. H. JOHNSON. Hydrodynamic origin of cosmic rays. In *Physical Review Letters*, 1960, roč. 5, č. 6, s. 235 – 238.
- [9] NASA. *Biomedical results of Apollo*. Washington, D.C.: Scientific and Technical Information Office, National Aeronautics and Space Administration, 1975, NASA-SP-368.
- [10] CLÉMENT, G. et al. Medical survey of european astronauts during mir missions. In *Advances in Space Research*, 2010, roč. 46, č. 7, s. 831 – 839.
- [11] GARRETT-BAKELMAN, F. E. et al. The nasa twins study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight. In *Science*, 2019, roč. 364, č. 6436.
- [12] ZEITLIN, C. et al. Measurements of energetic particle radiation in transit to mars on the mars science laboratory. In *Science*, 2013, roč. 340, č. 6136, s. 1080 – 1084.
- [13] PIETSCH, J. et al. The effects of weightlessness on the human organism and mammalian cells. In *Current Molecular Medicine*, 2011, roč. 11, č. 5, s. 350 – 364.
- [14] DURANTE, M. a F. A. CUCINOTTA. Heavy ion carcinogenesis and human space exploration. In *Nature Reviews Cancer*, 2008, roč. 8, č. 6, s. 465 – 472.
- [15] CHANCELLOR, J. - SCOTT, G. - SUTTON, J. Space radiation: The number one risk to astronaut health beyond low earth orbit. In *Life*, 2014, roč. 4, č. 3, s. 491 – 510.
- [16] PATEL, Z. et al. Evidence report: Risk of cardiovascular disease and other degenerative tissue effects from radiation exposure. Houston, Texas: Lyndon B. Johnson Space Center, 2016.
- [17] CHYLACK, L. T. et al. Nasca report 2: Longitudinal study of relationship of exposure to space radiation and risk of lens opacity. In *Radiation Research*, 2012, roč. 178, č. 1, s. 25 – 32.

- [18] CASOLINO, M. et al. Dual origins of light flashes seen in space. In *Nature*, 2003, roč. 422, č. 6933, s. 680.
- [19] FUGLESANG, C. Using the human eye to image space radiation or the history and status of the light flash phenomena. In *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 2007, roč. 580, č. 2, s. 861 – 865.
- [20] DI FINO, L. et al. Radiation measurements in the international space station, columbus module, in 2020–2022 with the lidal detector. In *Life Sciences in Space Research*, 2023, roč. 39, s. 26 – 42.
- [21] NASA. *Biomedical results from Skylab*. Washington, D.C.: Scientific and Technical Information Office, National Aeronautics and Space Administration, 1977, vol. NASA-SP-377.
- [22] AVDEEV, S. et al. Eye light flashes on the mir space station. In *Acta Astronautica*, 2002, roč. 50, č. 8, s. 511 – 525.
- [23] NARICI, L. et al. The altea/alteino projects: studying functional effects of microgravity and cosmic radiation. In *Advances in Space Research*, 2004, roč. 33, č. 8, s. 1352 – 1357.
- [24] ŠVECOVÁ, D. *Štúdium distribúcie a pohybu častíc kozmického žiarenia v heliosfére*: diplomová práca. Košice: Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, 2019.
- [25] GEANT4 COLLABORATION. *Geant4: Book For Application Developers, Release 10.7*. [Online]. CERN, 2020. [cit. 2024-04-10]. Dostupné na internete: <https://geant4-userdoc.web.cern.ch/UsersGuides/AllGuides/html/ForApplicationDevelopers/index.html>
- [26] CERN. *FLUKA manual*. [Online]. CERN, 2020. [cit. 2024-04-10]. Dostupné na internete: <https://flukafiles.web.cern.ch/manual/index.html>
- [27] RIEKE, F. a D. A. BAYLOR. Single-photon detection by rod cells of retina. In *Reviews of Modern Physics*, 1998, roč. 70, č. 3, s. 1027 – 1036.
- [28] HECHT, S. - SHLAER, S. - PIRENNE, M. H. Energy, quanta, and vision. In *The Journal of General Physiology*, 1942, roč. 25, č. 6, s. 819 – 840.



# VPLYV ŽÍHANIA NA MAGNETICKÉ VLASTNOSTI KOMPAKTOVANÝCH A KOMPOZITNÝCH MATERIÁLOV NA BÁZE ŽELEZA

*The effect of annealing on the magnetic properties of iron-based compacted and composite materials*

**Martin Tkáč<sup>1</sup>, Peter Kollár<sup>1</sup>, Robert Maciaszek<sup>1</sup>, Mariusz Najgebauer<sup>2</sup>, Radovan Bureš<sup>3</sup>,  
Mária Fáberová<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, Park Angelinum 9, 04154 Košice, Slovensko

<sup>2</sup> Częstochowa University of Technology, Faculty of Electrical Engineering, al. Armii Krajowej 17, 42-200 Częstochowa, Poľsko

<sup>3</sup> Ústav materiálového výskumu SAV, Slovenská akadémia vied, Watsonova 47, 04001 Košice, Slovensko

**Abstrakt:** Táto práca prezentuje výsledky štúdia vplyvu žihania pred lisovaním častíc práškoveho železa na magnetické vlastnosti kompaktovaného práškoveho aj kompozitného materiálu na báze železa. Skúmali sme remanentnú magnetickú indukciu, koercitívne pole a celkové energetické straty pri maximálnej indukcii 0.1T, 0.4T, 0.7T a 1.0T pri frekvenciách do 6 kHz, komplexnú permeabilitu od 300 Hz do 30 MHz a elektrickú rezistivitu na štyroch magneticky mäkkých prstencových vzorkách obdĺžnikového prierezu, z ktorých dve boli pripravené z kompaktovaného práškoveho materiálu a dve z magneticky mäkkého kompozitného materiálu, pričom sa navzájom odlišovali tým, či ich železné častice podstúpili po mletí žihanie. Ukázalo sa, že žihanie spôsobuje nárast komplexnej permeability a remanentnej magnetickej indukcie, pokles koercitívneho poľa a celkových energetických strát, pričom tento efekt je viac viditeľný v prípade kompozitných vzoriek.

**KLúčové slová:** železo, magneticky mäkký kompozit, magnetické vlastnosti, koercitívne pole, energetické straty

**Abstract:** This paper presents the results of the study of the influence of annealing before pressing of powdered iron particles on the magnetic properties in both compacted powder and iron-based composite materials. We investigated remanent magnetic induction, coercive field and total energy losses at maximum induction of 0.1T, 0.4T, 0.7T and 1.0T at frequencies up to 6 kHz, complex permeability from 300 Hz to 30 MHz and resistivity on 4 magnetically soft ring samples of rectangular cross-section, two of which were of compacted powder material and two of magnetically soft composite material, differing from each other in whether their iron particles underwent annealing after grinding. Annealing has been shown to cause an increase in complex permeability and remanent magnetic induction, a decrease in coercive field and total energy losses, with this effect being more visible in the case of composite samples.

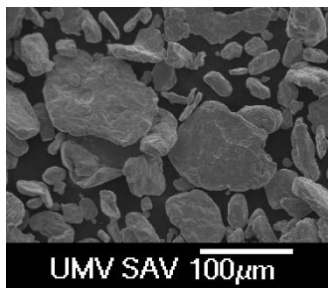
**Keywords:** iron, soft magnetic composite, magnetic properties, coercive field, energy loss

## Úvod

Magneticky mäkké materiály majú dnes dôležitú a neustále sa rastúcu úlohu v priemysle [1-2]. Medzi takéto materiály patria magneticky mäkké kompaktované práškové materiály a magneticky mäkké kompozitné materiály (SMC, z angl. soft magnetic composite). Vďaka tomu, že sa pripravujú metódami práškovej metalurgie, umožňujú prechod z 2D do 3D dizajnu elektrických zariadení [3]. SMC sa dá popísať ako systém feromagnetických častíc, ktoré sú od seba navzájom oddelené elektricky izolačným materiálom [1]. Tým sa zvýši elektrická rezistivita a znížia sa vírivé prúdy, ktoré tečú medzi jednotlivými feromagnetickými práškovými časticami. Prášková metalurgia umožňuje zmenšiť rozmery elektrických zariadení a odpad, ktorý vzniká pri výrobe, takže efektívne znižuje cenu zariadení ako sú napríklad elektromotory, generátory a aktuátory [4-5]. Ďalšou výhodou, ktorú prášková metalurgia poskytuje je možnosť ovplyvňovať vlastnosti výsledného materiálu zmenami parametrov počas výrobného procesu [6].

## Vzorky a metódy

Na prípravu vzoriek bol použitý Fe granulát (1 mm - 2 mm, čistota 99,98 %, Thermo Scientific, č. 039708). Príprava práškov prebiehala v planetárnom guľovom mlyne Retsch PM100 v kontinuálnom mlecom procese s rýchlosťou otáčania 500 ot./min. a BPR (ball to powder ratio) 3:1 na zmenšenie rozmerov práškových častíc. Jedno mletie trvalo 20 minút s 10 sekundovou prestávkou každú minútu, po ktorej nasledovalo obrátenie smeru otáčania mlecej nádoby na zabezpečenie rovnomerného opracovania mletého materiálu.



**Obr.1.:** Snímok zo skenovacieho elektrónového mikroskopu častíc prášku pro mletí pred sitovaním.

Následne bol mletý prášok presitovaný na frakciu rozmerov 125  $\mu\text{m}$  až 200  $\mu\text{m}$ , z ktorej polovica bola žihaná v rúrovej peci s prúdom plynu  $\text{H}_2$  (650  $^\circ\text{C}$ , 90 min). Takto boli vyrobené dve rôzne skupiny práškov (žihané a nežihané). Polovica práškových častíc z každej skupiny sa obalila do elektroizolačnej vrstvy oxidu kremičitého ( $\text{SiO}_2$ ), ktorý bol aplikovaný na častice železa pomocou Stöberovej metódy [7]. Proces prebehol v kadičke naplnenej izopropanolom, destilovanou vodou, TEOSom (tetraethoxysilan) a amoniakom s využitím miešadla pri 400 otáčkach za minútu počas 7 hodín. Následne sa prášok očistil izopropanolom a ponechal sa sušiť sa pri izbovej teplote do sucha.



**Obr.2.:** Príprava elektroizolačnej vrstvy  $\text{SiO}_2$ .

Všetky štyri takto vzniknuté skupiny práškov boli lisované do vzoriek prstencového tvaru s obdĺžnikovým prierezom pomocou horúcej vákuovej lisovacej pece pri tlaku 1.7 GPa. Na redukciu vnútorných napätí vzniknutých počas procesu prípravy sa v lisovacej peci po odstránení tlakovej sily nechali vzorky vystavené teplotnému spracovaniu pri 400  $^\circ\text{C}$  počas 60 minút.



Obr.3.: Lisovacia pec.

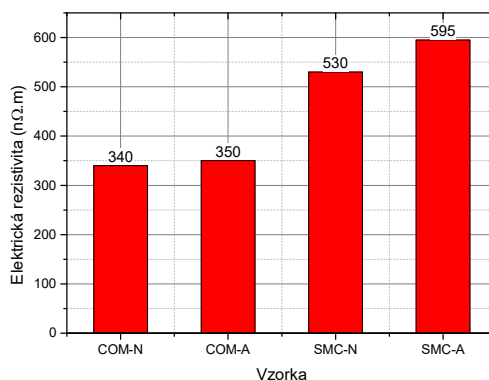
Názov	Žihanie pred kompaktovaním	Elektroizolačný povlak
COM-N	Nie	Nie
COM-A	Áno	Nie
SMC-N	Nie	Áno
SMC-A	Áno	Áno

Tab.1.: Vzorok

Meranie elektrickej rezistivity bolo uskutočnené bezkontaktnou metódou [8], merania hysteréznych slučiek prebehli na hysterézygrafe MPG 200D (Brockhaus Measurements) a meranie komplexnej permeability na impedančnom analyzátoe HP 4194A (Hewlett-Packard). V nižšie zobrazených grafoch (Obr. 5-10) sú znázornené experimentálne body spojené čiarami.

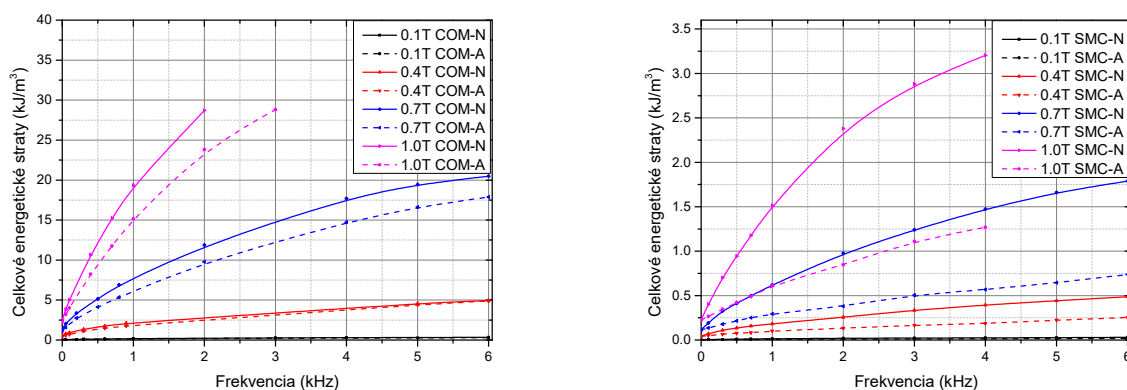
## Výsledky a diskusia

Z grafu (Obr.4.) vidieť, že žihanie prášku pred lisovaním spôsobilo nevýznamný nárast elektrickej rezistivity aj v prípade kompaktovaných aj kompozitných vzoriek. Viditeľný je hlavne nárast elektrickej rezistivity spôsobený prítomnosťou elektroizolačného povlaku.



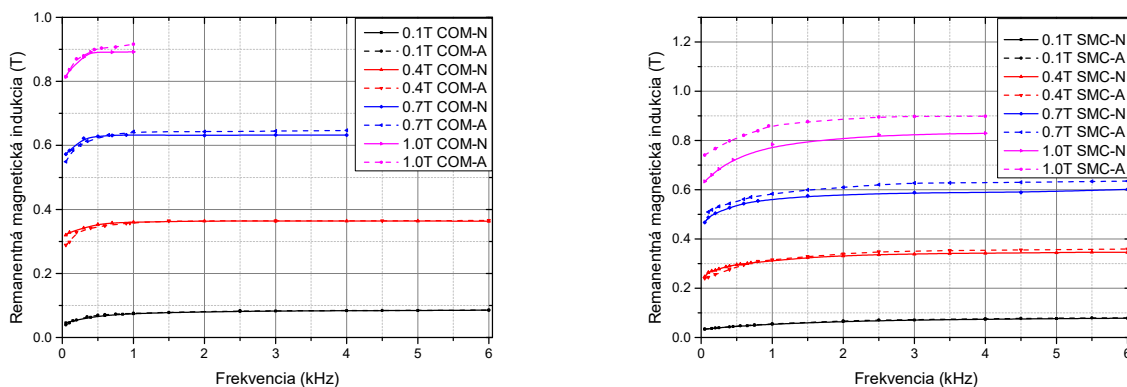
Obr.4.: Elektrická rezistivita kompaktovaných práškových a kompozitných vzoriek

Analýzou nameraných hysteréznych slučiek pri maximálnych indukciách 0.1T, 0.4T, 0.7T a 1.0T pri frekvenciách do 6 kHz sme získali frekvenčné závislosti remanentnej magnetickej indukcie, koercitívneho poľa a celkových energetických strát (Obr.5-7).



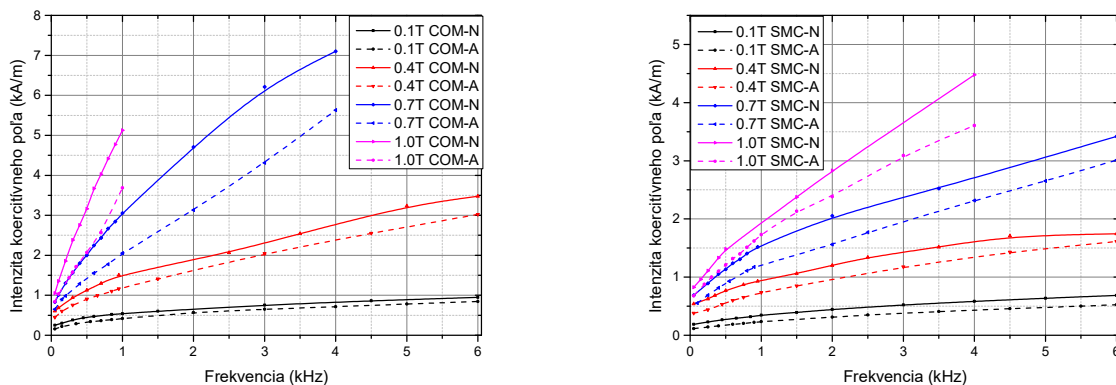
**Obr.5.:** Frekvenčná závislosť celkových energetických strát kompakovaných práškových a kompozitných vzoriek.

Z grafu (Obr. 5) vidieť, že žihanie práškových častíc po mletí znižuje celkové energetické straty, pričom tento jav je obzvlášť výrazný pri kompozitných vzorkách, kedy nastáva zníženie strát o viac než 50%. Zníženie strát môže byť spôsobené nárastom rezistivity, čo znižuje vírivé prúdy medzi časticami aj dôsledkom žihania, ktoré spôsobuje uvoľnenie vnútorných napätí vzniknutých procesom prípravy, čo môže spôsobovať zníženie hysterézných strát. Merania pri niektorých maximálnych indukciách sa od istých frekvencií nerealizovali, kvôli neprimeranému ohrevu vzoriek Joulovým teplom.



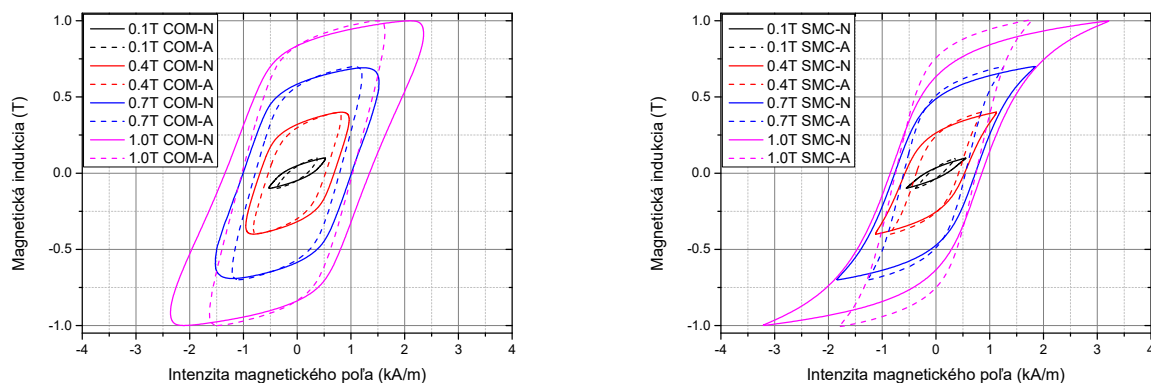
**Obr.6.:** Frekvenčná závislosť remanentnej magnetickej indukcie kompakovaných práškových a kompozitných vzoriek.

Z grafu (Obr.6) je vidieť, že pre kompakty aj kompozity majú žíhaná aj nežíhaná vzorka podobný priebeh frekvenčnej závislosti remanentnej magnetickej indukcie vo frekvenčnom rozsahu do 6kHz, pričom pri vyšších indukciách aj frekvenciách začína byť vidieť vplyv žihania na zvýšenie hodnôt remanentnej magnetickej indukcie.

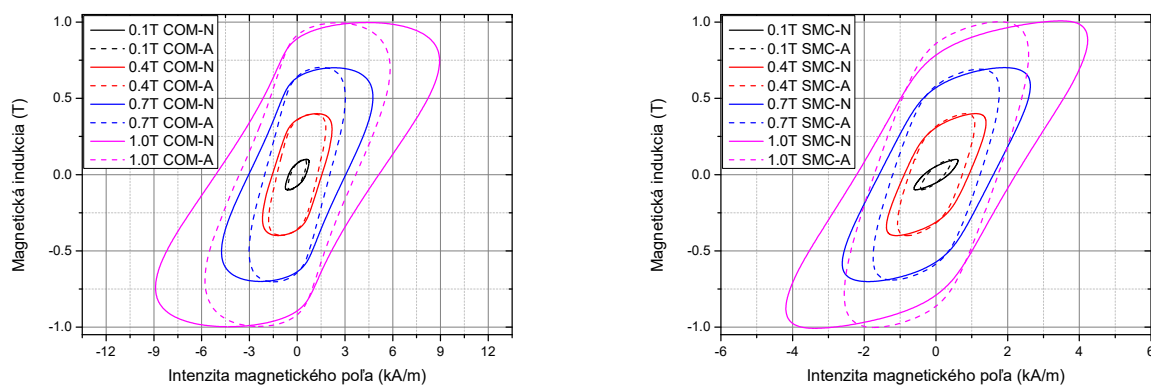


**Obr.7.:** Frekvenčná závislosť koercitívneho poľa kompakovaných práškových a kompozitných vzoriek.

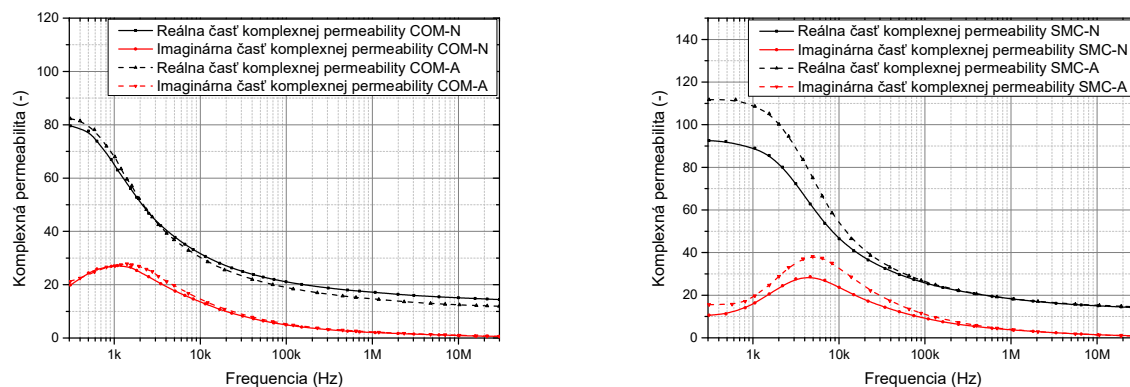
Z grafu (Obr.7) je vidieť, že žihanie spôsobuje pokles koercitívneho poľa pre kompakty aj pre kompozit pri všetkých meraných maximálnych indukciách v celom meranom frekvenčnom rozsahu. Pre lepšiu názornosť vplyvu žihania na sme na ukážku znázornili hysterézne slučky kompakto aj kompozitov pri frekvenciách 100 Hz a 1000 Hz a študovaných maximálnych indukciách 0.1T, 0.4T, 0.7T a 1.0T (Obr.8 a Obr.9).



**Obr.8.:** Hysterézne slučky kompakovaných práškových a kompozitných vzoriek pri frekvencii 100 Hz.



**Obr.9.:** Hysterézne slučky kompakovaných práškových a kompozitných vzoriek pri frekvencii 1000 Hz.



**Obr.10.:** Frekvenčná závislosť komplexnej permeability kompakovaných práškových a kompozitných vzoriek.

Z merania komplexnej permeability (Obr.10) vidieť, že žiháný kompakty má v oblasti frekvencií do približne 2.5 kHz vyššie hodnoty reálnej časti komplexnej permeability než nežíhaná vzorka. V prípade kompozitov má žihaná vzorka vyššie hodnoty než nežíhaná vzorka až do frekvencií rádovo

desiatok kilohertzov po ktorých majú obe vzorky podobný priebeh. Skutočnosť, že obe kompozitné vzorky majú vyššie hodnoty reálnej časti komplexnej permeability vzbudzuje domnienku, že elektroizolačná vrstva oxidu kremičitého by mohla poskytovať železným časticiam istú formu ochrany pred vznikom vnútorných napätí spôsobených aplikáciou tlaku počas lisovania.

## Záver

V tejto práci sme skúmali vplyv tepelnej úpravy žíhaním práškov pred lisovaním vzoriek na elektrickú rezistivitu, koerčitívne pole, remanentnú magnetickú indukciu, celkové energetické straty a komplexnú permeabilitu kompakovaných a kompozitných vzoriek na báze železa. Zistili sme, že žíhanie spôsobuje nárast remanentnej magnetickej indukcie a komplexnej permeability, pokles koerčitívneho poľa a celkových energetických strát aj kompakto aj kompozitov, pričom na kompozitoch je tento efekt výraznejší, čo môže byť spôsobené izolačnou vrstvou oxidu kremičitého, ktorá môže chrániť feromagnetické častice pred vznikom vnútorných napätí počas procesu lisovania.

## Pod'akovanie

Projekt bol financovaný v rámci programu ministra vedy a vysokého školstva pod názvom „Regionálna iniciatíva excelentnosti“ v rokoch 2019 – 2023, číslo projektu 020/RID/2018/19, výška financovania 12 000,00 PLN a v rámci projektu „FUCO“ financovaného Agentúrou na výskum a vývoj na základe zmluvy APVV-20-0072 a Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a SAV, projekt VEGA 1/0132/24.

## Literatúra

- [1] – SHOKROLLAHI, H. JANGHORBAN, K., 2007, Soft magnetic composite materials (SMCs). In: Journal of Materials Processing Technology, Vol. 189, p. 1-12.
- [2] – OUYANG, G., CHEN, X., LIANG, Y., MACZIEWSKI, CH., CUI, J., 2019, Review of Fe-6.5wt%Si high silicon steel – A promising soft magnetic material for sub-kHz application. In: Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Vol. 481, p. 234-250.
- [3] – FERRARIS, L., POŠKOVIĆ, E., FRANCHINI, F., 2016, New Soft Magnetic Composites for electromagnetic applications with improved mechanical properties. In: AIP Advances, Vol. 3, no. 5, 056209.
- [4] – CHIBA, M., URATA, A., MATSUMOTO, H., YOSHIDA, SH., MAKINO, A., 2011, Characteristics of Fe-Si-B-P-Cu Nanocrystalline Soft Magnetic Alloy Powders With High Bs. In: IEEE Transactions on Magnetics, Vol. 47, no. 10, p. 2845-2847
- [5] – AHMED, N., ATKINSON, G. J., 2022. A Review of Soft Magnetic Composite Materials and Applications. In: Proceedings of the 7th IEE Conference Electrical Machines and Drives, Valencia, Spain, 5-8 September 2022, p. 551-557.
- [6] – SUNDAY, K. T., TAHERI, M. L., 2017, Soft magnetic composites: recent advancements in the technology. In: Metal Powder Report, Vol. 72(6), p. 425-429.
- [7] – SLOVENSKÝ, P., KOLLÁR, P., MEI, N., JAKUBČIN, M., ZELENÁKOVÁ, A., HALAMA, M., WALLINDER, I. O., HEDBERG, Y. S., 2020, Mechanical surface smoothing of micron-sized iron powder for improved silica coating performance as soft magnetic composites, In: Applied Surface Science, Vol. 531, 147340
- [8] – CYR, CH., VIAROUGE, PH., CROS, J., CLÉNET. S., 2007, Resistivity measurements on soft magnetic composite materials. In: Przegląd Elektrotechniczny, p. 103-104.

## ARG/ORN AKO NOVÝ BIOMARKER VAZOSPAZMOV PO SUBARACHNOIDÁLNO M KRVÁCANÍ

*Arg/Orn as a new biomarker of vasospasm after subarachnoid hemorrhage*

Ester Tomajková

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta*

**Abstrakt:** Sucharanoidálne krvácanie (SAK) patrí medzi devastujúce náhle cievne mozgové príhody so stále vysokou morbiditou a mortalitou aj napriek rozvoju terapeutických intervenčných možností. SAK je spojený s rozvojom subklinických, ale aj klinicky manifestných vazospazmov, ktoré vedú k hypoxii a ďalšiemu poškodeniu mozgových funkcií. Diagnostika a farmaceutická profylaxia, resp. terapia sú v súčasnosti insuficientné a neexistuje žiaden laboratórny parameter, ktorý by bol reprezentatívny pre rozvoj vazospazmov. Navyše, presná patofyziológia vazospazmov nie je jasná. Predpokladá sa, že hodnota pomeru aminokyselín L-arginínu k L-ornitínu (Arg/Orn) v cerebrospinálnom likvore v prvých 72 hodinách od iniciálneho iktu je reprezentatívna a môže byť použitá ako biomarker a prediktor sekundárneho poškodenia mozgu, resp. vazospazmov.

**KLúčové slová:** *subarachnoidálne krvácanie, vazospazmy, likvor, biomarkery, pomer arginín-ornitín*

**Abstract:** Subarachnoid hemorrhage (SAH) is a sudden and devastating cerebrovascular accident that still has high morbidity and mortality rates, despite the development of therapeutic interventions. SAH is associated with the development of both subclinical and clinically manifest vasospasms, which can cause hypoxia and further impairment of brain functions. Currently, diagnostic and pharmaceutical prophylaxis or therapy options are insufficient, and no laboratory parameter can accurately represent the development of vasospasm. Additionally, the exact pathophysiology of vasospasm is not clear. It is assumed that the value of the ratio of amino acids L-arginine to L-ornithine (Arg/Orn) in the cerebrospinal fluid in the first 72 hours after the initial stroke is representative and can be used as a biomarker and predictor of secondary brain damage, respectively vasospasms.

**Keywords:** *subarachnoid hemorrhage, vasospasm, cerebrospinal fluid, biomarkers, arginin-ornithin rati on*

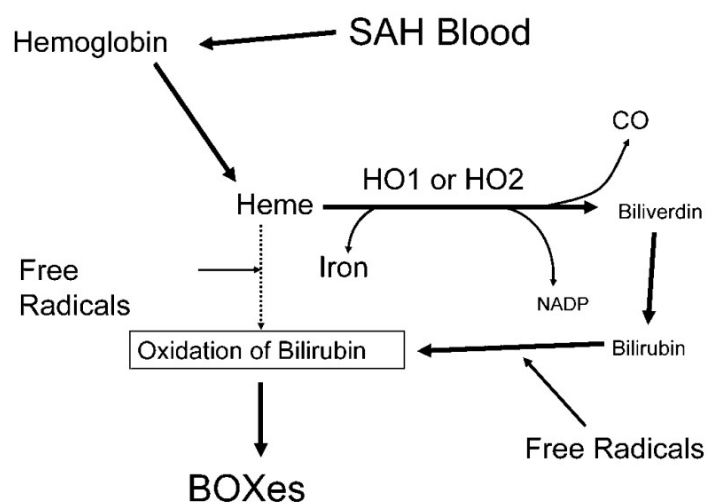
### Úvod

Subarachnoidálne krvácanie (SAK) je akútna cerebrovaskulárna porucha a je vo väčšine prípadov spôsobená ruptúrou aneuryzmy intrakraniálnej artérie. Hoci túto ruptúru je možné efektívne endovaskulárne alebo chirurgicky ošetriť, mortalita hospitalizovaných pacientov zostala nezmenená. Pacienti nie sú ohrození len samotným krvácaním a zvýšením intrakraniálneho tlaku, ale aj následnou ischemiou, ktorá vzniká na podklade arteriálnych vazospazmov. Tieto spazmy ciev mozgu vedú následne k hypoxii oblasti, ktorú zasobujú krvou, čo signifikantne zvyšuje morbiditu aj mortalitu pacientov. Tieto artériospa zmy sa vyskytujú najčastejšie v intervale 3-7 dní od vzniku SAK, avšak môžu sa vyskytnúť kedykoľvek až do 21 dní od iniciálneho poškodenia. Incidencia symptomatických vazospazmov je podľa Sozena a kol. na základe metaanalýzy súboru 23 806 pacientov až 28,5%, incidencia angiograficky diagnostikovaných vazospazmov v druhom týždni po iniciálnej ruptúre aneuryzmy bola až 67% (analýza 2 738 pacientov). Oficiálne odporúčania Americkej asociácie pre cievne mozgové príhody z roku 2023 identifikujú medzery v poznaní patofyziológie a potrebu štúdia nových biomarkerov vazospazmov na zlepšenie prežívania a kvality života pacientov, pretože v súčasnosti neexistuje žiaden preukázaný parameter, ktorý by plnil diagnostickú či prognostickú funkciu, resp. by mohol byť cieľovou molekulou pri terapii vazospazmov.

### Patofyziológia vazospazmov

V skorej (akékoľvek poškodenie mozgu, ktoré sa vyskytuje do 72 hodín od iniciálneho iktu (Kusaka et al; 2004)), ale aj v neskorej fáze poškodenia CNS po SAK sa v patofyziológii uplatňujú rôzne molekuly prítomné v tekutinách prítomných v mozgovom tkanive. Základnými sprostredkovateľmi

rozvoja skorého aj oneskoreného poškodenia sú 2 fyziologické mechanizmy, ktoré v intaktnom stave zabezpečujú správne metabolické a funkčné vlastnosti centrálného nervového systému (CNS): cerebrospinálny likvor (CSL) a glymfatický systém. Napriek mnohým výskumom, nie sú patofyziologické mechanizmy jasné a existuje viacero hypotéz o zapojení rôznych molekúl do rozvoja artériospazmov cerebrálnych ciev. Medzi jedny z najlepšie preskúmaných a najdlhšie rozpoznaných molekúl patrí hemoglobín a hemolytické produkty v CSL. Hemoglobín je tetramérny metaloproteín, ktorý má komplexne viazané železo  $Fe^{2+}$ . Dokázalo sa, že práve jeho oxygenovaná forma a degradačné produkty hemoglobínu, predovšetkým skupina metabolitov, resp. izomerov jeho intermediárneho metabolizmu, ktoré sa označujú ako koncové produkty oxidácie bilirubínu (BOXes, z ang. bilirubin oxidation end products) sa podieľajú na iritácii arteriálnej muskularity a vzniku vazospazmov (Joerk et al., 2019). Viacero autorov potvrdilo ich priamy vazokonstričný efekt na artérie, ako uvádza van Lieshout a kol. v roku 2018. Okrem iného, hemoglobín indukuje akútnu perikapilárnu kontrakciu pericytov. K metabolitom s obdobnými priamymi vazokonstričnými účinkami sa radia aj propentdopenty (PDPs), medziprodukty oxidačnej degradácie hemoglobínu na bilirubín, prekursori BOXes. BOXes aj PDPs majú kumulatívny vazokonstričný efekt a nachádzajú sa v nadbytku v likvore pacientov so SAK. Navyše, voľné železo sa podieľa pri vzniku oxidačného stresu (voľné radikály), podieľa sa priamo na vzniku mikrovazospazmov a jeho depozity v parenchýme mozgu sú asociované s kognitívnym úbytkom u prežívších pacientov. Tieto tvrdenia sú podložené aj viacerými štúdiami na zvieracích modeloch (Chen et al, 2022). Základnú schému patologického pôsobenia hemoglobínu a jeho degradačných produktov ilustruje obrázok 1.



**Obr.1** Predpokladaná cesta pôsobenia hemoglobínu a jeho metabolitov v patofyziológii vazospazmov (Pluta et al, 2009)

Endotelín-1, ako potentný vazokonstriktor, zohráva významnú úlohu vo vývoji cerebrálnych vazospazmov po SAK. Jeho efekt je sprostredkovaný 2 špecifickými receptormi pre endotelín typ A a typ B. Elevované koncentrácie endotelínu boli preukázané v likvore u pacientov po SAK, jeho syntézu zvyšuje v endotelálnych bunkách oxyhemoglobín a v astrocytoch hypoxia (Pluta et al., 2009). Aktivácia endotelínového receptora typu A exprimovaného na povrchu leiomyocytov vo vaskulárnej stene vedie k vazokonstrikcii, rovnaké charakteristiky má aj receptorový subtyp B2, avšak jeho účinok v patomechanizme vazospazmom nie je jasný. Naproti tomu efekt endotelínu cez svoj receptor typu B1, ktorý je exprimovaný na povrchu buniek endotelu je vazodilatácia. Viaceré výskumy na potkaních modeloch zamerané na úlohu receptora B2 sú nejednoznačné a ich výsledky protichodné (Ciurea et al., 2013). Na potvrdenie a manifestáciu klinického dopadu endotelínu-1 v klinickej praxi boli uskutočnené 3 veľké multicentrické klinické štúdie CONSCIOUS trials 1-3 (NCT00111085, NCT00558311 a NCT00940095) uskutočnené McDonaldom a kol. v rokoch 2005-2011, ktoré testovali antagonistu endotelínového receptora clazosentan v úlohe liečiva, resp. profylaxie rozvoja vazospazmov. Mortalita, neprijateľný neurologický stav aj riziko ďalších komplikácií však zostalo takmer nezmenené. Z toho dôvodu vazospazmy v cerebrálnych artériách

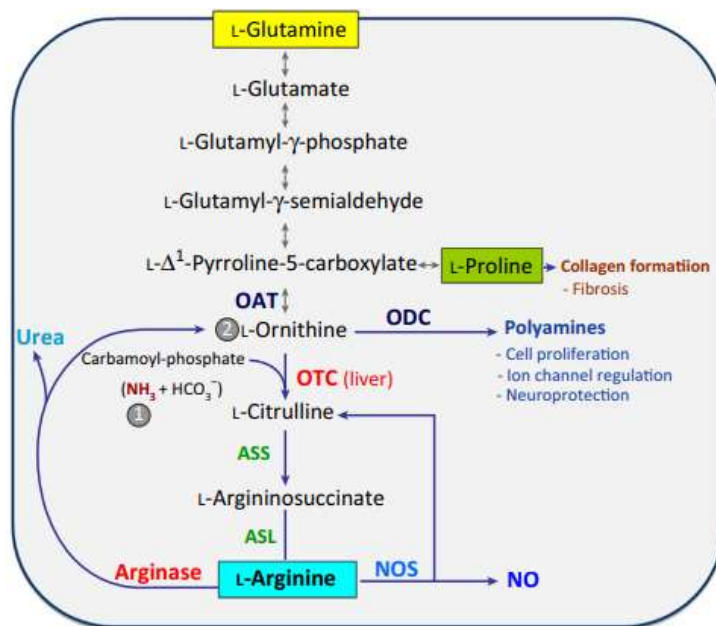


veľkého aj malého priesvitu, resp. v arteriolách nie sú mediované endotelínovými receptormi typu A (Chen et al., 2022).

Počas hypoxie mozgového tkaniva sa uvoľňuje hypoxiou indukovateľný faktor-1 $\alpha$  (HIF- 1 $\alpha$ , z ang. hypoxia-inducible factor- 1 $\alpha$ ). Ide o transkripčný faktor zahrnutý v rozličných biologických procesov vrátane energetického metabolizmu, angiogenézy, erytropoézy, bunkového prežívania a apoptózy. HIF- 1 $\alpha$  patrí medzi kľúčovú molekulu v patofyziologickej odpovedi na hypoxiu a oxidatívny stres. Navyše, ako transkripčný faktor reguluje vyše 40 rozličných génov, vrátane tých, ktoré kódujú vaskulárny endoteliálny rastový faktor (VEGF), erytropoetín a glukózový transportér-1. Okrem toho sa podieľa na epigenetických zmenách, ktoré následne recipročne na podklade spätnej väzby regulujú jeho aktivitu (Chen et al., 2022). HIF- 1 $\alpha$  pôsobí ako adaptatívny faktor, pričom existuje viacero dôkazov o jeho duálnej povahe v zmysle aktivácie cesty prežívania aj cesty bunkovej smrti, hoci to len v CNS za podmienok ischemickej cievnej mozgovej príhody alebo cerebrálneho krvácania (Ciurea et al., 2013). Táto jeho povaha vedie k testovaniu možných terapeutických látok ako s charakterom aktivátorov (deferoxamín), tak aj inhibítorov (2-metoxyestradiol) HIF- 1 $\alpha$  na zvieracích modeloch na oslabenie miery vazospazmov a prevencie vzniku nepriaznivého neurologického deficitu (Hu et al., 2022). Kľúčové, zdá sa byť, je načasovanie aktivácie, resp. inhibície. Aktivácia HIF- 1 $\alpha$  v skorom období po iniciálnom ikte môže pôsobiť škodlivo, zatiaľ čo jeho stimulácia v neskoršom štádiu po SAK môže pôsobiť neuroprotektívne. Existujú 2 známe cesty aktivácie HIF- 1 $\alpha$  vo vzťahu ku kyslíku, a to oxygén-dependentná a oxygén-independentná cesta. Hypoxia a stav oxidačno-redukčného systému sa považujú za posilňovače stabilizácie proteínovej štruktúry HIF- 1 $\alpha$ , pričom oxygén-independentné aktivátory ovplyvňujú len aktivitu HIF- 1 $\alpha$ , ale nemajú vplyv na stabilizáciu samotnej proteínovej štruktúry tohto faktora. Normoxia a niekoľko ďalších proteínových modifikátorov znižujú expresiu a aktivitu HIF- 1 $\alpha$ . (Chen et al., 2022).

## Úloha pomeru L-arginínu k L-ornitínu

Enzým argináza (EC 3.5.3.1) patrí medzi metaloenzýmy s obsahom mangánu, ktorý sa podieľa na hydrolytickom rozklade aminokyseliny L-arginín (Arg) na L-ornitín (Orn) a ureu, ktorý predstavuje koncovú reakciu v močovinom cykle. Existujú 2 izoformy arginázy: argináza-1, ktorá je predominantne exprimovaná v bunkách pečene (cytozolová izoforma), ale taktiež aj v cytoplazme erytrocytov a argináza-2, ktorá je mitochondriálny enzým primárne nachádzajúci sa v obličkách a prostate (Cadwell et al., 2015). L-arginín je semiesenciálna aminokyselina, ktorá je kľúčová aj v syntéze potentného endogénneho vazodilatátora oxidu dusnatého NO. NO syntéza prebieha v bunkách endotelu, je katalyzovaná izoenzýmom endoteliána NO syntetáza (eNOS). Kompetitívne sa teda Arg katabolizuje na Orn a ureu alebo na NO a ďalšiu aminokyselinu L-citrulín. Ornitín patrí medzi neproteinogénne aminokyseliny a pre človeka je dôležitý ako prekurzor proteinogénnej aminokyseliny prolín (kruciálny pre syntézu kolagénu) a taktiež aj iných polyamínov. Medzi spomínané polyamíny, ktoré vznikajú z ornitínu patria aj spermín a spermidín, ktorých medziprodukty oxidácie (aminoaldehy, akroleín, peroxid vodíka) pôsobia toxicky na mozog a retinu a podľa viacerých štúdií sa uplatňujú v patogenéze ischemického neuronálneho poškodenia (Cadwell et al., 2015). Vzájomne prepojené metabolické cesty arginínu sú prezentované na obrázku 2, kde skratka ASL predstavuje aminosukcinát-lyázu, ASS aminosukcinát-syntetáza, OAT predstavuje ornitín-aminotransferázu, ODC ornitín-dekarboxylázu a OTC ornitín-transkarbamylázu.



Obr. 2 Metabolické dráhy arginínu, ornitínu a citrulínu (Cadwell et al., 2015)

Ako Zimmerman a kolektív v roku 2022 zistili, enzým argináza-1 je uvoľňovaný z lyzovaných erytrocytov do subarachnoidálneho priestoru po SAK priamo do CSL. Pomer L-arginínu k L-ornitínu (Arg/Orn) je teda zavedený ako indirektný biomarker arginázovej aktivity pri systémových ochoreniach. Arg/Orn v CSL je znížený u pacientov so SAK a tento nízky pomer predikuje rozvoj vazospazmov a následne zlý výsledný neurologický stav na základe lokálnej deplécie NO a jeho účinku na cievy. Z vyššie uvedeného vyplýva, že samotné výsledné poškodenia mozgu pri SAK nemusí byť len na vrub lokálneho deficitu oxidu dusnatého, ale aj účinkom medziproduktov oxidácie polyamínov vznikajúcich z ornitínu. Predpokladá sa, že už hodnota Arg/Orn v likvore v prvých 72 hodinách od iniciálneho iktu je reprezentatívna a môže byť použitá ako biomarker a prediktor sekundárneho poškodenia mozgu (Zimmerman et al., 2022). V korelácii s ďalšími diagnostickými modalitami, ako klinický stav a zobrazovacie metódy, má Arg/Orn v CSL má vysoký prognostický význam na funkčný stav pacienta so SAK (Weller et al., 2023).

Oxid dusnatý patrí medzi kľúčové signálne molekuly, ktoré regulujú krvný tok a tkanivovú oxygenáciu. NO reguluje vaskulárny tonus aktiváciou solubilnej guanylátcyklázy v leiomyocytoch ciev a kontroluje mitochondriálnu spotrebu kyslíka inhibíciou cytochróm c oxidázy. Endogénny NO môže byť produkovaný enzymaticky aj nonenzymaticky v blízkosti vaskulatury. Enzymatická cesta spomenutá vyššie je katalyzovaná NOS za prítomnosti molekulového kyslíka a kofaktora nikotínamid-adenín-dinukleotidfosfát (NADPH). Doposiaľ boli identifikované 3 izoformy NOS: neuronálna (nNOS alebo NOS1), indukovateľná (iNOS alebo NO2; jej syntéza je kontrolovaná transkripciou jej génu a je exprimovaná bunkami imunitného systému ako odpoveď organizmu na prítomnosť zápalu alebo prozápalových mediátorov) a už spomínaná endoteliálna NOS (eNOS alebo NOS3, zapojené do neuronálnej signalizácie a modulácie synaptickej plasticity). Neuronálna a endoteliálna izoforma sú konštitučné enzýmy, ktorých aktivita je kontrolovaná dostupnosťou intracelulárneho komplexu Ca<sup>2+</sup>-kalmodulín. Uvádza sa, že významnú úlohu v regulácii krvného prietoku má práve eNOS (Chen, Pittman a Popel, 2008). Okrem spomínaných kofaktorov sú pre eNOS dôležité aj nasledujúce kofaktory ako tetrahydrobiopterín a hem v N-terminálnom konci eNOS a flavín-adenín dinukleotid, flavínmononukleotid spolu s NADPH na C-terminálnom konci. eNOS je lokalizovaná na cytoplazmatickej membráne. NO produkovaný eNOS reguluje vaskulárny tonus relaxáciou hladnej svaloviny krvnej steny aktiváciou solubilnej guanylát-cyklázy, čo vedie k vzniku cyklického guanozínmonofosfátu (cGMP) a následným efluxom káliových kationov, čím sa zvyšuje prietok a súčasne pôsobí v prevencii adhézie leukocytov a agregácie trombocytov na stenu ciev. (Cadwell et al., 2015). NO priamo reaguje aj so superoxidovým radikálom •O<sub>2</sub><sup>-</sup>, pričom vzniká

peroxinitrit ONOO- ako potentný oxidant, pričom táto reakcia prebieha rýchlejšie ako väzba NO na solubilnú guanylát-cyklázu a rýchlejšie aj ako väzba •O<sub>2</sub>- na enzým superoxid-dismutáza, čo vedie k redukcii koncentrácie NO a ďalšiemu zvýšeniu oxidačného stresu, čoho následkom je vaskulárna a endoteliálna dysfunkcia (Pacher, Beckman a Liaudet, 2007).

## Záver

Vzhľadom na zlepšenie diagnostiky a liečby došlo k zlepšeniu prežívania pacientov trpiacich SAK (v zmysle zníženia skorej mortality, t.j. v prednemocničnej starostlivosti, resp. pred stanovením diagnózy) a zistilo sa, že pacienti sú ohrození na živote aj v neskoršej fáze ochorenia v dôsledku rozvoja sekundárnych konzekvencií SAK, a to konkrétne rozvojom vazospazmov cerebrálnych artérií a oneskorenej cerebrálnej ischémie. V súčasnosti existujú široké možnosti biochemickej analýzy biologického materiálu, na základe ktorých boli detekované rozličné molekuly, o ktorých sa predpokladá, že by mohli plniť úlohu predikčných, diagnostických či prognostických biomarkerov rozvoja cerebrálnych vazospazmov v kontexte SAK. Metaanalýza uskutočnená kolektívom autorov pod vedením Chena v roku 2022 pojednáva až o 57 molekulách detekovaných v telesných tekutinách (krv, sérum, CSL), ktoré môžu zohrávať úlohu v patofyziológii a diagnostike vzniku vazospazmov, avšak nie sú dostatočné a jednoznačné údaje o ich význame. Doposiaľ však neexistuje žiaden spoľahlivý laboratórny biomarker, ktorý by bol štandardne využívaný v diagnostike cerebrálnych vazospazmov v spojitosti so SAK, resp. ani nie je v literatúre známy žiaden biomarker s predikčnou hodnotou pre rozvoj vazospazmov. Obdobne je to aj s prognostickými biomarkermi vo vzťahu k rozvoju vazospazmov. Práve správne rozpoznanie biomarkerov, ich dynamika a patofyziológia sú kľúčom k objaveniu terapeuticky zaujímavých efektorových molekúl. Spomínanú úlohu vhodného biomarkera podľa dostupnej literatúry predstavuje práve pomer aminokyselín L-arginínu k L-ornitínu, ktorý odzrkadľuje stav metabolizmu v CNS a nepriamo nám poskytuje informácie o dostupnosti NO ako účinného vazodilatátora pre cerebrálne artérie. Všetky informácie a sľubné výsledky analýzy likvoru so zameraním na význam Arg/Orn boli uskutočnené na zvieracích modeloch a je nevyhnutné, aby pokračovali observačné štúdie aj u pacientoch so SAK.

## Literatúra

CALDWELL, Ruth B., Haroldo A. TOQUE, S. Priya NARAYANAN et al., 2015. Arginase: an old enzyme with new tricks. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. 2015, roč. 36, č. 6, s. 395–405. ISSN 01656147. Dostupné na: doi:[10.1016/j.tips.2015.03.006](https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.03.006)

CIUREA, A. V. et al., 2013. Subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm - literature review. *Journal of Medicine and Life*. 2013, roč. 6, č. 2, s. 120–125. ISSN 1844-3117.

HOH, Brian L et al., 2023. 2023 Guideline for the Management of Patients With Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* [online]. 2023, roč. 54, č. 7 [cit. 28.3.2024]. ISSN 0039-2499, 1524-4628. Dostupné na: doi:[10.1161/STR.0000000000000436](https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000436)

HU, Qiang, Quan DU, Wenhua YU et al., 2022. 2-Methoxyestradiol Alleviates Neuroinflammation and Brain Edema in Early Brain Injury After Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience* [online]. 2022, roč. 16, s. 869546. ISSN 1662-5102. Dostupné na: doi:[10.3389/fncel.2022.869546](https://doi.org/10.3389/fncel.2022.869546)

CHEN, Kejing, Roland N. PITTMAN a Aleksander S. POPEL, 2008. Nitric Oxide in the Vasculature: Where Does It Come From and Where Does It Go? A Quantitative Perspective. *Antioxidants & Redox Signaling* [online]. 2008, roč. 10, č. 7, s. 1185–1198. ISSN 1523-0864, 1557-7716. Dostupné na: doi:[10.1089/ars.2007.1959](https://doi.org/10.1089/ars.2007.1959)

CHEN, Yujie, Ian GALEA, R. Loch MACDONALD et al., 2022. Rethinking the initial changes in subarachnoid haemorrhage: Focusing on real-time metabolism during early brain injury. *eBioMedicine* [online]. 2022, roč. 83, s. 104223. ISSN 23523964. Dostupné na: doi:[10.1016/j.ebiom.2022.104223](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104223)

JOERK, Alexander, Marcel RITTER, Niklas LANGGUTH et al., 2019. Propentdyopents as Heme Degradation Intermediates Constrict Mouse Cerebral Arterioles and Are Present in the Cerebrospinal Fluid of Patients With Subarachnoid Hemorrhage. *Circulation Research* [online]. 2019, roč. 124, č. 12 [cit. 28.3.2024]. ISSN 0009-7330, 1524-4571. Dostupné na: doi:[10.1161/CIRCRESAHA.118.314160](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.314160)

KUSAKA, Gen, Mami ISHIKAWA, Anil NANDA et al., 2004. Signaling Pathways for Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* [online]. 2004, roč. 24, č. 8, s. 916–925. ISSN 0271-678X, 1559-7016. Dostupné na: doi:[10.1097/01.WCB.0000125886.48838.7E](https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000125886.48838.7E)

MACDONALD, R Loch, Randall T HIGASHIDA, Emanuela KELLER, et al., 2011. Clazosentan, an endothelin receptor antagonist, in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage undergoing surgical clipping: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial (CONSCIOUS-2). *The Lancet Neurology* [online]. 2011, roč. 10, č. 7, s. 618–625. ISSN 14744422. Dostupné na: doi:[10.1016/S1474-4422\(11\)70108-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70108-9)

MACDONALD, R. Loch, Randall T. HIGASHIDA, Emanuela KELLER et al., 2012. Randomized Trial of Clazosentan in Patients With Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage Undergoing Endovascular Coiling. *Stroke* [online]. 2012, roč. 43, č. 6, s. 1463–1469. ISSN 0039-2499, 1524-4628. Dostupné na: doi:[10.1161/STROKEAHA.111.648980](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.648980)

MACDONALD, R. Loch, Neal F. KASSELL, Stephan MAYER et al., 2008. Clazosentan to Overcome Neurological Ischemia and Infarction Occurring After Subarachnoid Hemorrhage (CONSCIOUS-1): Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 2 Dose-Finding Trial. *Stroke* [online]. 2008, roč. 39, č. 11, s. 3015–3021. ISSN 0039-2499, 1524-4628. Dostupné na: doi:[10.1161/STROKEAHA.108.519942](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.519942)

PACHER, Pál, Joseph S. BECKMAN a Lucas LIAUDET, 2007. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiological Reviews* [online]. 2007, roč. 87, č. 1, s. 315–424. ISSN 0031-9333, 1522-1210. Dostupné na: doi:[10.1152/physrev.00029.2006](https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006)

PLUTA, Ryszard M., Jacob HANSEN-SCHWARTZ, Jens DREIER et al., 2009. Cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage: time for a new world of thought. *Neurological Research* [online]. 2009, roč. 31, č. 2, s. 151–158. ISSN 0161-6412, 1743-1328. Dostupné na: doi:[10.1179/174313209X393564](https://doi.org/10.1179/174313209X393564)

SOZEN, Takumi, Reiko TSUCHIYAMA, Yu HASEGAWA et al., 2011. A Clinical Review of Cerebral Vasospasm and Delayed Ischaemia Following Aneurysm Rupture. V: Hua FENG, Ying MAO a John H. ZHANG, ed. *Early Brain Injury or Cerebral Vasospasm* [online]. Vienna: Springer Vienna, s. 5–6 [cit. 2.4.2024]. ISBN 978-3-7091-0352-4. Dostupné na: doi:[10.1007/978-3-7091-0353-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0353-1_1)

THE PARTICIPANTS IN THE INTERNATIONAL MULTI-DISCIPLINARY CONSENSUS CONFERENCE ON THE CRITICAL CARE MANAGEMENT OF SUBARACHNOID HEMORRHAGE a Mervyn D. I. VERGOUWEN, 2011. Vasospasm Versus Delayed Cerebral Ischemia as an Outcome Event in Clinical Trials and Observational Studies. *Neurocritical Care*

[online]. 2011, roč. 15, č. 2, s. 308–311. ISSN 1541-6933, 1556-0961. Dostupné na: doi:[10.1007/s12028-011-9586-8](https://doi.org/10.1007/s12028-011-9586-8)

VAN LIESHOUT, Jasper H., Maxine DIBUÉ-ADJEI, Jan F. CORNELIUS et al., 2018. An introduction to the pathophysiology of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgical Review* [online]. 2018, roč. 41, č. 4, s. 917–930. ISSN 0344-5607, 1437-2320. Dostupné na: doi:[10.1007/s10143-017-0827-y](https://doi.org/10.1007/s10143-017-0827-y)

WELLER, Johannes, Tim LAMPMANN, Harun ASOGLU et al., 2023. Additive prognostic impact of the cerebrospinal fluid arginine/ornithine ratio to established clinical scores in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Frontiers in Neurology* [online]. 2023, roč. 14, s. 1156505. ISSN 1664-2295. Dostupné na: doi:[10.3389/fneur.2023.1156505](https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1156505)

ZIMMERMANN, Julian, Johannes WELLER, Sven GRUB et al., 2022. Arginase-1 Released into CSF After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage Decreases Arginine/Ornithine Ratio: a Novel Prognostic Biomarker. *Translational Stroke Research* [online]. 2022, roč. 13, č. 3, s. 382–390. ISSN 1868-4483, 1868-601X. Dostupné na: doi:[10.1007/s12975-021-00944-y](https://doi.org/10.1007/s12975-021-00944-y)

# STABILITA RADIKÁLU V KATALYTICKOM CENTRE FERYLOVEJ FORMY TYPU P CYTOCHRÓM C OXIDÁZY

*Stability of the radical in the catalytic center of P-type ferryl intermediate of cytochrome c oxidase*

Adriána Tomková<sup>1</sup>, Daniel Jancura<sup>1</sup>, Marián Fabián<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

<sup>2</sup>Centrum Interdisciplinárnych biovied, Technologický a inovačný park, UPJŠ

**Abstrakt:** Respiračná cytochróm c oxidáza (CcO) katalyzuje redukciu molekulárneho dikyslíka na vodu pomocou elektrónov dodávaných ferocytochrómom *c*. Štyri elektróny, potrebné pre úplnú redukciu O<sub>2</sub> na H<sub>2</sub>O, sa postupne prenášajú z cytochrómu *c* cez štyri redoxné centrá: Cu<sub>A</sub>, hém *a*, hém *a*<sub>3</sub> a Cu<sub>B</sub>. Cu<sub>A</sub> je prvým akceptorom elektrónov z cytochrómu *c*. Tok elektrónov potom pokračuje na hém *a* a nakoniec do katalytického centra hém *a*<sub>3</sub>-Cu<sub>B</sub>. V tomto hém *a*<sub>3</sub>-Cu<sub>B</sub> centre dochádza k redukcii dikyslíka. Redukcia O<sub>2</sub> prebieha cez sekvenciu niekoľkých oxy-medziproduktov. Tieto intermediáty sú definované počtom elektrónov a protónov dodaných do katalytického centra [Wikström a kol., 2018]. V jednom z nich, ktorý bol pripravený reakciou dvojelektrónovo redukovanej CcO s O<sub>2</sub>, sa v katalytickom centre generuje voľný radikál. V tomto stave je železo hému *a*<sub>3</sub> vo ferylovom stave a Tyr244 (číslovanie podľa hovädzej CcO), nachádzajúci sa v blízkosti centra, je veľmi pravdepodobne oxidovaný na neutrálny radikál [Fea<sub>3</sub><sup>4+</sup>=O Cu<sub>B</sub><sup>2+</sup> YO\*]. Z historických dôvodov sa tento ferylový intermediát označuje ako **P<sub>M</sub>** stav. Avšak, niekoľko zverejnených štúdií naznačuje, že tento radikál migruje na veľké vzdialenosti od katalytického centra CcO. Výsledkom tejto migrácie je oxidačné poškodenie enzýmu. Napriek dôležitosti tohto radikálu pri katalýze respiračných oxidáz, životnosť tohto radikálu doposiaľ nie je stanovená [Musatov, 2012; Lemma-Gray, 2007]. Na zodpovedanie tejto otázky sme vyvinuli protokol na odhad jeho životnosti vo forme **P<sub>M</sub>**. Táto metóda je založená na jednoelektrónovej redukcii **P<sub>M</sub>** formy. V prípade, že je radikál prítomný, produkt tejto redukcie je spektrálne odlišná druhá ferylová forma (typ **F**). Ak však radikál už migroval z katalytického centra, potom redukcia tohto intermediátu vedie k tvorbe úplne oxidovanej CcO. Preto, ak je táto jednoelektrónová redukcia vykonaná v rôznych časoch po vzniku **P<sub>M</sub>**, vygenerovaná frakcia formy **F** predstavuje populáciu, v ktorej je radikál stále prítomný. Tento druh meraní bol vykonaný na purifikovanej CcO pri pH 8.0 a pri teplotách 10 a 20 °C. Pri oboch teplotách dochádza k strate radikálu z katalytického centra v časovom rozsahu minút. Časová konštanta migrácie sa zvyšuje s nárastom teploty z 15 minút pri 10 °C na 7 minút pri 20 °C. Údaje tiež naznačujú, že pri 37 °C by mala byť časová konštanta asi 100 sekúnd. Táto relatívne dlhá životnosť naznačuje, že za fyziologických podmienok je veľmi nepravdepodobné, že by radikál unikol z tohto katalytického centra. Môže sa to stať iba v prípade, že je veľmi obmedzený prístup vonkajších donorov elektrónov.

**Keľúčové slová:** cytochróm c oxidáza, ferylový intermediát, tyrozínový radikál, jednoelektrónová redukcia, doba života

**Abstract:** Respiratory cytochrome c oxidase (CcO) catalyzes the reduction of molecular dioxygen to water by electrons supplied by ferrocycyochrome *c*. Four electrons, required for the full reduction of O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>O, are transferred sequentially from cytochrome *c* via four redox centers, copper Cu<sub>A</sub>, heme *a*, heme *a*<sub>3</sub> and Cu<sub>B</sub>. Cu<sub>A</sub> is the first electron acceptor from cytochrome *c*. The electron flow then continues in CcO to heme *a* and finally to the catalytic heme *a*<sub>3</sub>-Cu<sub>B</sub> center. At this heme *a*<sub>3</sub>-Cu<sub>B</sub> center the reduction of dioxygen takes place. Reduction of O<sub>2</sub> proceeds through a sequence of several oxy intermediates of the heme *a*<sub>3</sub>-Cu<sub>B</sub> center. These intermediates are determined by the number of electrons and protons delivered into the catalytic center [Wikström a kol, 2018]. In one of them, produced by the reaction of two-electron reduced CcO with O<sub>2</sub>, the free radical at the catalytic center is also formed. In this state, the iron of heme *a*<sub>3</sub> is in the ferryl state and very likely Tyr244 (bovine CcO numbering), located in the proximity of the center, is oxidized to a neutral radical [Fea<sub>3</sub><sup>4+</sup>=O Cu<sub>B</sub><sup>2+</sup> YO\*]. For historical reasons, this ferryl intermediate is called **P<sub>M</sub>** state. However, several

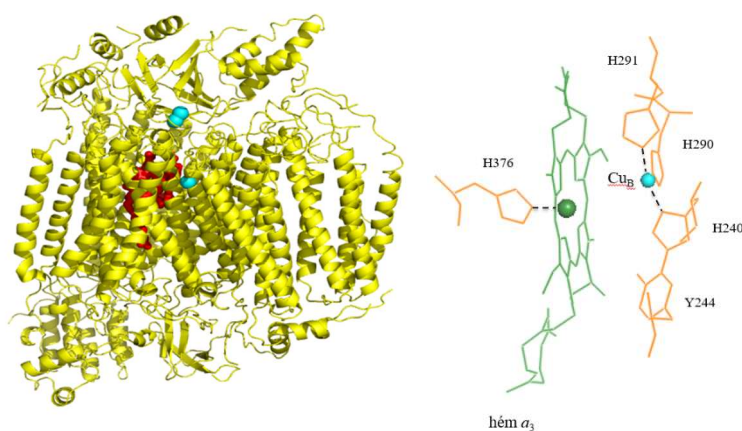
published studies indicated that this radical migrates the large distances from the catalytic center of CcO. The Result of this migration is oxidative damage of the enzyme. In spite of importance of this radical in catalysis of respiratory oxidases the lifetime of this radical has not been established [Musatov, 2012; Lemma-Gray, 2007]. To answer this question, we have developed a protocol to estimate its lifetime in the  $P_M$  form. This method is based on one-electron reduction of the  $P_M$  form. In case that radical is present, the product of this reduction is spectrally different second ferryl form ( $F$  type). However, if the radical already migrated from the catalytic center, then reduction of this intermediate results in the formation of fully oxidized CcO. Consequently, if this one-electron reduction is performed at different times after the formation of the  $P_M$  the generated fraction of the  $F$  form represents population in which the radical is still present. This kind of measurements have been performed on purified bovine CcO at pH 8.0 and at 10 and 20 °C. At both temperatures, the loss of the radical from the catalytic center occurs on time scale of minutes. The time constant of migration increases with the rise of the temperature from 15 minutes at 10 °C to 7 minutes at 20 °C. Data also indicated that at 37 °C, the time constant should be about 100 seconds. This relatively long lifetime indicates that under physiological turnover conditions, the escape of the radical from this catalytic center is very unlikely. It can only occur if there is a very limited access of external electron donors.

**Keywords:** cytochrome *c* oxidase, ferryl intermediate, tyrosine radical, one-electron reduction, lifetime

## Úvod

Respiračná cytochróm *c* oxidáza (CcO), patriaca do superodiny hém-meďnatých oxidoreduktáz, je proteín nachádzajúci sa vo vnútornej mitochondriálnej membráne. CcO je tvorená 13-timi podjednotkami a je súčasťou dýchacieho reťazca ako komplex IV. Cytochróm *c* oxidáza katalyzuje redukciiu molekulového kyslíka na vodu štyrmi elektrónmi dodávanými ferocytochrómom *c* a premieňa uvoľnenú energiu na elektrochemický protónový gradient ( $\Delta\mu H^+$ ), ktorý sa následne využíva na syntézu ATP.

Elektróny, potrebné na úplnú redukciiu  $O_2$  na  $H_2O$ , sú postupne prenášané z cytochrómu *c* prostredníctvom štyroch redoxných centier, ktoré sa označujú ako  $Cu_A$ , hém *a*, hém  $a_3$  a  $Cu_B$  (Sousa a kol., 2012). Primárnym akceptorom elektrónov z cytochrómu *c* je  $Cu_A$  centrum. Následne sú elektróny prenášané na hém *a* a odtiaľ pokračuje tok elektrónov až do katalytického binukleárneho centra enzýmu (BNC), ktoré pozostáva z hému  $a_3$  a  $Cu_B$ , kde dochádza k naviazaniu  $O_2$  a jeho redukcii na vodu. Katalytické centrum je zároveň miestom, kde sa viažu aj inhibítory dýchania, napríklad  $CN^-$ , CO.  $Cu_B$  centrum je koordinované tromi histidínovými ligandami, pričom jeden z týchto histidínových ligandov vytvára aj nezvyčajnú kovalentnú väzbu s Tyr244 (číslovanie podľa hovädzej CcO) (Obr. 1).



Obr. 1 Štruktúra hovädzej cytochróm *c* oxidázy a jej katalytického hém  $a_3$ - $Cu_B$  centra. Pohľad na štruktúru paralelne s vnútorou mitochondriálnou membránou. Vľavo: subjednotky CcO sú zvýraznené žltou farbou, hémy červenou a ióny medi modrou farbou (PDB ID: 2OCC).

Pri redukcii  $O_2$  na vodu oxidázou je pozorovaných niekoľko intermediátov, ktoré sú určené počtom elektrónov a protónov dodaných do katalytického centra (Wikström, 2018; Rich, 2017). Z týchto

intermediátov sa na translokácii protónov veľmi pravdepodobne podieľajú dva typy ferylových stavov BNC, ktoré sa označujú ako **P** (**P<sub>M</sub>**, **P<sub>R</sub>**) a **F**.

Ferylová forma **P<sub>M</sub>** vzniká reakciou dvojelektrónovo redukovanej CcO s O<sub>2</sub>. Elektrónová štruktúra binukleárneho centra **P<sub>M</sub>** stavu teda obsahuje železo hému a<sub>3</sub> vo ferylovom stave a tiež neutrálny tyrozínový radikál [Fea<sub>3</sub><sup>4+</sup>=O Cu<sub>B</sub><sup>2+</sup> YO<sup>\*</sup>]. Prijatím ďalšieho tretieho elektrónu z cytochrómu *c*, ako aj protónu z mitochondriálneho matrixu, dochádza k premene **P<sub>M</sub>** intermediátu na **F** intermediát (Fea<sub>3</sub><sup>4+</sup>=O Cu<sub>B</sub><sup>2+</sup> YO<sup>-</sup>), v ktorom je tyrozínový radikál zhasaný za vzniku tyrozinátu (Wikström a kol., 2023). Katalytický cyklus končí jedoelektrónovou redukciou **F** formy pričom sa regeneruje oxidovaný stav enzýmu (**O**).

Predchádzajúce práce ukázali, že radikál na Tyr244, ktorý vzniká počas CcO katalýzy v **P<sub>M</sub>** stave, nie je stabilný. Bolo zistené, že radikál z katalytického centra migruje na veľké vzdialenosti, čo vedie k oxidatívne mu poškodeniu enzýmu (práce Musatova). Navyše niektoré modely protónového pumpovania prisudzujú vzniku a redukcii radikálu kľúčovú úlohu v tomto procese (Sharpe, M. A., 2008). Napriek dôležitosti radikálu v katalýze CcO je doposiaľ doba jeho života neurčená. Cieľom tejto práce je určenie stability, teda doby života radikálu vo ferylovej **P<sub>M</sub>** forme, a tak oceniť jeho možnú účasť ako na oxidatívnom poškodení, tak aj v procese pumpovania protónov.

## Materiál a metódy

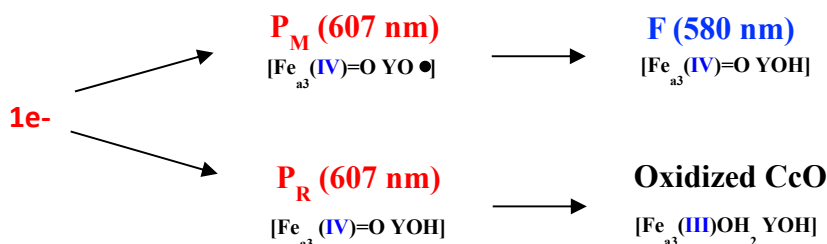
Hovädzia cytochróm *c* oxidáza (CcO) bola izolovaná z mitochondrií hovädzích srdiec podľa modifikovanej metódy (Soulimane, 1995) v 10 mM Tris, 250 mM sacharóza, 50 mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1 % dodecyl maltozide, pH 7.6. Purifikovaný enzým bol zmrazený v tekutom dusíku a uskladnený pri -80 °C. Pre úplnú oxidáciu enzýmu bola CcO inkubovaná s 10 mM ferikyanidom draselným počas 10 minút pri teplote 5 °C. Nenaviazaný ferikyanid draselný bol z roztoku odstránený prostredníctvom odsol'ovacej PD-10 kolóny. Na premývanie kolóny bol použitý 2 mM fosfátový tlmivý roztok (KPi), 250 mM sacharóza, 50 mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1 % dodecyl maltozide, pH 8. Koncentrácia pripravenej oxidovanej CcO bola určená z UV-Vis absorpčného spektra oxidovaného enzýmu pomocou extinkčného koeficientu  $\epsilon(424\text{nm}) = 156 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (Liao, 1996).

**P<sub>M</sub>** forma bola pripravená reakciou oxidovaného enzýmu (**O**) s oxidom uhoľnatým (CO) a O<sub>2</sub>, čo je metóda pôvodne zavedená Nichollsom a Chanadym (Nicholls, Chanady, 1981). Táto reakcia, aj všetky ďalšie kroky týkajúce sa prípravy **P<sub>M</sub>** boli realizované v ľadovom kúpeli pri pH 8, aby sa spomalil spontánny rozpad tohto intermediátu. Po 12-minútovej inkubácii bol CO z roztoku odstránený výmenou atmosféry za argón. **P<sub>M</sub>** forma bola následne zriedená v 50 mM KPi, 0,1% dodecyl maltozide, pH 8 ku ktorému bola pridaná kataláza (0,2 μM), SOD (46 U/ml), cyt *c* (14 μM) a FeCl<sub>3</sub> (10 μM). Na redukcii **P<sub>M</sub>** formy bol ako donor elektrónov použitý ferocén metanol (Fe<sup>2+</sup>).

Pripravená **P<sub>M</sub>** forma v roztoku, v ktorom nie je dostupný externý donor elektrónov, prejavuje značnú stabilitu, čo dovoľuje jej skúmanie aj pomalými kinetickými metódami. Keďže ale v BNC **P<sub>M</sub>** formy sú vytvorené dve centrá s redox. potenciálom okolo +1V, ato ferylové železo (Fe<sub>(IV)</sub>=O) a tyrozínový radikál (YO<sup>\*</sup>), dochádza k spontánnej autooxidácii enzýmu a redukcii týchto centier. Spontánna redukcia týchto dvoch centier v **P<sub>M</sub>** prebieha ale rôznou rýchlosťou (Tereza a kol. 2021). Ako prvý sa redukuje radikál, pričom vzniká druhá ferylová forma typu **P**, označovaná ako **P<sub>R</sub>**. Obe sú označované ako ferylové formy typu **P**, pretože majú identické optické spektrá. Výsledkom je teda spontánny prechod katalytického centra zo stavu **P<sub>M</sub>** ([Fe<sub>(IV)</sub>=O YO<sup>\*</sup>]) do ferylového stavu **P<sub>R</sub>** ([Fe<sub>(IV)</sub>=O YO<sup>H</sup>]). To znamená, že rýchlosť premeny **P<sub>M</sub>** na **P<sub>R</sub>** reprezentuje rýchlosť straty radikálu z katalytického centra, čiže predstavuje dobu života radikálu. Aby sme teda mohli určiť túto dobu života, bolo nutné určiť kinetiku spontánnej premeny **P<sub>M</sub>** na **P<sub>R</sub>**, teda získať závislosť koncentrácie **P<sub>M</sub>** od času (čas starnutia vzorky), ktorý uplynie po jej príprave.

Hoci majú **P<sub>M</sub>** a **P<sub>R</sub>** identické optické spektrá, tieto dve ferylové formy je možné odlíšiť jedoelektrónovou redukcii ako ukazuje nasledujúca schéma:





Obr. 2 Jednoelektrónová redukcia P intermediátov

Ako vidieť z tejto schémy, ak máme zmes  $\mathbf{P}_M$  a  $\mathbf{P}_R$  foriem vo vzorke, potom 1-elektrónová redukcia  $\mathbf{P}_M$  vedie ku ferylovej forme  $\mathbf{F}$ , ale redukcia  $\mathbf{P}_R$  vytvára oxidovaný enzým ( $\mathbf{O}$ ). Množstvo vzniknutej  $\mathbf{F}$  formy, čo je rovnaké ako množstvo  $\mathbf{P}_M$ , predstavuje potom populáciu, ktorá obsahuje radikál v danom čase po príprave. Týmto redukčným spôsobom sme určili závislosť koncentrácie  $[\mathbf{P}_M]$  od času jej starnutia. Kvôli upresneniu je nutné uviesť, že kvôli spontánnej autooxidácii, každá príprava  $\mathbf{P}_M$  vzorky v ľadovom kúpeli, ktorá trvá cca 20 min, vedie vždy ku zmesi  $\mathbf{P}_M$  a  $\mathbf{P}_R$  foriem. Túto zmes nazývame v texte ako  $\mathbf{P}_M$  vzorka alebo ako  $\mathbf{P}$  formy.

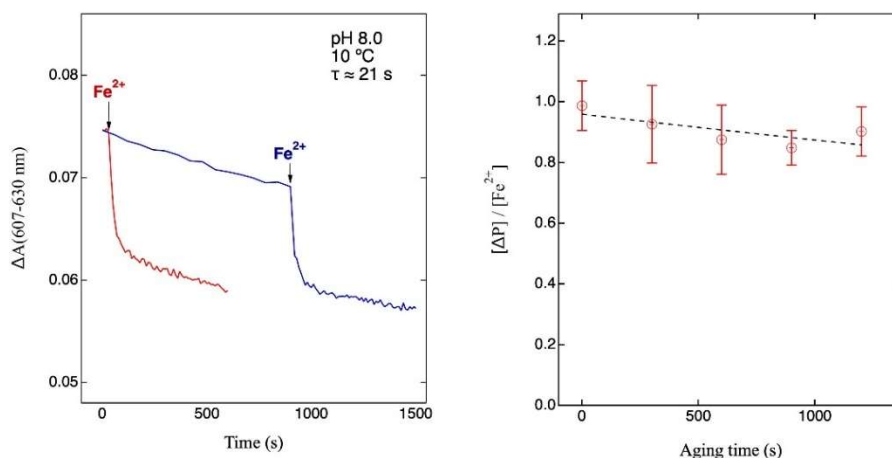
Redukcia jedným elektrónom bola dosiahnutá reakciou 50  $\mu\text{M}$  enzýmu v stave  $\mathbf{P}$  s 10  $\mu\text{M}$  ferocén metanolom. Redukcia bola iniciovaná v rôznych časoch starnutia vzorky pri teplote 10 a 20  $^\circ\text{C}$  a pH 8. Kinetiky a aj spektrálne zmeny spôsobené redukciami  $\mathbf{P}$  foriem boli registrované akumuláciou UV-Vis spektier (Specord S-600) medzi 400-700 nm každých 10 s po dobu 12 minút. Z akumulovaných spektier bola vytvorená kinetika  $\Delta A(607-630 \text{ nm})$ , ktorá charakterizuje stratu  $\mathbf{P}$  foriem v čase. Celková strata  $\mathbf{P}$  foriem v dôsledku redukcie bola vypočítaná použitím extinkčného koeficientu  $\Delta\epsilon(607-630 \text{ nm}) = 11 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (Wikström, 1992).

Množstvo ferylového intermediátu  $\mathbf{F}$  bolo vypočítané z rozdielového spektra v čase 50 s po pridaní  $\text{Fe}^{2+}$  mínus spektrum tesne pred jeho pridaním. Keďže toto rozdielové spektrum predstavuje stratu  $\mathbf{P}$  a vznik  $\mathbf{F}$  intermediátu, od tohto spektra bolo odpočítané spektrum čistej populácie  $\mathbf{P}$  ( $\mathbf{O}-\mathbf{P}$ ), čím sme získali spektrum ferylovej formy  $\mathbf{F}$ . Z tohto  $\mathbf{F}-\mathbf{O}$  spektra bola vypočítaná koncentrácia  $[\mathbf{F}]$  s použitím extinkčného koeficientu  $\Delta\epsilon(580-630\text{nm}) = 5.3 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (Wikström, 1992).

## Výsledky a diskusia

### Redukcia $\mathbf{P}_M$ vzorky

Redukcia populácie  $\mathbf{P}$  intermediátov jedným elektrónom bola dosiahnutá substechiometrickým množstvom pridaného ferocén metanolu ako externého donoru elektrónov. Ako mediátor bol použitý oxidovaný cytochróm *c*. Ferocén metanol ( $\text{Fe}^{2+}$ ) bol do vzorky injektovaný v rôznych časoch po vytvorení  $\mathbf{P}_M$  vzorky (Obr. 3, vľavo).



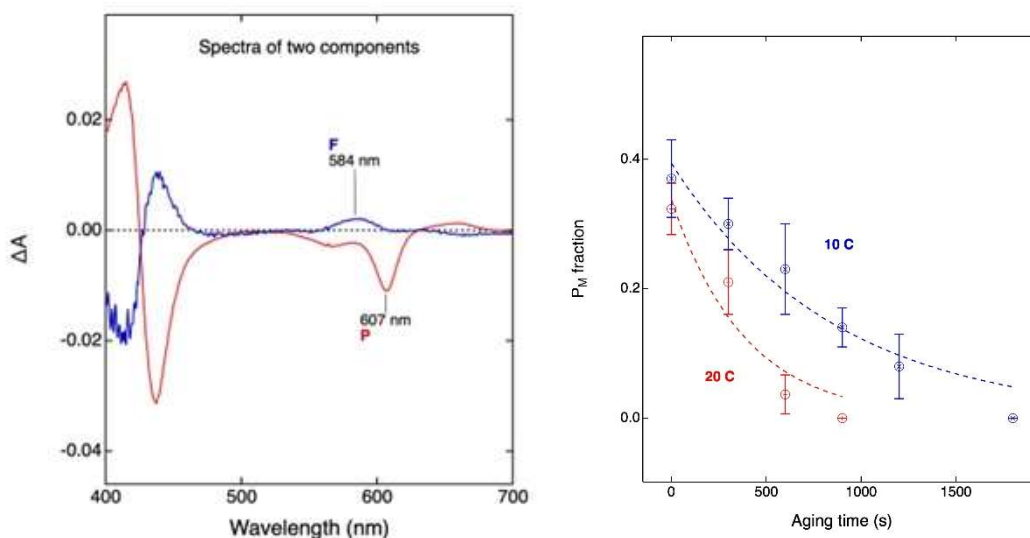
Obr. 3 (Vľavo) Kinetika redukcie P intermediátov po pridaní 10  $\mu\text{M}$  ferocén metanolu ( $\text{Fe}^{2+}$ ) v čase 0 minút (červená krivka) a 15 minút po príprave (modrá krivka). B) pri teplote 10  $^\circ\text{C}$  a pH 8. (Vpravo) Závislosť frakcie redukovaných P foriem na 1 dodaný elektrón v rôznych časoch starnutia vzorky pri teplote 10  $^\circ\text{C}$ , pH 8.

Vybraná dvojica vlnových dĺžok,  $\Delta A(607-630)$ , registruje selektívne iba zmeny v koncentrácii **P** foriem. Zo závislosti  $\Delta A(607-630)$  od času vidieť, že pridanie donora elektrónov sa prejaví rýchlym poklesom koncentrácie **P** stavov, po ktorom nasleduje ich pomalší spontánny rozpad. Časová konštanta rýchlej fázy je v oboch prípadoch 21 sekúnd, čo znamená, že rýchlosť reakcie nezávisí od času starnutia vzorky. Z veľkosti absorpčných zmien v rýchlej fáze bola vypočítaná koncentrácia **P** foriem, ktoré sú redukované jedným elektrónom v závislosti od času starnutia pri teplote 10 °C a pH 8.0 (Obr. 3, vpravo). Závislosť dokazuje, že takmer všetky dodané elektróny v rôznom čase starnutia sa spotrebúvajú hlavne na jedoelektrónovú redukciu **P** foriem. Takéto meranie teda nerozlišuje medzi **P<sub>M</sub>** a **P<sub>R</sub>** formami, ktoré boli zredukované. Získať údaje o frakcii **P<sub>M</sub>** a **P<sub>R</sub>** vo vzorke, teda o frakcii, ktorá má redikal, je možné len s pomocou spektrálnej analýzy.

#### Doba života radikálu

Získané akumulované spektrá počas redukcie **P<sub>M</sub>** vzorky boli tiež využité na určenie koncentrácie tejto formy. Koncentrácia **P<sub>M</sub>** bola počítaná z rozdielového spektra získaného v čase 50 s po pridaní  $\text{Fe}^{2+}$  (koniec rýchlej fázy) mínus spektrum tesne pred jeho pridaním. Keďže toto experimentálne rozdielové spektrum (Obr. 4, vľavo) je kompozíciou straty **P** a vzniku **F** intermediátov, je potrebné od tohto spektra ešte odpočítať rozdielové spektrum populácie čistej **P** formy (**O-P**). Táto čistá forma **P<sub>M</sub>** bola pripravená samostatným protokolom. Výsledkom odpočítania je spektrum ferylovej formy **F**, ktorej koncentráciu vypočítame použitím extinkčného koeficientu  $\Delta\epsilon(580-630\text{nm}) = 5.3 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (Wikstrom, 1992).

Tento spôsob analýzy poskytuje: (i) celkovú koncentráciu **P** intermediátov ( $[\text{P}_M] + [\text{P}_R]$ ), ktoré boli zredukované a tiež (ii) koncentráciu **[F]**, ktorá vznikla z tejto redukcie. Keďže  $[\text{F}] = [\text{P}_M]$ , môžeme potom vypočítať frakciu **P<sub>M</sub>** ( $[\text{P}_M]/([\text{P}_M] + [\text{P}_R])$ ) prítomnej vo vzorke. Týmto spôsobom sme získali závislosti frakcie **P<sub>M</sub>** od času starnutia vzoriek (Obr. 4, vpravo) pri teplote 10 a 20 °C.



Obr. 4 Spektrálne zmeny spôsobené redukciou **P<sub>M</sub>** vzorky a závislosť koncentrácie **P<sub>M</sub>** od času starnutia. (Vľavo) Červené spektrum je rozdielové spektrum získané z rýchlej fázy redukcie **P<sub>M</sub>** vzorky feročén metanolom. Modré spektrum, ktoré reprezentuje vznik ferylovej formy typu **F** je výsledkom odpočítania čistého spektra (**O-P**) z červeného experimentálneho rozdielového spektra. (Vpravo) Frakcia **P<sub>M</sub>** prítomná vo vzorke (frakcia  $\text{P}_M = [\text{P}_M]/([\text{P}_M] + [\text{P}_R])$ ) v závislosti od času starnutia pri 10 a 20 °C, pH 8.

Tieto dve závislosti, frakcie **P<sub>M</sub>** vs čas pre 10 a 20 °C, sú súčasne aj kinetikami straty, resp. zhášania radikálu v katalytickom centre. Experimentálne dáta fitované monoexponenciálnou funkciou poskytli časové konštanty pre migráciu radikálu z katalytického centra (Tab. 1). Ako vidieť, s nárastom teploty sa rýchlosť spontánneho zhášania radikálu zvyšuje, t.j. časová konštanta sa znižuje.

V dôsledku veľmi rýchlej migrácie radikálu pri fyziologickej teplote bola časová konštanta reakcie pri 37 °C len odhadnutá s použitím Arrheniovej rovnice na 100 sekúnd.

Teplota (°C)	Časová konštanta (s)
10	~900
20	~420
37	~100

Tab. 4 Časové konštanty redukcie P formy ferocén metanolom pri daných teplotách.

## Záver

V tejto práci sme prostredníctvom redukcie  $P_M$  vzorky jedným elektrónom určili dobu života tyrozínového radikálu v katalytickom centre cytochróm c oxidázy pri pH 8 a teplotách 10 a 20 °C. Ukázalo sa, že doba života radikálu je na minútovej škále, čo je dostatočne dlhý čas na to, aby bol radikál v katalytickom centre zhášaný elektrónom za fyziologických podmienok v mitochondriách, a tak nestihol migrovať na povrch proteínu a spôsobiť oxidatívne poškodenie. Dlhá doba života radikálu taktiež nie je v rozpore s možnou účasťou radikálu v protónovom pumpovaní.

## PodĎakovanie

Príspevok bol vypracovaný v rámci riešenia grantového projektu VEGA č. 0028/22.

## Literatúra

LEMMA-GRAY, P. a kol., 2007. Tryptophan 334 oxidation in bovine cytochrome c oxidase subunit I involves free radical migration. *FEBS letters*, 581(3), s. 437-442.

LIAO, G.L. a kol., 1996. The reduced minus oxidized difference spectra of cytochromes  $a$  and  $a_3$ . In: *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 1274, no. 3, p. 109-111.

MUSATOV, A. a ROBINSON, N.C., 2012. Susceptibility of mitochondrial electron-transport complexes to oxidative damage. Zamerané na cytochróm c oxidázu. *Free radical research*, 46(11), s. 1313-1326.

NICHOLLS a CHANADY, G.A., 1981. Interactions of cytochrome  $a_{a3}$  with oxygen and carbon monoxide. The role of the 607 nm complex. V: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, sv. 634, s. 256-265.

RICH, P.R., 2017. Mitochondrial cytochrome c oxidase: catalysis, coupling and controversies. *Biochemical Society Transactions*, 45(3), s. 813-829.

SHARPE, M. A., FERGUSON-MILLER, S. 2008. A chemically explicit model for the mechanism of proton pumping in heme-copper oxidases. *J Bioenerg Biomembr*, 40, 541-549.

SOULIMANE, T. a kol., 1995. Integral Cytochrome-C-Oxidase - Preparation and Progress Towards a 3-Dimensional Crystallization. In: *European Journal of Biochemistry*. Vol. 227, no. 1-2, p. 588-595.

SZTACHOVA, T. a kol., 2022. Radical v peroxidom-produkovanom F-type ferryl forme hovädzej cytochrómu c oxidázy. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), s. 12580.

SZTACHOV, T. a kol., 2021. Peroxide stimulated transition between the ferryl intermediates of bovine cytochrome c oxidase. *BBA - Bioenergetics*, 1862, 148447.

WIKSTRÖM, M. a kol., 2023. Structures of the intermediates in the catalytic cycle of mitochondrial cytochrome c oxidase. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1864, no. 2, s. 148933.

WIKSTRÖM, M. a kol., 1992. The dioxygen cycle. Spectral, kinetic, and thermodynamic characteristics of ferryl and peroxy intermediates observed by reversal of the cytochrome oxidase reaction. In: *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 267, no. 15, p. 10266-73

WIKSTRÖM, M. a kol., 2018. Oxygen activation and energy conservation by cytochrome c oxidase. *Chemical reviews*, 118(5), s. 2469-2490.

YOSHIKAWA, S. a Shimada, A., 2015. Reaction mechanism of cytochrome c oxidase. *Chemical reviews*, 115(4), s. 1936-1989.

# SYNTÉZA MOF MATERIÁLOV AKO HETEROGÉNNYCH KATALYZÁTOROV

## *Synthesis of MOF materials as heterogeneous catalysts*

Nikola Vargová, Nikolas Király, Miroslav Almáši

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, Ústav chemických vied, Katedra anorganickej chémie*

**Abstrakt:** Prezentovaný výskum sa zaoberá prípravou a charakterizáciou pórovitého materiálu zloženia  $\{[\text{Pb}_2\text{MTA}] \cdot 2\text{DMF} \cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$  (**PbMTA**). Materiál bol pripravený za solvotermálnych podmienok koordináciou objemného tetrakarboxylového ligandu  $\text{MTA}^{4-}$  ( $\text{H}_4\text{MTA}$  - metántetrayltetrakis(benzén-4,1-diyl)tetrakis(aza)tetrakis(metán-1-yl-1-ylidén)tetrabenzoová), obsahujúceho azo mostík, ktorý predstavuje teoretické katalyticky aktívne miesto, s olovnatými kationmi. Materiál bol charakterizovaný viacerými fyzikálno-chemickými metódami ako infračervená spektroskopia, termická analýza, elementárna a monokryštalová štruktúrna analýza. Nakoľko monokryštalová štruktúrna analýza potvrdila v štruktúre prítomnosť dutín o veľkosti  $16 \times 16 \text{ \AA}^2$  pozdĺž kryštalografickej osi  $c$ , komplex bol podrobený aj adsorpčným meraniam argónu a oxidu uhličitého pri rôznych teplotách. Z dôvodu prítomnosti azo mostíka v robustnej štruktúre ligandu, dostupnej veľkosti pórov bol materiál podrobený štúdiám katalytických vlastností v Knoevenagelovej kondenzácii, ktoré preukazujú jeho potenciál ako heterogénneho katalyzátora, pričom bol študovaný vplyv teploty a použitého rozpúšťadla na priebeh danej reakcie pri konštantnej hmotnosti katalyzátora.

**KLúčové slová:** *MOF materiály, tetrakarboxylové ligandy, heterogénna katalýza, Knoevenagelova kondenzácia*

**Abstract:** The presented research focuses on the preparation and characterization of a porous material with the composition  $\{[\text{Pb}_2\text{MTA}] \cdot 2\text{DMF} \cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$  (**PbMTA**). The material was prepared under solvothermal conditions by coordinating a bulky tetracarboxylic ligand  $\text{MTA}^{4-}$  ( $\text{H}_4\text{MTA}$  - methanetetrayltetrakis(benzene-4,1-diyl)tetrakis(aza)tetrakis(methane-1-yl-1-ylidene)tetrabenzoic acid) containing an azo bridge, which represents the theoretical catalytically active site, with lead cations. The material was characterized using various physicochemical methods such as infrared spectroscopy, elemental analysis, single-crystal X-ray diffraction analysis and thermal analysis. Single-crystal X-ray diffraction analysis confirmed the presence of pores with dimensions of  $16 \times 16 \text{ \AA}^2$  along the crystallographic  $c$ -axis. Subsequently, the complex underwent adsorption measurements of argon and carbon dioxide at different temperatures. Due to the presence of the azo bridge in the robust ligand structure, with an accessible porous system, the material was subjected to studies of catalytic properties, demonstrating its potential as a heterogeneous catalyst in Knoevenagel condensation. Furthermore, the impact of solvent and temperature was studied at a constant mass of heterogeneous catalyst.

**Keywords:** *MOF materials, tetracarboxylic ligands, heterogeneous catalysis, Knoevenagel condensation*

## Úvod

Kovovo-organické siete (MOF, metal-organic frameworks) sa za posledných niekoľko desaťročí stali novou a rýchlo sa rozvíjajúcou triedou anorganicko-organických hybridných materiálov. Základom ich prípravy je koordinácia organických ligandov s iónmi kovov alebo kovových klastrov za vzniku pórovitého systému. Charakteristickými črtami týchto materiálov sú veľký špecifický povrch, rigidná kostra a periodická štruktúra, ktorá je diverzifikovaná s vysokou schopnosťou ladenia veľkosti pórov. Vďaka týmto vlastnostiam sa dostali do povedomia vedeckej komunity ako heterogénne katalyzátory, ktoré vykazujú pozoruhodnú účinnosť pri rôznych chemických transformáciách, s osobitným významom v kontexte Knoevenagelových kondenzačných reakcií [Lu, 2014]. Z hľadiska štruktúry sú katalyticky aktívne miesta v kovovo-organických sieťach podobné ako v tradičných homogénnych

katalyzátoroch, avšak na rozdiel od nich sú koordinačné polyméry heterogénne a nerozpustné v mnohých rozpúšťadlách [Thomas, 2010]. Na druhej strane im ich definovaná štruktúra umožňuje rozptýliť aktívne miesta rovnomerne v rámci celej metalo-organickej siete, pričom vysoko usporiadané póry a kanály uľahčujú dostupnosť aktívnych miest a transport substrátov ako aj produktov do a von z pórovitej štruktúry [Xu, 2019]. Dizajn a možnosť postsyntetickej modifikácie MOF materiálov umožňuje začlenenie špecifických kovových uzlov alebo klastrov a organických ligandov do štruktúry, čo vedie k prispôsobeniu aktívnych miest, čo uľahčuje priebeh katalytických reakcií. Definovaná veľkosť a tvar pórov umožňuje dostupnosť reakčných substrátov so špecifickým tvarom a veľkosťou, čím dochádza k selekcii substrátov na priebeh vybranej reakcie [Jiao, 2019]. Na základne týchto teoretických vedomostí sme sa rozhodli rozšíriť výskum v oblasti aplikácie MOF polymérov ako heterogénnych katalyzátorov kombináciou nami dizajnovaných ligandov s iónmi kovov za vzniku nových kovovo-organických sietí. Úspešne sme pripravili nový koordinačný polymér zloženia  $\{[\text{Pb}_2\text{MTA}] \cdot 2\text{DMF} \cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$ , ktorý sme charakterizovali a podrobili štúdiu katalytických vlastností. Vybranou chemickou reakciou bola Knoevenagelova kondenzácia, ktorá predstavuje kondenzačnú reakciu zahrňujúcu reakcie aldehydov a ketónov s aktívnymi metylénovými zlúčeninami v prítomnosti slabej zásady, čím sa získajú alkylidén- alebo benzyldén-dikarbonyly, poprípade analogické zlúčeniny [Van Beurden, 2020]. V našom prípade sme sa zamerali na štúdium kondenzácie medzi benzaldehydom (PhCHO) a malononitrilom (MNT) za vzniku produktu benzyldénmalononitril (PhCHO+MNT), pričom sme skúmali vplyv použitého rozpúšťadla a vplyv teploty na priebeh katalytickej reakcie.

## Experimentálna časť

### Charakterizácia a chemikálie

Na prípravu koordinačného polyméru a štúdium katalytických vlastností boli použité chemikálie najvyššej dostupnej čistoty: 1-brómnaftalén (99,7 %, Sigma-Aldrich), benzaldehyd (99 %, Sigma-Aldrich), dichlórmetán (99,8 %, CentralChem), dusičnan olovnatý (99 %, Sigma-Aldrich), etanol (96 %, BGV Hniezdne), etyl-4-aminobenzoát (98 %, Sigma-Aldrich), hydroxid sodný (98 %, CentralChem), kyselina chlorovodíková (37 %, Sigma-Aldrich), kyselina octová (99,8 %, Lachner), malononitril (99 %, Across Org.), metanol (99 %, CentralChem), metanol (suchý) (99,8 %, Sigma-Aldrich), *N,N'*-dimetylformamid (99 %, Sigma-Aldrich), oxón (4 %, Sigma-Aldrich), síran sodný (99,8 %, CentralChem), tetrakis(4-aminofenyl)metán (90 %, Sigma-Aldrich), toluén (99,9 %, Sigma-Aldrich), uhličitan sodný (99,5 %, CentralChem), destilovaná voda.

Pripravené zlúčeniny boli charakterizované pomocou fyzikálno-chemických metód: CHN elementárna analýza, infračervená spektroskopia, termogravimetrická analýza, monokryštalová štruktúrna analýza a zlúčenina bola taktiež podrobená adsorpčným meraniam rôznych plynov (argón a oxid uhličitý). Elementárna analýza bola vykonávaná na prístroji CHNS Elementar Analyzer varioMICRO firmy Elementar Analysensysteme GmbH. Infračervené spektrá pripraveného pórovitého komplexu boli merané na spektrometri FT-IR Nicolet 6700 firmy Thermo Scientific v rozmedzí vlnočtov  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  s použitým ATR metódy, pričom bol využitý nadstavec SmartOrbit™. Pre štúdium termických vlastností zlúčeniny bola použitá termogravimetrická analýza v rozsahu teplôt  $25-900 \text{ °C}$  s rýchlosťou ohrevu  $9 \text{ °C} \cdot \text{min}^{-1}$  s použitím prístroja STA Netzsch 409PC. Textúrne vlastnosti pripravených vzoriek boli vyhodnotené na základe adsorpčných/desorpčných izoteriem argónu pri  $-186 \text{ °C}$ . Pred samotnými adsorpčnými meraniami bola uskutočnená výmena molekúl rozpúšťadiel v pórovitom systéme (DMF,  $\text{H}_2\text{O}$ ) za molekuly etanolu, ktoré sú ľahšie odstrániteľné z pórovitého systému. Etanolová výmena prebiehala nasledujúcim spôsobom, 200 mg materiálu bolo ponorených do  $20 \text{ cm}^3$  etanolu a ponechaných na voľnú výmenu počas 24 hodín. Následne bol materiál dekantovaný, znovu doplnený etanolom na objem  $20 \text{ cm}^3$  a tento postup bol opakovaný trikrát. Takto upravený materiál bol následne odplynený pri laboratórnej teplote po dobu 2 hodín, následne pri teplote  $90 \text{ °C}$  po dobu 2 hodín a nakoniec degasovaný na vákuovej pumpe adsorpčného analyzátoru po dobu 16 hodín pri teplote  $120 \text{ °C}$ . Adsorpčné izotermy argónu ( $-186 \text{ °C}$ ) a oxidu uhličitého ( $0$  a  $20 \text{ °C}$ ) boli merané na prístrojoch Quantachrome QUADRASORB SI (Ar) a Quantachrome AUTOSORB-iQ-C ( $\text{CO}_2$ ). Analýza a vyhodnocovanie sorpčných izoteriem a

vlastností bola vykonávaná softvéromi QuadraWin a ASiQwin firmy Quantachrome Instruments. Pripravený komplex vo forme tmavooranžových ihlic bol podrobený meraniam monokryštálovej štruktúrnej analýzy na difraktometri Nonius Kappa CCD, ktorý bol vybavený detektorom od firmy Bruker typu APEX II s Mo/K $\alpha$  žiarením ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ) pri teplote  $-153(2) \text{ }^\circ\text{C}$ . Fázový problém bol vyriešený priamymi metódami a spresnený pomocou najmenších štvorcov s plnou maticou na  $F^2$  pomocou programového balíka Shelxl-2018 [Sheldrick, 2015]. Atómy vodíka boli definované izotropne a všetky ostatné atómy boli definované anizotropne. Atómy vodíka umiestnené na aromatických atómoch uhlíka boli zahrnuté v ideálnej polohe s väzbou C-H fixovanou na  $0,95 \text{ \AA}$  a Uiso (H) priradenou k 1,2 násobku  $U_{eq}$  susedného atómu uhlíka. Hostujúce molekuly umiestnené v póroch sa odčítali postupom SQUEEZE z programu PLATON [Spek, 2009]. Obrázky kryštálovej štruktúry zlúčeniny boli vykreslené pomocou softvéru DIAMOND [Brandenburg, 2010]. Štúdium katalytických vlastností komplexu sa uskutočnilo na zariadení SHIMADZU Nexis GC-2030 s automatickým injektorom AOC-20i Plus, s podávačom na 6 vzoriek a FID detektorom. Teplotný rozsah pri meraniach bol v rozmedzí  $70 - 270 \text{ }^\circ\text{C}$  s ohrevom  $25 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Dĺžka kolóny bola  $30 \text{ m}$  s hrúbkou  $0,25 \text{ mm}$ . Vyhodnotenia a integrácie GC záznamov boli vykonané v softvéri Shimadzu Postrun. Identifikácia hlavného produktu katalýzy PhCHO+MNT prebehla pomocou  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopie za použitia prístroja VarianMercury Plus 400, frekvencia magnetického poľa použitá pri získaní  $^1\text{H}$  NMR spektier bola  $400 \text{ MHz}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektier bola frekvencia  $100 \text{ MHz}$ . Následne boli všetky spektrá spracované programom Mestrec.

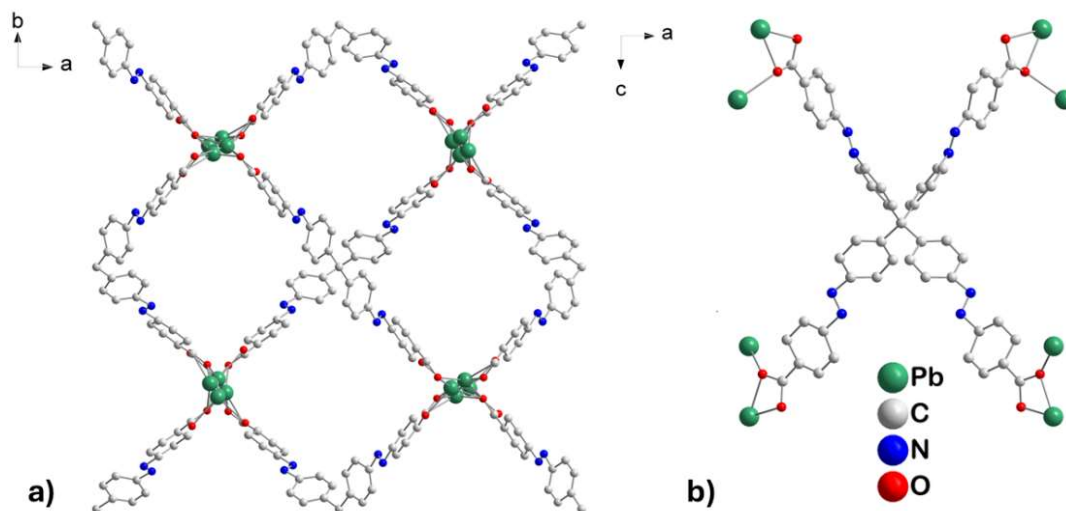
#### Syntéza komplexu $\{[\text{Pb}_2\text{MTA}]\cdot 2\text{DMF}\cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$

Syntéza tetrakarboxylovej kyseliny  $\text{H}_4\text{MTA}$  (metántetrayltetrakis(benzén-4,1-diyl)tetrakis(aza)tetrakis(metán-1-yl-1-ylidén)tetrabenzoová) prebiehala trojkrokovou organickou syntézou, pri ktorej bol východiskovou látkou etyl-4-aminobenzoát [Király, 2023]. Prvým krokom je vytvorenie nitrózo zlúčeniny premenou amino skupiny etyl-4-aminobenzoátu na nitrózo skupinu pôsobením oxónu, nasleduje azo kondenzácia medzi nitrózo zlúčeninou a tetrakis(4-aminofenyl)metánom a posledným krokom je deesterifikácia tetraetylésteru v prostredí  $1 \text{ M}$  roztoku NaOH v MeOH. Tmavo oranžové ihlicovité kryštálky komplexu  $\{[\text{Pb}_2\text{MTA}]\cdot 2\text{DMF}\cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$  (**PbMTA**) boli pripravené za solvotermálnych podmienok rozpustením  $10 \text{ mg}$  ( $0,01 \text{ mmol}$ )  $\text{H}_4\text{MTA}$  a  $16 \text{ mg}$  ( $0,05 \text{ mmol}$ )  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  v  $6 \text{ cm}^3$  DMF v sklenenej vialke. K roztoku bolo pridaných  $0,5 \text{ cm}^3$  destilovanej vody a následne bol roztok vložený do sušiarne, ohrev bol nastavený na  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  s rýchlosťou ohrevu  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , po dobu 3 dní. Po uplynutí reakčnej doby bola zmes ochladená pozvoľne na laboratórnu teplotu, produkt bol odfiltrovaný a vysušený v prúde vzduchu. Elementárna analýza: vypočítané hodnoty: C, 43.92 %; H, 3.87 %; N, 8.68 %. Namerané hodnoty: C, 43.00 %; H, 3.37 %; N, 8.93 %. Infračervená spektroskopia (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  3340 (w), 3049 (w), 2923 (w), 2840 (m), 1634 (s), 1589 (m), 1518 (m), 1490 (m), 1371 (s), 783 (s).

#### Kryštálová štruktúra komplexu

Merania monokryštálovej štruktúrnej analýzy (SXR) preukázali, že materiál kryštalizuje v tetragonálnej kryštalografickej sústave v priestorovej grupe  $I-4$ . Základná bunka obsahuje štyri vzorčové jednotky a rozmer základnej bunky je  $a = b = 32,0311(19) \text{ \AA}$ ,  $c = 7,4306(4) \text{ \AA}$  s objemom  $7623,73 \text{ \AA}^3$ . Ligand  $\text{H}_4\text{MTA}$  sa v štruktúre nachádza v podobe deprotonovaného aniónu  $\text{MTA}^{4-}$ , ktorý si stále zachováva tetraedrickú symetriu, avšak dochádza k jeho deformácii, nakoľko uhol medzi dvoma fenylovými ramena viazanými na centrálny metánový uhlík už nie je ideálny o veľkosti  $109,28^\circ$ , ale má veľkosť  $111,64^\circ$ . Okrem toho benzénové jadrá z tetrafenylmetánového motívu sa nenachádzajú v rovine s benzénovými kruhmi z rozširujúcich jednotiek benzoových kyselín. Torzný uhol medzi týmito dvoma jadrami spojenými azo mostíkom je  $29,63^\circ$ . Jeden anión  $\text{MTA}^{4-}$  koordinuje osem centrálnych atómov  $\text{Pb}^{2+}$ , prostredníctvom *chelát-anti* väzbového módu, vid'. Obr. 1b. Koordináciou ligandov na centrálny atóm vzniká chromofór  $[\text{PbO}_6]$  s koordinačným polyédrom tvaru deformovanej trigonálnej prizmy. Väzbové vzdialenosti  $\text{Pb}\cdots\text{O}$  dosahujú dĺžky  $2,516 - 2,618 \text{ \AA}$  (*chelátová* koordinácia) a  $2,399 \text{ \AA}$  (*anti* koordinácia). Vzdialenosť väzby  $\text{Pb}\cdots\text{Pb}$  v *cik-cak* 1D reťazci olovnatých kationov, v smere kryštalografickej osi  $c$  predstavuje  $3,9025 \text{ \AA}$ . Takouto koordináciou  $\text{MTA}^{4-}$  ligandu na 1D reťazec olovnatých jadier pozdĺž  $c$  kryštalografickej osi vzniká

v štruktúre systém 1D štvorcových dutín znázornený na Obr. 1a, v smere kryštalografickej osi *c* s veľkosťou  $16 \times 16 \text{ \AA}^2$ , v ktorých sa nachádzajú molekuly nekoordinovanej vody a DMF, ktoré neboli na základe vysokej neusporiadanosti prostredníctvom SXRD analýzy potvrdené a boli odstránené metódou SQUEEZE. Ich prítomnosť dokazujú výsledky IR, TG a CHN analýz.



Obr. 1 a) prítomné dutiny v smere kryštalografickej osi *c* a b) chelát-anti koordinácia aniónu  $\text{MTA}^{4-}$  v komplexe  $\{[\text{Pb}_2\text{MTA}]\cdot 2\text{DMF}\cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$ .

### Infračervená spektroskopia komplexu

Infračervené spektrum zobrazené na Obr. 2a dokazuje prítomnosť molekúl rozpúšťadiel v dutinách a zároveň aj prítomnosť  $\text{MTA}^{4-}$  aniónu. Široký adsorpčný pás v oblasti  $3350 \text{ cm}^{-1}$  je prejavom valenčnej vibrácie  $\nu(\text{O-H})$  molekúl vody. Molekuly druhého rozpúšťadla, *N,N'*-dimetylformamidu, sa prejavili niekoľkými absorpčnými pásmi, pri hodnote približne  $2930 \text{ cm}^{-1}$  absorpčný pás prislúchajúci valenčnej vibrácii  $\nu(\text{C-H})_{\text{alif.}}$  dvoch terminálnych metylových skupín, pás v oblasti vlnočtu  $1100 \text{ cm}^{-1}$  reprezentujúci valenčnú vibráciu terciárneho amínu  $\nu(\text{C-N})_{\text{alif.}}$ . Valenčná vibrácia karbonylovej skupiny  $\nu(\text{C=O})$  bola dokázaná existenciou intenzívneho absorpčného pásu pri hodnote  $1630 \text{ cm}^{-1}$ . Ligand  $\text{MTA}^{4-}$  bol v štruktúre potvrdený prítomnosťou asymetrickej  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$  a symetrickej  $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$  valenčnej vibrácie a deformačnou vibráciou karboxylátového aniónu  $\delta(\text{COO}^-)$  reprezentovaných adsorpčnými pásmi pri hodnotách vlnočtu  $1590 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1370 \text{ cm}^{-1}$  a  $875 \text{ cm}^{-1}$ . Valenčná vibrácia  $\nu(\text{N=N})$  charakteristická pre azo mostík bola potvrdená adsorpčným pásmom pri hodnote  $1495 \text{ cm}^{-1}$ .

### Termická analýza komplexu

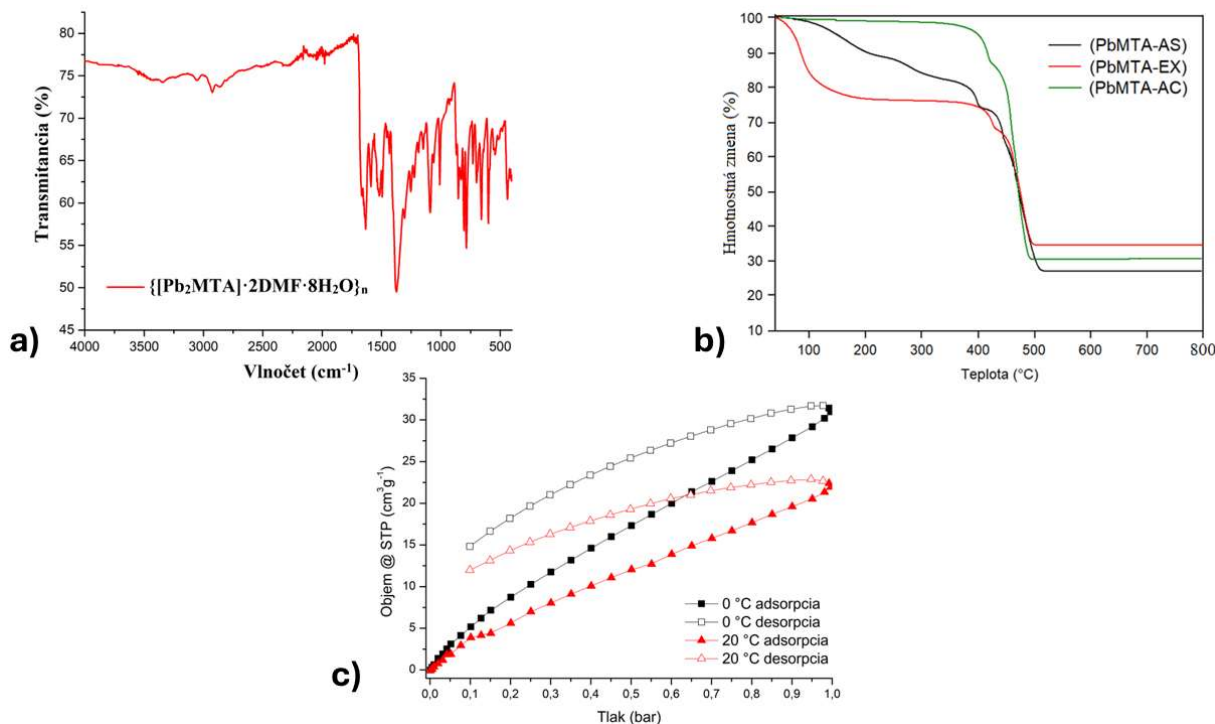
Termické vlastnosti a stabilita syntetizovaného (AS), etanolom vymeneného (EX) a aktivovaného komplexu (AC) **PbMTA** sa skúmala pomocou termickej analýzy, získané TG krivky sú znázornené na Obr. 2b. Vzorka AS (čierna krivka na Obr. 2b) je termicky stabilná do teploty  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ , nad touto teplotou v teplotnom rozsahu  $80 - 380 \text{ }^\circ\text{C}$  pozorujeme desolvatačné procesy prebiehajúce v dvoch prekrývajúcich sa rozkladných krokoch. V uvedenom rozsahu teplôt celková strata hmotnosti predstavuje  $17,5 \text{ hmot. \%}$ , čo zodpovedá uvoľneniu molekúl rozpúšťadiel 1D pórovitých dutín (2 molekúl DMF, 8 molekúl  $\text{H}_2\text{O}$ , vypočítaná strata hmotnosti  $16,9 \text{ hmot. \%}$ ). Nasledujúce zahrievanie viedlo k zboršteniu a rozkladu pórovitej mriežky za vzniku  $\text{PbO}_2$  ako produktu termického rozkladu (nameraná zvyšková hmotnosť  $28,3 \text{ hmot. \%}$ , vypočítaná zvyšková hmotnosť  $29,6 \text{ hmot. \%}$ ). Proces desolvatácie v EX vzorke, u ktorej prebehla výmena rozpúšťadiel v dutinách za etanol, prebiehal pri nižšej teplote (červená krivka na Obr. 2b). Uvoľňovanie molekúl etanolu kontinuálne začína na začiatku zahrievacieho cyklu až do úplnej desolvatácie pri teplote  $180 \text{ }^\circ\text{C}$ . Desolvatovaná forma je tepelne stabilná od teploty  $180$  do  $420 \text{ }^\circ\text{C}$ , ako je vidieť z plató na TG krivke. TG krivka aktivovanej vzorky (zelená krivka na Obr. 2b) potvrdzuje úspešnú aktiváciu zlúčeniny, pretože v teplotnom



rozsahu 30 – 420 °C nie je pozorovaný žiadny úbytok hmotnosti, čím sa potvrdilo aktivovanie komplexu, ako aj neprítomnosť rozpúšťadiel v dutinách.

### Sorpčné vlastnosti komplexu

Aktivovaný materiál **PbMTA-AC** bol podrobený adsorpcii Ar pri teplote -186 °C, kedy materiál adsorboval len limitné množstvo tohto plynu. Materiál bol následne študovaný adsorpciou CO<sub>2</sub> pri teplote 0 a 20 °C (Obr. 2c), kedy uskutočnené merania preukázali, že materiál pri teplote 0 °C a tlaku 1 bar adsorboval 1,43 mmol daného plynu, čo predstavuje 6,3 hmot. % a pri teplote 20 °C a tlaku 1 bar adsorboval 0,95 mmol, čo predstavuje 4,2 hmot. %.

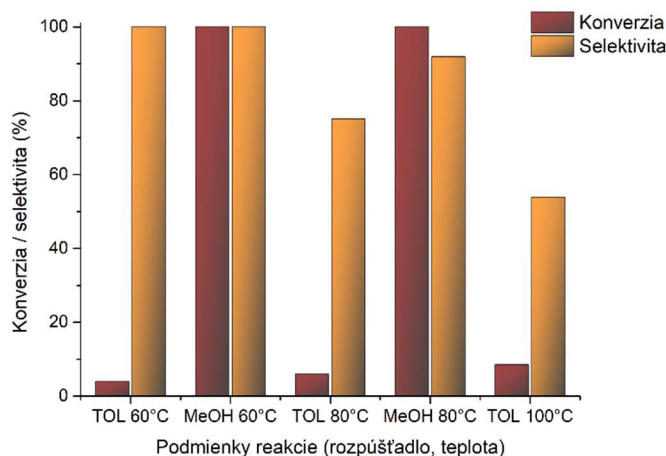


Obr. 2 a) Infračervené spektrum materiálu **PbMTA**, b) TG krivky materiálov **PbMTA-AS**, **PbMTA-EX** a **PbMTA-AC** a c) CO<sub>2</sub> adsorpčné a desorpčné izotermy materiálu **PbMTA-AC** namerané pri 0 a 20 °C.

### Katalytické vlastnosti komplexu

Na štúdiu katalytických vlastností bol použitý aktivovaný koordinačný polymér **PbMTA-AC**, ktorého jediným možným katalyticky aktívnym miestom sú voľné elektrónové páry na atómoch dusíka tvoriacich azo mostíky, reprezentujúce bázičné katalyticky aktívne miesta. Na olovnatých kationoch nie sú prítomné voľné orbitály, ktoré by slúžili ako koordinačne nevysýtené katalyticky aktívne miesta. Ako modelovú reakciu sme zvolili Knoevenagelovu kondenzáciu medzi benzaldehydom a malononitrilom. Priebeh reakcií začína aktiváciou materiálu po etanolovej výmene (**PbMTA-EX**) pri teplote 120 °C po dobu 45 minút. Do varnej banky o objeme 50 cm<sup>3</sup> bolo pridaných 10 cm<sup>3</sup> rozpúšťadla a 0,4 g interného štandardu (1-brómnaftalén) a následne bolo pridaných 424,5 mg benzaldehydu. Roztok bol zahriaty na požadovanú teplotu (60, 80, alebo 100 °C) a následne bola odobraná prvá vzorka. Následne sa k reakčnému roztoku pridalo 50 mg aktivovaného katalyzátora (**PbMTA-AC**), 396 mg malononitrilu a vzorky boli odobrané v časových intervaloch 30, 60, 120, 180, 240 a 300 minút. Študovaná reakcia prebieha v prostredí viacerých rozpúšťadiel (toluén, suchý metanol, vid' Obr. 3) v rozmedzí teplôt od 60 °C do 100 °C. Časový priebeh reakcie, konverzie a selektivity daných reakcií bol sledovaný pomocou GC analýzy a identifikácia hlavného produktu PhCHO+MNT prebieha pomocou IČ a <sup>1</sup>H NMR spektroskopie. Z konverzie a príslušnej selektivity katalyzátora k požadovanému produktu pri reakciách za použitia toluénu vyplýva, že toluén nie je vhodným rozpúšťadlom pri použití materiálu **PbMTA-AC** ako heterogénneho katalyzátora, čo dokazuje konverzia reakcií, ktorej maximálna hodnota je 18 % pri teplote 100 °C. Na druhej strane selektivita katalyzátora pri teplote 60 °C je 100 %, avšak so zvyšujúcou teplotou dochádza k znižovaniu selektivity. Konverzia reakcií za použitia metanolu bola 100 %, čo sa týka selektivity pri krátkom trvaní reakcií, s predlžujúcim sa reakčným časom selektivita katalyzátora voči

požadovanému produktu klesala. Avšak je potrebné poznamenať, že pokles bol minimálny (100 % na 93 %). Najlepšie výsledky boli dosiahnuté za použitia suchého metanolu a teploty 60 °C, kedy obidva tieto parametre dosahujú hodnotu 100 % (Obr. 3).



Obr. 3 Porovnanie selektív katalyzátora a konverzií reakcií za použitia toluénu a metanolu po 60 minútach priebehu reakcie.

## Záver

Za využitia solvotermálnej metódy bol pripravený nový MOF materiál so zložením  $\{[\text{Pb}_2\text{MTA}] \cdot 2\text{DMF} \cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$  (**PbMTA**), ktorý bol podrobený elementárnej analýze, ktorá predpovedala predpokladané zloženie komplexu. Infračervenou spektroskopiou bola potvrdená prítomnosť funkčných skupín, ako aj prítomnosť nekoordinovaných molekúl vody a DMF v dutinách. Monokryštalová štruktúrna analýza potvrdila viazanie  $\text{MTA}^{4-}$  aniónu s ôsmimi olovnatými kationmi za vzniku periodickej štruktúry obsahujúcej 1D dutiny s veľkosťou  $16 \times 16 \text{ \AA}^2$  pozdĺž kryštalografickej osi *c*. Na základe týchto výsledkov bol koordinačný polymér podrobený adsorpčným meraniam, ktoré potvrdili adsorpciu  $\text{CO}_2$  materiálom, pri teplote 0 °C a tlaku 1 bar adsorboval materiál 1,43 mmol daného plynu, čo predstavuje 6,3 hmot. % a pri teplote 20 °C a tlaku 1 bar adsorboval 0,95 mmol, čo predstavuje 4,2 hmot. %. Adsorpčné kapacity  $\text{CO}_2$  **PbMTA-AC** v porovnaní s inými MOF materiálmi zodpovedá stredných hodnotám. Termická analýza preukázala vysokú termickú stabilitu materiálu až do teploty 400 °C a zároveň potvrdila prítomnosť nekoordinovaných molekúl vody a DMF v dutinách. Doterajšie štúdium katalytických vlastností potvrdilo potenciál materiálu **PbMTA** ako heterogénneho katalyzátora v oblasti Knoevenagelových kondenzačných reakcií. Študoval sa vplyv použitého rozpúšťadla (toluén, suchý metanol) a vplyv teploty (60, 80 a 100 °C) na priebeh kondenzačnej reakcie. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté pri použití suchého metanolu ako rozpúšťadla a teplote 60 °C, kedy hodnoty konverzie a selektivity katalyzátora voči požadovanému produktu dosiahli 100 %. Momentálne pokračuje výskum katalytických vlastností komplexu **PbMTA** na zvolenej modelovej reakcii za použití rôznych protických a aprotických rozpúšťadiel. Zároveň študujeme vplyv množstva katalyzátora, regeneráciou katalyzátora a priebeh Knoevenagelovej kondenzácie za použitia halogén a nitro derivátov benzaldehydu.

## Pod'akovanie

Vedecká práca bola podporená projektovými schémami VEGA 1/0865/21, APVV SK-CZ-RD-21-0068, VVGS-2023-2724, VVGS-2023-2923.

## Literatúra

LU, W. et al, 2014. Tuning the Structure and Function of Metal-Organic Frameworks via Linker Design. Chem. Soc. Rev. Vol. 43, p. 1-18. ISSN 5561-5593. Dostupné z: doi:10.1039/c4cs00003j.

THOMAS, S. H. M. 2010. The Advantages of Exploring the Interface Between Heterogeneous and Homogeneous Catalysis. *ChemCatChem*. Vol. 2, p. 127-132. ISSN 1867-3880. Dostupné z: doi: 10.1002/cctc.200900275.

XU, Ch. et al. 2019. Functional Metal–Organic Frameworks for Catalytic Applications. *Coordination Chemistry Reviews*. Vol. 388, p. 268-292. ISSN 00108545. Dostupné z: doi: 10.1016/j.ccr.2019.03.005.

JIAO, L. et al. 2019. Metal–Organic Frameworks: Structures and Functional Applications. *Materials Today*. Vol. 27, p. 43-68. ISSN 13697021. Dostupné z: doi: 10.1016/j.mattod.2018.10.038.

VAN BEURDEN, K. et al. 2020. The Knoevenagel Reaction: a Review of the Unfinished Treasure Map to Forming Carbon–Carbon Bonds. *Green Chemistry Letters and Reviews*. Vol. 13, p. 349-364. ISSN 1751-8253. Dostupné z: doi: 10.1080/17518253.2020.1851398.

SHELDRICK, G. M. 2015. Crystal Structure Refinement with Shelxl. *Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry*. Vol. 71 (1), p. 3–8.

SPEK, A. L. 2009. Structure Validation in Chemical Crystallography. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*. Vol. 65 (2), p. 148–155.

BRANDENBURG, K. 2010. DIAMOND. 3.2e; Crystal Impact GbR: Bonn, Germany.

KIRÁLY, N. et al. 2023. Sr(II) and Ba(II) Alkaline Earth Metal–Organic Frameworks (AE-MOFs) for Selective Gas Adsorption, Energy Storage, and Environmental Application. *Nanomaterials*. Vol. 13. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi: 10.3390/nano13020234.

## Sekcia PrF / FVS / FF

## STAROSTLIVOSŤ O SEBA AKO NÁSTROJ NA ZVYŠOVANIE ZMYSLUPLNOSTI ŽIVOTA ŠTUDENTOV

*Self-care as a tool for enhancing the meaningfulness of students' lives.*

**Veronika Bérešová, Soňa Lovašová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Príspevok v teoretickej časti poskytuje prehľad o dôležitosti zmyslu života v období dospievania. Poukazuje na to, že starostlivosť o seba môže byť dôležitou súčasťou zvýšenia zmyslu života a celkového fungovania mladých ľudí, najmä študentov. Identifikuje aj rôzne aspekty starostlivosti o seba, ako je zdravý životný štýl, duševné zdravie a riadenie stresu. Projekt výskumu sa zameriava na zistenie vzťahu medzi starostlivosťou o seba a následným zvyšovaním zmyslu života u študentov.

**KPúčové slová:** *Starostlivosť o seba, zmysel života, študenti, zdravie, psychická pohoda*

**Abstract:** The theoretical part of the paper provides an overview of the importance of meaning in life during adolescence. It demonstrates that self-care can be a crucial component in increasing the sense of meaning in life and overall functioning of young people, especially students. It also identifies various aspects of self-care, such as healthy lifestyle, mental health, and stress management. The research project aims to investigate the relationship between self-care and subsequent enhancement of life meaning among students.

**Keywords:** *Self-care, meaning in life, students, health, mental well-being*

### **Teoretické východiská problematiky starostlivosti o seba ako nástroja zvyšovania zmysluplnosti života**

Starostlivosť o seba je multidisciplinárny pojem, ktorým sa zaoberajú najmä pomáhajúce profesie. Keď sa staráme o seba, investujeme do svojho fyzického, emocionálneho aj duševného zdravia. Keď vykonávame dostatočnú starostlivosť o seba, máme lepšiu schopnosť prekonať výzvy, čeliť stresu a dosiahnuť stanovené ciele a tým aj lepšiu kvalitu nášho života. Zmysel života je pre študentov dôležitý, pretože im pomáha nájsť motiváciu, cieľ vo svojom vzdelávaní a živote. Preto by sme sa chceli zamerať na to, ako starostlivosť o seba súvisí so zmyslom života študentov.

Súvislosťou medzi starostlivosťou o seba a zmyslom života sa zaoberali vo svojom výskume aj americkí študenti medicíny. Výskum v oblasti zdravia študentov zdôraznil dôležitosť starostlivosti o seba pre študentov medicíny. Online dotazník vyplnilo 871 študentov medicíny zastupujúcich 49 lekárskech fakúlt po celom USA v období od decembra 2015 do marca 2016. Prieskum hodnotil vnímaný stres, starostlivosť o seba, kvalitu života a rôzne demografické premenné. Vo výskume sa zistilo, že angažovanosť v starostlivosti o seba zmiernuje fyzický a psychický stres a zlepšuje kvalitu života. Študenti, ktorí odhalili, že počas svojho tréningu využívajú množstvo postupov starostlivosti o seba, môžu mať tiež väčšiu odolnosť a nižšie riziko úzkosti počas vzdelávania na lekárskej fakulte (Ayala Winseman Hyacinth a kol, 2018).

Starostlivosť o seba je kľúčovým aspektom zvyšovania zmysluplnosti života študentov. Ak študenti nevenujú dostatočnú pozornosť svojmu fyzickému, emocionálnemu a mentálnemu zdraviu, môže to mať negatívny dopad na ich študijné výsledky, ale aj na ich celkový pocit životnej spokojnosti a zmysluplnosti. Starostlivosť o seba je v tomto období ovplyvnená vývinovými úlohami ako aj vonkajšími a vnútornými faktormi.

Zlepšenie fyzického zdravia je dôležitým aspektom. To zahŕňa rôzne aktivity, ktoré sú zamerané na pohyb. Starostlivosť o seba zahŕňa širokú škálu fyzických aktivít v rôznych oblastiach života. Pravidelná fyzická aktivita, vyvážená strava a dostatočný spánok sú základom pre zachovanie dobrého fyzického zdravia (Richardsová, 2010). Študenti, ktorí sa starajú o svoje zdravie, majú lepšiu

energetickú úroveň a vyššiu odolnosť voči stresu, čo im umožňuje efektívnejšie zvládanie štúdia a iných životných výziev. Vedomé získavanie samostatnosti v období adolescencie a vytváranie identity študentov má vplyv na starostlivosť o seba. Schopnosť identifikovať, pochopiť a riadiť svoje emócie je kľúčová pre psychickú pohodu. Študenti, ktorí sa učia rozpoznávať a spracovávať svoje emócie, majú tendenciu lepšie zvládať tlak školy a osobného života. Programy zamerané na rozvoj emocionálnej inteligencie môžu študentom poskytnúť nástroje na lepšie porozumenie seba samých, čo zvyšuje ich schopnosť budovať zdravé vzťahy a vyrovnat' sa so stresom (Poklembová Miller, 2020).

Zvlášť v období dospievania je potrebné, aby sa jednotlivec dokázal adaptovať na prudké výkyvy v prostredí a bol schopný splňať zvýšené požiadavky a očakávania. Nutnosť adaptácie je projektovaná aj v spôsobe formovania interpersonálnych vzťahov, ktoré súvisia s pozitívnou orientáciou jednotlivcov. Jednou z ciest ako vytvoriť podmienky pre mentálne zdravie adolescentov je umožniť im výber širokého spektra sociálnych podnetov, prostredníctvom ktorých by si naplnili úrovne potrieb podľa A. Maslowa a nadobudli tak základ pre sebaaprejavenie a sebarealizáciu. Podpora mentálneho zdravia je dôležitá pre zmiernenie úzkosti, depresie a ďalších duševných problémov, ktoré môžu ovplyvniť akademický výkon a celkovú životnú spokojnosť študentov. Poskytovanie prístupu k psychologickému podpore, ako aj osvetové programy o duševnom zdraví, môžu pomôcť študentom získavať nástroje na riadenie svojho mentálneho zdravia (Pilková, 2017).

Študenti by mali mať príležitosť preskúmať svoje hodnoty, záujmy a ciele a premýšľať o tom, ako tieto faktory ovplyvňujú ich rozhodnutia a životné ciele. Aktivity ako meditácia, denník alebo diskusia o osobnom rozvoji môžu pomôcť študentom lepšie pochopiť samých seba a nájsť zmysel vo svojom živote.

Príprava na budúce povolanie je veľmi dôležitá. Preto môže byť toto obdobie poznačené dvojitou záťažou ako zo samotného štúdia, tak aj prípravy na ďalšie povolanie. Študenti majú tendenciu byť pod obrovským tlakom kvôli štúdiu a prípadným ďalším povinnostiam. Dôležité je podporovať ich vo vyvažovaní svojich akademických povinností s osobným životom, záujmami a zábavou. Zdravé vyvažovanie pracovných a osobných cieľov môže zmierniť stres a umožniť študentom cítiť sa viac naplnene a spokojne (Han 2012).

Starostlivosť o seba je preto kľúčová pre celkovú životnú spokojnosť študentov a môže im pomôcť nájsť väčší zmysel vo svojom živote. Organizácie školstva by mali aktívne podporovať iniciatívy a programy, ktoré podporujú starostlivosť o seba a duševné zdravie študentov. Viacerí autori sa domnievajú, že zvýšená úroveň využívania stratégií starostlivosti o seba môže znížiť úroveň záťaže alebo negatívnych dôsledkov najmä v oblasti vykonávania profesie v oblasti sociálnych služieb (Kulkarni, Bell, Hartman, HermanSmith, 2013).

Počas štádia dospievania je badateľný nárast zvedavosti o existenciálne otázky, ktoré život predstavuje. Študenti sa stretávajú s mnohými otázkami týkajúcimi sa samotnej podstaty ich existencie. Prechádzajú intenzívnymi krízami, prechovávajú pochybnosti a podstupujú rôzne životné zmeny. S odhodlaním sa púšťajú do hľadania jasných odpovedí na rôzne komplikované otázky bytia. V tomto období sa začína aj vytváranie životných plánov, stanovovanie cieľov, vytváranie hodnotových systémov a prijímanie ideálov (Lajčiaková 2012).

V dôsledku toho majú študenti jedinečné postavenie na ceste k objavovaniu zmyslu života, pretože obdobie dospievania je charakteristické emocionálnymi výkyvmi a konfliktmi. Študenti počas svojho štúdia môžu čeliť zvýšenému riziku depresie. Táto zvýšená zraniteľnosť často pramení z hlbokkej konfrontácie s existenčnými otázkami, ktoré vznikajú v tomto období, vrátane otázok o účele, smerovaní, hľadaní pravdy, zmysle života, náboženských krízach, životných plánoch, ideáloch a hodnotových systémoch (Halama 2007).

Macek (2003) načrtáva štyri etapy vývoja identity, pričom prvou etapou je zmätenosť alebo fragmentácia identity, ktorá súvisí s nízkou sebaúctou a ťažkosťami v medziľudských vzťahoch. Okrem toho existuje stav známy ako predčasné uzatvorenie, ktorý je charakterizovaný prísnyim dodržiavaním konvenčných presvedčení. Dospievajúci v tomto stave majú tendenciu sa vo veľkej miere spoliehať na autoritatívne postavy, majú nízke sebavedomie a zápasia s medziľudskými

vzťahmi. Pasívne prijímajú hodnoty a presvedčenia tých, ktorí sú v pozícii autority. Ďalší stav sa nazýva moratórium, kde jednotlivci majú pozitívny sebaobraz a pozitívne vzťahy s ostatnými. Pociťujú však neistotu a nedostatok flexibility, pokiaľ ide o ich vlastnú budúcnosť. Konečným stavom je dosiahnutie identity, ktoré sa zvyčajne prejavuje v neskoršom období a je charakterizované aktívnym skúmaním a odhodlaním.

Podľa Brassai, Piko a Steger (2012) má hľadanie zmyslu života pozitívny vplyv na rozvoj identity a celkového fungovania u dospelých. V období dospievania je pre jednotlivcov kľúčové začleniť sa do spoločnosti a nájsť si svoje miesto vo svete, čo je úzko späté s ich pocitom identity. Počas dospievania hodnoty často predstavujú značnú výzvu. Zatiaľ čo adolescenti majú množstvo hodnôt, problém spočíva v určení ich relatívnej dôležitosti a niekedy dokonca v ich pochopení. Ak dospievajúci odmieta spoločenské hodnoty a normy, so zavedeným spoločenským poriadkom, môže sa to prejavovať rôznymi spôsobmi, ako je agresivita a vandalizmus. Negatívne akceptovanie spoločenských hodnôt a rebélia voči spoločenským očakávaniam môžu viesť u dospievajúcich k problémom so správaním, čo môže poukazovať na základné sociálno-patologické problémy (Muller de Morais 2015).

Aby sme skutočne pochopili mladého jedinca, je nevyhnutné ponoriť sa do faktorov, ktoré formujú jeho správanie, a snažiť sa pochopiť a vcítiť sa do jeho jedinečnej osobnosti. Prostredie, v ktorom vyrastá, zohráva kľúčovú úlohu pri formovaní ich hodnôt a zmyslu, ktorý pripisujú životu. V podstate je možné, že hlavná príčina ich neprijateľného správania je dôsledkom dysfunkčnej rodiny. Nedostatočné uznanie, nedostatok pochvaly a nedostatok lásky a porozumenia počas výchovy ich môžu emocionálne vzdialiť od okolia. Aj keď chýba empatia a prejavuje sa ľahostajný postoj k ostatným, správanie adolescenta možno lepšie pochopiť, ak sa zamriete na vytvorenie pocitu dôvery. Pestovaním tejto dôvery potom môžeme riešiť ich intelektuálny rast a odhaliť skryté silné stránky. Pre dospievajúcich je kľúčové vybudovať si vzťah s dospelou autoritou, aby efektívnejšie zvládali existenciálnu úzkosť a výzvy rovesníckych vzťahov.

Ako naznačuje Muller de Morais (2015), jednotlivci sa neustále vyvíjajú a formujú svoju osobnosť, čo si vyžaduje schopnosť konfrontovať sa a plniť požiadavky a úlohy špecifické pre každú fázu vývinu. Prítomnosť špecifického sociálneho okruhu je kľúčová pre jednotlivcov, aby vyjadrili svoje skúsenosti, postoje a názory a zároveň využili svoje prirodzené schopnosti na pestovanie morálnych hodnôt a cieľov. Medziľudské vzťahy zohrávajú zásadnú úlohu pri formovaní vnímania života a nachádzaní osobného významu. Rozvíjanie silných vzťahov s rovesníkmi umožňuje mladým ľuďom zažiť autonómiu, budovať sebavedomie a dosiahnuť pocit rovnováhy.

Vo výskume vykonanom Hillom a kol. (2015) sa zistilo, že existuje negatívna korelácia medzi stresom, depresiou a delikvenciou a pozitívna korelácia medzi pozitívnym sebaobrazom a vnímaním dospelosti.

Hľadanie zmyslu života sa stáva najvyššou prioritou v závislosti od aktuálnych okolností, v ktorých sa človek nachádza. Počas nepriaznivých situácií, ktoré vyúsťujú do negatívnych skúseností sa jedinci pravdepodobne budú venovať hľadaniu a prehodnocovaniu zmyslu vo svojom živote (Žiaková 2013).

## Návrh projektu výskumu

Cieľom výskumu je skúmanie vzťahov medzi starostlivosťou o seba a zmyslom života u študentov. Pričom sa budeme zameriavať na oblasti fyzickej starostlivosti o seba, psychickej starostlivosti o seba a akademickej starostlivosti o seba. Výskum sa bude snažiť zistiť, ako rôzne dimenzie starostlivosti o seba ovplyvňujú vnímanie zmyslu života.

## Výskumné otázky

VO1: Ako sa líši úroveň starostlivosti o seba medzi rôznymi vekovými skupinami?

VO2: Aký je vzťah medzi úrovňou fyzickej starostlivosti o seba a zmyslom života u respondentov?

VO3: Aký je vzťah medzi psychickej starostlivosťou o seba a zmyslom života respondentov?

VO4: Aký je vzťah medzi akademickej starostlivosťou o seba a zmyslom života respondentov?

## Výskumná hypotéza

HH1: Predpokladáme, že existuje štatisticky významný vzťah medzi starostlivosťou o seba a vekom respondentov.

HH2: Predpokladáme, že existuje štatisticky významný vzťah medzi fyzickou starostlivosťou o seba a zmyslom života.

HH3: Predpokladáme, že existuje štatisticky významný vzťah medzi psychickou starostlivosťou o seba a zmyslom života.

HH4: Predpokladáme, že existuje štatisticky významný vzťah medzi akademickou starostlivosťou o seba a zmyslom života.

## Metódy a metodika

Výskumnou metódou použitou v našom výskume bude dotazník SCcs, ktorého autorkou je Lovašová (2024) a je zameraný na starostlivosť o seba u vysokoškolských študentov. Dotazník prechádza procesom validizácie. Dotazník SCcs je navrhnutý ako sebahodnotiaci nástroj zameraný na tri hlavné oblasti starostlivosti o seba: fyzickú, psychologickú a akademickú. Respondenti hodnotia svoje správanie a návyky na škále od 1 (nikdy) - 6 (pravidelne). Vyššie skóre naznačuje silnejšiu starostlivosť o seba v danej oblasti. Hlavným cieľom tohto dotazníka je umožniť respondentom uvedomiť si, čo všetko pre seba môžu robiť, a identifikovať oblasti, kde je možné zlepšiť v oblasti starostlivosti o seba. Na meranie dimenzií zmyslu života bol použitý dotazník Meaning in Life Questionnaire (MLQ, Steger, Frazier, Oishi a ďalší, 2006). Tento dotazník obsahuje 10 položiek a meria dve dimenzie zmyslu života: 1. Dimenzia aktuálneho zmyslu života (do akej miery respondenti cítia, že ich život má zmysel), a 2. Dimenzia hľadania zmyslu života (do akej miery sa respondenti usilujú nájsť zmysel a porozumieť mu vo svojich životoch). Respondenti odpovedajú na každú otázku na 7-bodovej Likertovej škále, kde 1 znamená „vôbec nesúhlasím“ a 7 „úplne súhlasím“. Hodnota Cronbachovho alfa pre MLQ bola 0,80. Študenti sa zúčastnia výskumu vyplnením oboch dotazníkov. Výsledky dotazníka SCcs budú vyhodnotené, aby sa zistilo, ktoré oblasti starostlivosti o seba sú pre študentov najdôležitejšie a ako sa v týchto oblastiach odlišujú jednotlivé odpovede respondentov. Dáta z dotazníka MLQ budú spracované s cieľom vyhodnotiť úroveň prítomnosti a hľadania zmyslu života. Následne budú analyzované vzťahy medzi rôznymi oblasťami starostlivosti o seba a zmyslom života s cieľom identifikovať oblasti, ktoré sú spojené s vyššou úrovňou zmyslu života u vysokoškolských študentov.

## Výskumná vzorka

Výskumná vzorka bude zložená zo študentov vysokých škôl, pričom budú zastúpení z dvoch odlišných odborov. Výber respondentov bude realizovaný pomocou náhodného výberu. Predpokladaná veľkosť výskumnej vzorky je stanovená na 100 respondentov. Výber študentov z obidvoch odborov bude zabezpečený tak, aby zahrňoval rôznorodú vzorku študentov z každého odboru, od prvých ročníkov. V rámci výberu sa bude dbať na to, aby výskumná vzorka bola reprezentatívna pre celkovú populáciu študentov na vysokých školách. Predpokladaná veľkosť výskumnej vzorky je vhodná na dosiahnutie štatistickej relevancie a spoľahlivosti výsledkov. Pričom nám to umožní porovnanie medzi študentmi z rôznych odborov a identifikáciu vzťahov medzi starostlivosťou o seba a zmyslom života študentov.

## Návrh štatistického spracovania

Výsledky dotazníkov budú spracované v programe Microsoft Excel a vyhodnotené v štatistických programoch IBM SPSS. Na spracovanie výsledkov použijeme kombináciu deskriptívnej štatistiky a frekvenčnej analýzy na získanie základného prehľadu o dátach a ich rozložení medzi študentmi. Následne použijeme regresnú analýzu na overenie vzťahov medzi jednotlivými dimenziami starostlivosti o seba a zmyslom života. Umožní nám to preskúmať základné charakteristiky údajov a následne identifikovať a kvantifikovať významné vzťahy medzi premennými, ktoré môžu ovplyvňovať vnímanie zmyslu života u študentov.



## Záver

Starostlivosť o seba je komplexný a multidisciplinárny pojem, ktorý je dôležitý nielen pre pomáhajúce profesie, ale má univerzálny význam pre každého jednotlivca. Udržiavaním fyzického, emocionálneho a duševného zdravia si zabezpečujeme väčšiu odolnosť voči stresu, lepšie prekonávanie výziev a dosahovanie cieľov, čo prispieva k celkovej kvalite života. Zmysel života je pre študentov významnou zložkou, pretože im poskytuje motiváciu, smerovanie vo vzdelávaní a životných cieľoch. Cieľom výskumu je skúmať súvislosť medzi starostlivosťou o seba a zmyslom života u študentov. Výsledky výskumu môžu prispieť k lepšiemu pochopeniu tejto súvislosti a identifikovať oblasti, v ktorých môžu študenti zvýšiť svoju úroveň starostlivosti o seba. Tak isto budú vhodné k tvorbe programov, ktoré budú aktívne podporovať duševné a fyzické zdravie študentov. Odporúčania z výskumu môžu napomôcť k zlepšeniu prístupu k podpore mentálneho zdravia a zmyslu života a následne študentom prekonať výzvy a nájsť naplnenie vo svojich akademických a životných cieľoch.

## Literatúra

AYALA, E., WINSEMAN, J. HYACINTH, R. 2018. U.S. medical students who engage in self-care report less stress and higher quality of life. [online].[cit. 2024.04.10.] Dostupné na: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12909-018-1296-x>.

BRASSAI, L, PIKO, B F., STEGER, M. F.2012. Existential attitudes and Eastern European adolescents' problem and health behaviors: Highlighting the role of the search for meaning in life In *The Psychological record*, 62, (4), 719-734. [online].[cit. 2024.04.10.] Dostupné na: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF03395831.pdf>.

PETRIKOVÁ, Františka, Vladimír LICHNER a Eva ŽIAKOVÁ, 2021. Dotazník úrovne starostlivosti o seba u adolescentov. Košice: Filozofická fakulta UPJŠ. ISBN 978-80-8152-968-9.

HALAMA, Peter, 2007. Zmysel života z pohľadu psychológie. 1. vyd. Bratislava: Slovak Academic Press. ISBN 978-80-8095-023-1.

HILL, P. L., EDMONDS, G. W., PETERSON. M. 2015. Purpose in Life in Emerging Adulthood: Development and Validation of a New Brief Measure. *Journal of Positive Psychology*, 11(3), 237-245. [online].[cit. 2024.04.10.] Dostupné na: <https://doi.org/10.1080/17439760.2015.1048817>.

HAN, Meekyung, E LEE Sang a LEE Peter Allan, 2012. Burnout among entering MSW students: Exploring the role of personal attributes. In *Journal of Social Work Education*. Roč. 48, č.3, s. 439-457. ISSN 1043-7797.

LAJČIAKOVÁ, Petra, 2012. Analýza profilu osobného zmyslu života adolescentov. *Sociálne a politické analýzy*, 6(1), 90-104. ISSN 1337-5555.

KŘIVOHLAVÝ, Jaro, 2006. *Psychologie smysluplnosti existence: otázky na vrcholu života*. Praha: Grada Publishing. ISBN 80-247-1370-5.

KULKARNI, S., BELL, H., HARTMAN, J. L. 2013. Exploring individual and organizational factors contributing to compassion satisfaction, secondary traumatic stress, and burnout in domestic violence service providers. *Journal of the Society for Social Work and Research*. p.14–130. online.[cit. 2024.04.10.] Dostupné na: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.5243/jsswr.2013.8>.

LICHNER, Vladimír, Ladislav LOVAŠ a Magdaléna HALACHOVÁ, 2018. The concept of Self-Care, WorkEngagement and Burnout Syndrome among Slovak Social Workers. In *Sociálni práce/Sociálnapráca*, 4 (18), pp. 62-76. ISSN 1213-6240.

MACEK, Peter, 2003. Adolescence. 2. upr. vyd. Praha: Portál. ISBN 8071787477.

MÜLLER DE MORAIS, Marianna, 2015. Osamelosť a zmysel života v adolescencii. v Nitre: Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre. ISBN 9788055807829.

ONG-ARTBORIRAK P., Seangpraw K. 2019. Association Between Self-Care Behaviors and Quality of Life Among Elderly Minority Groups on the Border of Thailand. *J Multidiscip Healthc.* 2019; 12:1049-1059 [online].[cit. 2024.04.10.] Dostupné na: <https://doi.org/10.2147/JMDH.S227617>.

PILKOVÁ, Jana, 2017. Participácia školského psychológa na podpore duševného zdravia žiakov. In: *Školní psycholog*, 18(1), 50-54. Univerzita Mateja Bela.

STEGER, M . F., FRAZIER, P., OISHI, S., KALER, M . 2006. The meaning in life questionnaire: Assessing the presence of and search for meaning in life. *Journal of counseling psychology*, 53(1), 80. . [online].[cit. 2024.04.10.] Dostupné na: <https://psycnet.apa.org/record/2006-00626-008>.

ŽIAKOVÁ, Eva a Dušan ŠLOSÁR, 2013. Sociálna práca - cesta k zmyslu života: Košické dni sociálnej práce. Košice: Katedra sociálnej práce Filozofickej fakulty UPJŠ. ISBN 9788081520129.

## REFLEXIA OSOBNOSTÍ MESTA ROŽŇAVA V ROKOCH 1923 – 1928 V ARCHÍVNYCH DOKUMENTOCH

*Reflection of the personalities of Rožňava in the years 1923 – 1928 in archival documents*

**Simona Bilecová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Predkladaná práca reflektuje účelovo zvolené osobnosti mesta Rožňava v rokoch 1923 – 1928, a to konkrétne deväť verejne činných osôb vo svetle archívnych dokumentoch – Badinyi Juraj, Járossy Ondrej, Kathona Ladislav, Langhoffer Ladislav, Pósch Jozef, Réz Ladislav, Róth Ernest, Szoboszlay Alexander, Šulán Edmund a Šulán Vojtech. Analyzuje povahu pramennej základne jej relevantnosť. Primárnym cieľom je teda poskytnúť čitateľovi prehľadovú štúdiu koncentrovanú predovšetkým na archívny prameň.

**KLúčové slová:** *elita, osobnosť, región, Rožňava, historický prameň*

**Abstract:** The present work reflects on the purposefully selected personalities of the town of Rožňava in the years 1923 - 1928, namely nine public figures in the light of archival documents - Badinyi Juraj, Járossy Ondrej, Kathona Ladislav, Langhoffer Ladislav, Pósch Jozef, Réz Ladislav, Réz Ernest, Róth Ernest, Szoboszlay Alexander, Šulán Edmund and Šulán Vojtech. Analyzes the nature of the source base for its relevance. The primary aim is thus to provide the reader with an overview study concentrating primarily on the archival source.

**Keywords:** *elite, personality, region, Rožňava, historical source*

### Úvod

Predkladaná práca reflektuje účelovo zvolené osobnosti mesta Rožňava v rokoch 1923 – 1928, a to konkrétne deväť verejne činných osôb<sup>1</sup>, vo svetle archívnych dokumentoch. Analyzuje povahu pramennej základne a jej relevantnosť. Primárnym cieľom je teda poskytnúť čitateľovi prehľadovú štúdiu, ktorá má popisný charakter a je koncentrovaná predovšetkým na archívny prameň.

Hľadáme odpovede na otázky:

Akej povahy sú analyzované archívne? Do akej miery reflektujú ekonomicko-sociálne postavenie vybranej vzorky osobností mesta?

Text je skonštruovaný nasledovne: Úvod článku tvoria teoretické a metodologické východiská, kvôli zasadeniu analýzy archívnych dokumentov do historického kontextu. Poukazujeme na tri kľúčové pojmy, ktoré hoci nie sú doslova terminologicky uvedené, sú v latentnej forme prítomné v celej štúdiu – archívny prameň, župné zriadenie a elita. Prepájame perspektívy historického výskumu, sociológie a z časti politických vied, nakoľko samotná téma si vyžaduje interdisciplinárny prístup. Vďaka nemu sme schopní o komplexnú analýzu aktivít vybraných osobností mesta Rožňava v rokoch 1923 – 1928 na podklade meniacich sa geopolitických okolností. Úvahy o zvolenej téme sú kulminované v troch základných bodoch. Po prvé – archívny prameň ako primárny nástroj v teoretickom rámci. Po druhé – priestor (v kontexte práce región), ktorý je neodmysliteľnou súčasťou ukotvenia a ohraničenia problematiky. V neposlednom rade ľudský faktor, osobnosť, individuum, aktér ekonomických, sociálnych a politických väzieb meniacich sa v čase.

### Terminologická definícia pojmov: Elita, župné zriadenie a región

Skôr než pristúpime k samotnému archívnemu prameňu a reflexii vybraných osobností na jeho podklade, považuje za potrebné stručne terminologicky objasniť pojmy elita, župné zriadenie a región. Tieto tri termíny spolu koexistujú a vytvárajú celok, v ktorom je možné analyzovať

<sup>1</sup>Badinyi Juraj, Járossy Ondrej, Kathona Ladislav, Langhoffer Ladislav, Pósch Jozef, Réz Ladislav, Róth Ernest, Szoboszlay Alexander, Šulán Edmund, Šulán Vojtech

štruktúry vo vnútri sociálnej skupiny – ich objasnenie pomôže čitateľovi zorientovať sa v problematike. V rámci jednotlivých vedných disciplín vznikajú rôzne definície, teórie a metódy, ktorými je možno skúmať a nazerať na elity, čerpajúce z prác klasických teoretikov elít.<sup>2</sup> Vzhľadom na široké spektrum elít a ich povahu (politické, kultúrne, náboženské, intelektuálne...), nie je možné dospieť k ich univerzálnej definícii. Je potrebné zvoliť kontextuálny prístup,<sup>3</sup> ktorý je založený na skúmaní praktík elít a špecifik pre dané miesto, región a historickú epochu.

Bezprostredne po zániku Rakúsko-uhorskej monarchie a vzniku Československa bola potrebná unifikácia verejnej správy, ktorú malo priniesť zavedenie nového župného zriadenia. Prvotne sa začalo uplatňovať len na území Slovenska, a to oficiálne od 1. januára 1923. Kompetencie reorganizovanej verejnej správy na seba prebralo 6 župných úradov a 79 okresných úradov. Sídlnymi mestami nových župných úradov sa stali mesta: Košice, Liptovský Mikuláš, Bratislava, Martin, Zvolen a Nitra. Podľa zákona č. 126/1920 Sb. z. a. n. zriadení župných a okresných úradov v republike Československej, boli jednotlivé župy označené rímskymi číslicami: XV. – XX.<sup>4</sup> V konečnom dôsledku sa pre jednotlivé veľžupy ustálilo tradičnejšie označenie, na ktoré mal vplyv demografický aspekt. Výnimkou boli župy XIX., označená ako Podtatranská a XVII. nazvaná Považskou župou. Pri kreovaní jednotlivých župných celkov boli zohľadnené hospodársko-správne aspekty a národnostná skladba obyvateľstva vychádzajúca zo sčítania obyvateľstva roku 1919.<sup>5</sup> Z tohto dôvodu bola v Rožňave zriadená expozitúra župného úradu, ktorá zastrešovala okresy Rožňavu, Tornaľu a Revúcu.<sup>6</sup>

Tretí termín, ktorý je neodmysliteľnou súčasťou výskumu mikrodejín alebo mikrohistórie (ohraničenej v územnosprávnom rámci) je región. Jeho zadefinovanie je možné z dvoch uhlov pohľadu. Vyžaduje si znalosti nielen na úrovni teoreticko-metodologickej, ale i poznanie sociálnych, ekonomických pomerov a špecifik charakterizujúcich zvolenú oblasť. Ako prvý lingvistický, ktorý primárne označuje teritórium, ktoré je spravidla menšie ako štát, nie je však neživým organizmom. Druhá podstatne náročnejšia definícia, ktorá je prameniaca z realizovaného výskumu vznikla na podklade spoločenských vzťahov, ktoré prirodzene vyplývajú zo spolužitia jednotlivcov na konkrétnom teritóriu. Región v žiadnom prípade nesmie byť zamieňaný, nahrádzaný termínom politicko-správnym. Ten môže kopírovať hranice regiónu, no v kontexte regionálnych dejín ich explicitne nevytvára. Ako teda stanoviť hranice regiónu? Dôležité je sledovať vnútorný vývoj

---

<sup>2</sup> V. Pareto, G. Mosca a R. Michels, spoločnou premennou v ich teóriách je skepsa voči demokracii, presvedčenie, že elity vládnu nezávisle na historickej epoche, forme vlády a v neposlednom rade forme štátneho zriadenia. Explicitnou príčinnou prečo dochádza k cirkulácii elít je podľa klasických teoretikov ich materiálna a intelektuálna prevaha. V závislosti na tendencii doby, v počiatkoch klasických teórii elít, prevládajú predovšetkým politické elity. V opozícii voči koncepciám funkcionálnych elít sa kritický vymedzujú sociologické teórie W. Millsa a P. Bourdieuho, založené predovšetkým na základnom vzťahu medzi elitami a spoločenskými triedami. Pozri: TUČEK, Milan a kol. *České elity po patnáctiletých transformace*. Praha : Sociologický ústav Akademie věd ČR, 2006, s. 10-18.

<sup>3</sup> O využívaní termínu elita viac pojednávajú LÁNSKY, Ondrej – SOCHOR, Ľubomír. *Materiály k teórii elit a k jej kritice*, Praha : Filosofia, 2018, s. 22-6. V práci prezentujú názor, že termín elita je používaná prevažne v dvoch príbuzných významoch pre označenie špecifickej sociálnej skupiny, ktorá disponuje nadriadeným intelektuálnym, sociálnym alebo ekonomickým statusom. Rovnako pre označenie jednotlivca s najlepšimi výkonmi v príslušnej oblasti. Elita je de facto opakom masy.

<sup>4</sup> Župa so sídlom v Bratislave XVI., Nitre XVI., Martine XVII., Zvolene XVIII., Liptovskom Mikuláši XIX., Košice XX.

<sup>5</sup> Bližšie k sčítaniu obyvateľstva z roku 1919, pozri: TIŠLIAR, Pavol – ŠPROCHA, Branislav. Malé dejiny veľkých akcií: Sčítanie ľudu z roku 1919. In: *Studia historica Nitriensia*. Nitra : Univerzita Konštantína Filozofa Nitre, 2021, s. 113-130.

<sup>6</sup> Bližšie k župnému zriadeniu pozri: TIŠLIAR, Pavol. *Okresné zriadenie na Slovensku v rokoch 1918 – 1945*. Krakov : Spolok Slovákov v Poľsku, 2013, s. 23-51.

v regióne a zohľadniť historicko-geografické hranice,<sup>7</sup> spoločensko-sociálne väzby, jazykové a kultúrne javy, tradície a zvyky, národnostné, sociologické, behaviorálne a iné špecifiká ako spoločný, resp. segregačný faktor. Územné ohraničenie regiónu je predovšetkým výsledkom cieleného historického výskumu. Pre definíciu územného ohraničenia skúmaného objektu, ma vedecký pracovník možnosť zvoliť ako kritérium množinu viacerých jednotlivých súborov<sup>8</sup> alebo pri výskume problematiky vo vnútri regiónu môže historik zvoliť ako kritérium práve územno-správne členenie.

## Archívny prameň ako primárny zdroj informácií

Archívny prameň je obligátnym segmentom poznávania a poznania dejín ľudskej spoločnosti. Jeho kardinálnou funkciou je umožnenie vedeckého skúmania a následná rekonštrukcia udalostí v širších súvislostiach.

Bádanie začína podrobením prameňa – archíválie – kritike,<sup>9</sup> po ktorej nasleduje dedukcia záverov a vyústenie k interpretácii. Relevantnosť záverov a interpretácii môžu ovplyvňovať faktory, ktoré sú deficitom persóny<sup>10</sup>, ale niekedy aj samotnej povahy prameňa. Prečo sme vzťah medzi historikom a prameňom označili ako ambivalentný? Z jednoduchého dôvodu – archívny prameň je možné glorifikovať, rešpektovať ho, na strane druhej obviňovať z tendenčného klamstva a marginalizovať.<sup>11</sup> Snaha o minimalizáciu subjektivity by mala byť samozrejmosťou, i keď každý z nás má istú mieru koncepčných predstáv, ktoré sa občas v určitej miere odzrkadlia v interpretácii a pomenovaní historických javov a skutočností.<sup>12</sup> V texte analyzujeme archívne pramene, ktoré sme z pohľadu inštitucionalizácie do troch základných kategórií:<sup>13</sup>

- 1) Spisový materiál Okresného úradu v Rožňave
  - a) Prezidiálne spisy 1923 – 1928
  - b) Administratívne spisy 1923 – 1928
- 2) Zápisnice zo zasadnutí Mestskej rady v Rožňave
- 3) Robotnícke hnutie 1923 – 1928

Kritika prameňa súvisí s využitím priamej metódy. Aplikovanej predovšetkým pri práci so zápisnicami zo zasadnutia Mestskej rady v Rožňave. Avšak nevylučujeme vplyv ľudského faktora či pochybenie zapisovateľa. Pri zápisniciach zachovaných a dostupných v odpise platí priama úmernosť – čím je dokument viackrát prepisovaný, tým pravdepodobnejšia je možná chybovosť. Pre bádanie v spisovom materiáli Okresného úradu v Rožňave – Prezidiálnych a Administratívnych spisoch, sme aplikovali indukčnú a dedukčnú metódu. Zvolená interdisciplinárna téma a špecifický pramenný materiál si vyžadujú uplatnenie metód a metodologického rámca častokrát z iných vedných disciplín.<sup>14</sup>

<sup>7</sup> K teoretickým otázkam týkajúcich sa konceptu regionálnych dejín pozri: PEKÁR, Martin. Stav a problémy výskumu regionálnych dejín na Slovensku v rokoch 1989 – 2005. In: ČELKO, Vojtech a kol. *Česko-slovenská historická ročenka*. Brno : Copyright, 2006, s. 89.

<sup>8</sup> Spoločensko-sociálne väzby, jazykové, kultúrne javy, tradície a zvyky.

<sup>9</sup> LOPATKOVÁ, Zuzana. Kanonická vizitácia – k jej interpretácii, limitom a metodologickým otázkam v historickom výskume. In: FERIANCOVÁ, Alena – GLEJTEK, Miroslav. *Prameň – jeho funkcia, význam, interpretácia a limity v historickom výskume*. Nitra : Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, 2010, s. 69-79.

<sup>10</sup> Mnohokrát súvisí so vzťahom historika k spoločenskému a historickému kontextu. Významný podiel má rovnako odbornosť a schopnosť historika interpretovať prameň.

<sup>11</sup> Podrobnejšie sa historickému prameňu, problémom s jeho interpretáciou zaoberal Roman Holec. HOLEC, Roman. Historický prameň a etika (na stole, pod stolom a kdesi inde...). In: *Historický časopis*, roč. 64, 2016, č. 4, s. 597-611.

<sup>12</sup> MEZNÍK, Jaroslav. Etika historikovy práce. In *Český časopis historický*, roč. 97, 1999, č. 4, s. 803-806.

<sup>13</sup> Primárny výskum sme uskutočnili v slovenskej inštitúcii v Štátnom archíve Košice, pracovisko Archív Rožňava. Ďalej označované ako ŠAKE, RV.

<sup>14</sup> BARTL, Július. *Úvod do štúdia dejepisu*. Bratislava : Univerzita Komenského, 2003, s. 92.

V tejto časti práce uvedieme a detailnejšie analyzujeme konkrétne príklady archívnych dokumentov systematicky rozčlenených do vopred kvalifikovaných kategórií.

- 1) Spisový materiál Okresného úradu v Rožňave
- a) Prezidiálne spisy od roku 1923 – 1928

Archiválie, ktoré boli uložené vo fonde Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označené ako Prezidiálne spisy 1923 – 1928, boli pomerne obsiahle, zároveň bolo možné uplatniť priamu metódu, keďže obsahovali najviac informácií o skúmaných subjektoch.

Ako príklad uvádzame: „*Spisový materiál vydaný županom Podtatranskej župy Jánom Sekáčom*<sup>15</sup> zo dňa 17. januára 1923, v ktorom žiada evidenciu všetkých občanov nemeckej národnosti v regióne Rožňava.“<sup>16</sup> V následne priloženom zozname sa nenachádzal ani jeden predstaviteľ z deviatich osobností. Preto sme vylúčili nemeckú národnosť u všetkých analyzovaných jednotlivcov.

Prezidiálne spisy roku 1924 – 1928, obsahovali informácie o Jurajovi Badinyi<sup>17</sup>, maďarská národnosť, pretože ako policajný kapitán koordinoval evidenciu občanov nemeckej národnosti, Ladislavovi Kathonovi zastávajúcim post mestského fiškála v Rožňave<sup>18</sup>, Ladislavovi Langhofferovi<sup>19</sup>, ktorý je v dokumente označený ako *vel'komad'ar a iredentista*, čo ani sám nepopiera – určená maďarská národnosť. Najznámejšou osobnosťou bol (a dovoľme si tvrdiť, že aj v súčasnosti je) Jozef Pósch – vyštudovaný právnik, publicista a redaktor dobového týždenníka *Sajó Vidék*, predseda Rožňavského besedného spolku – Rozsnyói Társalgási Egylet a mešťanosta v rokoch 1908 – 1923, ktorého meno rezonuje nielen v odborných kruhoch. József Pósch sa narodil dňa 2. augusta 1875 známemu lekárnikovi v Rožňave Jozefovi Póschovi<sup>20</sup>(\*1821) a jeho druhej manželke Luize Stech. Celá rodina

<sup>15</sup> Ján Sekáč, povolaním sudca – narodený 8. marca 1882 v obci Turzovka patriacej do Rakúsko-Uhorskej monarchie. Disponoval širokou diplomatickou minulosťou a politickou kariérou. Bezprostredne po vzniku nového štátneho zriadenia sa stal politický činnou osobou, od roku 1918 člen česko-slovenskej vlády v Košiciach, v roku 1919 župan Abovsko-Turnianskej župy, roku 1922 stál na čele Liptovskej župy a po zavedení župného zriadenia do praxe roku 1923 – 1926, župan župy XIX. Pripomínáme si – JUDr. Ján Sekáč, verejný činiteľ. In: *Spolok priateľov Turzovky informuje*, roč. 19, 2017, č. 3, s. 18. *KLÍMA, Stanislav. Osvobozené Slovensko. Praha : Nakladatelství Jan Otto, 1926, s. 107.*

<sup>16</sup> Štátny archív v Košiciach, pracovisko archív Rožňava (ŠAKE, RV), fond (f.) Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označenie: Prezidiálne spisy 1923, škatuľa č. 1, názov dokumentu: Evidencia občanov nemeckej národnosti zo dňa 17. januára 1923.

<sup>17</sup> Narodený 24. apríla 1882, domovská príslušnosť v Lúčenci, hlásiaci sa k maďarskej národnosti, post policajného kapitána zastáva v meste Rožňava od roku 1917. ŠAKE, R, f. Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označenie: Prezidiálne spisy 1923, škt. 20, názov dokumentu: Výkaz k nariadenie okresného úradu pod č. 6052/924.

<sup>18</sup> ŠAKE, RV, f. Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označenie: Prezidiálne spisy 1924, škt. 3. č. spisu 8421, názov dokumentu: Dr. Kathon Ladislav mestský fiškál Rožňava neprevzaté do štátnej služby.

<sup>19</sup> Bol mešťanostom v meste Dobšiná v rokoch 1910 – 1919. ŠAKE, RV, f. Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označenie: Prezidiálne spisy 1923, škt. 2, názov dokumentu: Služobné pôžitky zamestnancov.

<sup>20</sup> Prvá manželka sa volala Petronella Kallman z manželstva vzišlo sedem detí. Menovite: Petronella Josephina Rosina narodená roku 1841, nasledovala Ema, József Sámuel 1845, Elek László 1847, Gyula Lajos 1852, Dezso Aladár Gyorgy a posledný Dezso Bertalan 1855. S druhou manželkou splodili tri deti. Najstarší József László Árpád zomrel tesne po narodení, preto sa matka rozhodla dať rovnaké meno druhému dieťaťu, a to József Lajos Árpád, najmladším synom bol Aladár Samu Ferenc narodený roku 1876. Otec sa posledného syna nedožil, pretože zomrel tesne pred pôrodom.

sa hlásila k Evanjelickej cirkvi augsburského vyznania.<sup>21</sup> V roku 2022 mu bolo udelené čestné občianstvo mesta Rožňava in memoriam.

Ladislav Réz, bol zvolený zámerne, totiž ako jediný okrem politickej profilácie zastával duchovnú funkciu ako farár Reformovanej kresťanskej cirkvi – kalvínskej. Túto informáciu sme našli uvedenú v dokumente s názvom *Spoločnosť národov, jazykové menšiny*.<sup>22</sup> Jediná informácia, bližšie nešpecifikovaná, z ktorej dedukciou možné je priradiť maďarskú národnosť k subjektu. Novým mešťanom, ktorý vo funkcii nahradil Jozefa Póschu bol Ernest Róth – aktívny člen komunistickej strany<sup>23</sup>, povoláním obchodník, ktorý získal nadpolovičnú väčšinu hlasov, konkrétne 15 z 20-tich. V spise je spomínaný v súvislosti s miestnou organizáciou komunistickej strany ako vedúci funkcionár maďarského krídla komunistickej strany v Rožňave. Vydáva závodný časopis a jeho činnosť je nebezpečná z dôvodu, že ide o inteligenta vystupujúceho na oko lojálne k štátu. Bližšie analyzujeme ďalších štyroch členov, ktorých útržkovito zachytávajú Prezidiálne spisy.

Edmund Šulán a Votech Šulan, pri ktorých sa nám nepodarilo explicitne dokázať príbuzenský vzťah, ktorý však hypoteticky predpokladáme, so zreteľom na stránicke pôsobenie v KSC a prípadné povolanie. Edmund Šulán sa narodil 11. novembra 1880, bol povoláním stolár. Od vzniku miestnej organizácie komunistickej strany pôsobil ako jej aktívny člen až do roku 1928, následne vstúpil do miestnych štruktúr ČSDSD. Dôvod prestupu nám nie je známy. Zaujímavé by bolo zodpovedať otázku, či zmena priamo súvisela so zrušením župného zriadenia. Pri Vojtechovi Šulánovi, narodenom 8. apríla 1884 platí rovnaký vzorec ako pri vyššie uvedenom Edmundovi Šulanovi. Rozdiel je v dokumente, z ktorého sme informácie vyabstrahovali, a to *Okresná zdravotnícka rada v Rožňave*.<sup>24</sup> Posledným analyzovaným subjektom, teda osobnosťou, je Ondrej Járossy narodený 1. septembra 1859 v obci Rejdová. Bol otcom maďarskej spisovateľky Alžbety Szkalošovej vystupujúcej pod pseudonymom Madame Sans Gêne.<sup>25</sup> Všetky uvedené informácie sme získali hĺbkovou analýzou Spisového materiálu Okresného úradu v Rožňave, konkrétne Prezidiálnych spisov od roku 1923 – 1928.

- 1) Spisový materiál Okresného úradu v Rožňave
- b) Administratívne spisy 1923 – 1928

Spisový materiál Okresného úradu v Rožňave, bližšie označený ako Administratívne spisy 1923 – 1928, neobsahoval žiadne informácie o vybraných osobnostiach. Nevylučujeme fakt, že sme niektoré informácie prehliadli, resp. nezaznamenali.

- 2) Zápisnice zo zasadnutí Mestskej rady v Rožňave

Zápisnice zo zasadnutí Mestskej rady v Rožňave, boli významným zdrojom pri určení verejnosprávnej funkcie jednotlivcov počas celého skúmaného obdobia – župného zriadenia. Rovnako sme museli hĺbkovou analýzou a znalosťami širšieho kontextu vývoja mestskej samosprávy vyvodzovať závery. Vyhýbať sa vágnym, neúplným a nepresným formuláciám, čo sme dosiahli vytvorením tabuľky v textovom editore a zaznamenávali každú zápisnicu, ktorá vzišla z rokovania Mestskej rady v Rožňave. Predovšetkým sme sa zameriavali na priamych účastníkov zasadnutia. Ako príklad uvedieme konkrétnu zápisnicu spísanú dňa 12. januára 1924. V úvode obsahuje informáciu

---

<sup>21</sup> *Známe meno – zabudnutá umelkyňa Eszter Pósch*. [online]. Rožňavské noviny. [cit. 2024-04-11]. Dostupné na internete: < <https://roznavskenoviny.sk/zname-meno-zabudnuta-umelkyyna-eszter-posch/>>.

<sup>22</sup> ŠAKE, RV, f. Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označenie: Prezidiálne spisy 1925, škt. 6, č. spisu 823, názov dokumentu: Spoločnosť národov, jazykové menšiny.

<sup>23</sup> ŠAKE, R, f. Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označenie: Prezidiálne spisy 1929, škt. 14, názov dokumentu: Zoznam podozrelých a štátu nebezpečných osôb, polic. Obvod Rožňava.

<sup>24</sup> ŠAKE, RV, f. Okresný úrad Rožňava 1923-1938, bližšie označenie: Administratívne spisy 1923, škt. 50, č. spisu 5803, názov dokumentu: Okresná zdravotnícka rada v Rožňave.

<sup>25</sup> ŠAKE, RV, f. Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938, bližšie označenie: Prezidiálne spisy 1929, škt. 14, názov dokumentu Zoznam podozrelých a štátu nebezpečných osôb, policajný Obvod Rožňava.

o prítomných jednotlivcoch so zreteľom na stanovený cieľ práce. Pri Ernestovi Róthovi je uvedená verejnosprávna (na– starosta. Zápisnica ďalej pokračuje členmi Mestskej rady, ktorými boli Josef Pósch a Ondrej Járossy.<sup>26</sup> Systematickou analýzou všetkých zápisníc sme boli schopní priradiť osobnosti k funkciám, v ktorých pôsobenie malo vplyv na spoločensko-politickú, do veľkej miery aj ekonomickú a sociálnu situáciu v regióne.

### 3) Robotnícke hnutie

Posledné dokumenty, s ktorými sme prišli v rámci archívneho výskumu do kontaktu, je pramenný materiál kategorizovaný ako Robotnícke hnutie, obsahujúci špecifické písomnosti reflektujúce činnosť komunistického hnutia v prevažnej miere na regionálnej úrovni. Tvrdíme, že spektrum dokumentov, ktoré obsahoval bolo rozmanité. Paradoxom však je, že v písomnostiach neboli uvedené takmer žiadne relevantné informácie o vybranej vzorke osobností, preto nepovažujeme za nevyhnutné uvádzať príklady spisového materiálu.

## Prosopografická metóda, jej praktické uplatnenie

Pre detailnejšiu analýzu a následnú interpretáciu skúmaných subjektov – zachytenie premien ich sociálneho a ekonomického statusu, sociálnych väzieb, verejnosprávnych funkcií – sme zvolili prácu s prosopografickou metódou, nakoľko systematicky vybraná a ohraničená skupina spĺňa definované kritéria. Všetkých deväť predstaviteľov osobností mesta Rožňava (v širšom kontexte regiónu) zastávalo verejnosprávny post, pochádzali z nadpriemerných sociálnych pomerov, disponovali politickou profiláciou<sup>27</sup> kontinuálne od vzniku nového štátneho útvaru do zavedenia župného zriadenia. Podrobným sledovaním kolektívnych atribútov, ktoré sú medzi subjektmi zdieľané možno definovať vnútorné štruktúry jednotlivca. Prácu s prosopografickou metódou sme rozdelili do troch fáz, ktoré popisujú realizované postupy. Prvý spočíva v predbežnom zvolení sociálnej skupiny, následne kto bol jej explicitným členom. V našom prípade je člen vybranej sociálnej skupiny – sociálneho kolektívu – označený termínom regionálna politická elita. Vďaka zápisniciam zo zasadnutí Mestskej rady v Rožňave – bežných zápisov, ktoré monitorujú všeobecnú agendu vykonávanú v rámci mesta ale aj celého regiónu – sme dokázali určiť akú funkciu a v akých rokoch zastávali.

Spisový materiál Okresného úradu v Rožňave obsahoval útržkovito a nesystematicky roztriedené informácie ako dátum narodenia, občasne domovskú príslušnosť a zamestnanie, z ktorého sme dedukovali sociálny status. Poslednou kategóriou prameňov bolo Robotnícke hnutie. Táto skupina zväčša disponovala údajmi orientovanými smerom k politickým aktivitám v kontexte činnosti miestnych organizácií celoštátnych politických strán. Získané informácie nám pomohli geograficky umiestniť osobnosti do priestoru. Skúmaná vzorka nespochybniteľne aktívne pôsobila v meste Rožňava a v rámci celého regiónu.

Plynule sme prešli do druhej fázy metódy, v ktorej sme začali zozbierané a analyzované dáta triediť a dávať im určitý rozmer, ktorý nemal spočívať v jednoduchej deskripcii. Najvhodnejším spôsobom dokumentácie materiálu bolo vytvorenie a jeho zaznamenanie do tabuľky. Tá zahŕňala dopredu stanovené kritéria. Následne je možné z nej vytvoriť biogram. V poslednej fáze sa snažíme správne interpretovať informácie, teda výsledky rozsiahleho výskumu. Začleniť ich do metodologického rámca a rovnako kontextuálne správne uchopiť, vedieť čítať „medzi riadkami,“ t. j. prepájať samostatné dáta s historickým vývojom nielen vo vybranom regióne. Limitujúcim je predovšetkým rozsah získaných informácií, ktoré v terajšej podobe neumožňujú vytvorenie rozsiahlych biografii jednotlivých osobností.

<sup>26</sup> ŠAKE, RV, f. Mestský úrad Rožňava 1923 – 1928, bližšie označenie: Zápisnice mestskej rady a zastupiteľstva 1923, 1924, kniha 1, názov dokumentu: Zápisnica z dňa 12. januára 1924.

<sup>27</sup> Schválne sme vynechali označenie politickou minulosťou, pretože ani jeden tradičnou politickou minulosťou nedisponoval. Z nášho pohľadu kreovali svoju politickú profiláciu, čo je korektnšie terminologickej pomenovanie v tomto konkrétnom prípade.



Rozsah a obsah biogramu bude systematickým výskumom dopĺňaný. Veríme, že po preštudovaní väčšieho objemu archívnych dokumentov rozpletieme komplikované väzby vo vnútri analyzovanej sociálnej skupiny. V širšom kontexte aj vzťahy medzi politickou správou a volenou samosprávou. Koho je možné kvalifikovať ako osobnosť mesta, a kto patril medzi elitu.

## Záver

Hlavným zámerom predloženej štúdie bola reflexia osobností v konkrétne stanovenom období ohraničenom rokmi 1923 – 1928 a definovanom územnom celku – regióne Rožňava, cieleným na analýzu archívnych dokumentoch. V prvom kroku bolo potrebné kvalifikovať analyzovaný subjekt, sociálnu skupinu, jednotlivcov cirkulujúcich v skupine, čiže elity. Druhý krok spočíval vo vybratí počtu osôb, načo mal vplyv potrebný rozsah štúdie. Pod vplyvom uvedených faktorov sme stanovili konečný počet deväť jednotlivcov: Badinyi Juraj, Járossy Ondrej, Kathona Ladislav, Langhoffer Ladislav, Pósch Jozef, Réz Ladislav, Róth Ernest, Szoboszlay Alexander, Šulán Edmund, Šulán Vojtech. Úvodnú pasáž sme vystavali na podklade dvoch elementárnych otázok, ktoré do veľkej miery určili smerovanie práce – akej povahy sú analyzované archiválie a súčasne, do akej miery reflektujú ekonomicko-sociálne postavenie vybranej vzorky osobností mesta?

Tabuľka/biogram č. 1. obsahujúci zistené dáta, archívny výskumom

Meno	Narodenie	Pohlavie	národnosť	Člen okresného Výboru 1923 – 1928	Člen mestskej rady	Člen mestského zastupiteľstva 1919 – 1928	Povolanie	Stranícka príslušnosť
Badinyi Juraj	24. 06. 1882	♂	maďarská				policajný kapitán	KSČ
Járossy Ondrej	01. 09. 1859	♂	maďarská			+	učiteľ	KK-SS
Kathona Ladislav	09. 08. 1864	♂	maďarská	+	+		mestský fiškál	KK-SS
Langhoffer Ladislav	30. 11. 1882	♂	maďarská	+			advokát	Spojená židovská strana
Pósch Jozef	02. 08. 1875	♂	maďarská		+		právnik	
Réz Ladislav	x	♂	maďarská	+			ref. farár	KK-SS
Róth Ernest	x	♂	židovská			+	obchodník	KSČ
Šulán Edmund	13. 11. 1880	♂				+	stolár	KSČ, od roku 1928 ČSDSD
Šulán Vojtech	08. 04. 1884	♂				+	stolár	KSČ

**Zoznam použitej literatúry:****Štátny archív v Košiciach, pracovisko archív Rožňava fondy:**

f. Okresný úrad Rožňava 1923 – 1938

f. MSNV v Rožňave

f. Mestský úrad Rožňava 1923 – 1938

**Literatúra a internetové odkazy:**

TUČEK, Milan a kol. *České elity po patnáctileté transformace*. Praha : Sociologický ústav Akademie věd ČR, 2006s. 10-18.

LÁNSKY, Ondřej – SOCHOR, Lubomír. *Materiály k teorii elit a její kritice*, Praha : Filosofia, 2018, s. 22-6.

TIŠLIAR, Pavol – ŠPROCHA, Branislav. Malé dejiny veľkých akcií: Ščítanie ľudu z roku 1919. In: *Studia historica Nitriensia*. Nitra : Univerzita Konštantína Filozofa Nitre, 2021, s. 113-130.

TIŠLIAR, Pavol. *Okresné zriadenie na Slovensku v rokoch 1918 – 1945*. Krakov : Spolok Slovákov v Poľsku, 2013, s. 23-51.

PEKÁR, Martin. Stav a problémy výskumu regionálnych dejín na Slovensku v rokoch 1989 – 2005. In: ČELKO, Vojtech a kol. *Česko-slovenská historická ročenka*. Brno : Copyright, 2006, s. 89.

LOPATKOVÁ, Zuzana. Kanonická vizitácia – k jej interpretácii, limitom a metodologickým otázkam v historickom výskume. In: FERIANCOVÁ, Alena – GLEJTEK, Miroslav. *Prameň – jeho funkcia, význam, interpretácia a limity v historickom výskume*. Nitra : Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, 2010, s. 69-79.

HOLEC, Roman. Historický prameň a etika (na stole, pod stolom a kdesi inde...). In: *Historický časopis*, roč. 64, 2016, č. 4, s. 597-611.

MEZNÍK, Jaroslav. Etika historikovy práce. In *Český časopis historický*, roč. 97, 1999, č. 4, s. 803-806.

BARTL, Július. *Úvod do štúdia dejepisu*. Bratislava : Univerzita Komenského, 2003, s. 92.

BILECOVÁ, Simona. Formovanie regionálnej politickej elity v rokoch 1923 – 1928 so zreteľom na mesto Rožňava. In: NYKODÝM, Dávid – Šípoš, Dominik, ZVĚŘINA a kol., *České, slovenské a československé dějiny 20. století XVIII*. Hradec Králové : Nakladatelství Univerzita Hradec Králové, 2023, s. 103-113.

BILECOVÁ, Simona. Case study: politická moc ako jeden z nástrojov pri kreovaní regionálnej politickej elity v období župného zriadenia v regióne Rožňava. In: BILECOVÁ, Simona – TRESOVÁ, Monika.

*Moc v dejinách ľudskej spoločnosti, stretnutie mladých historikov XIII*. Košice : Vydavateľstvo Šafárik Press, 2024, s. 42-54. (online) DOI: <https://doi.org/10.33542/MDS-0303-6-4>.

MILLS WRIGHT, Charles. *Mocenská elita*. Praha : Orbis, 1966. 500 s.

SVÁTEK, František. Politické elity v historiografii a politologii: náčrt problematiky ideologie –slova – pojmu elity. In KROUTSKÁ, Ivana – SVÁTEK, František. *Politické elity v Československu 1918 – 1948*. Praha : Ústav pro soudobédějiny AV ČR, 1994. s. 13-33. ISBN 80-85270-35-8.

TAJTÁK, Ladislav. *Dejiny Rožňavy II*. Košice : Východoslovenské vydavateľstvo, 1978. 450 s.

# ZEFEKTÍVŇOVANIE TRESTNÉHO KONANIA INŠPIROVANÉ CIVILNÝMI INŠTITÚTMI

*Streamlining criminal proceedings inspired by civil institutes*

**Matej Biroš**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta*

**Abstrakt:** Trestný poriadok bol rekodifikovaný v roku 2005. Civilný sporový poriadok bol rekodifikovaný v roku 2016. Procesné kódexy prechádzajú sústavným vývojom a novelizáciou, pričom civilné konanie je vo všeobecnosti výrazne viac orientované na efektívnosť. Príspevok identifikuje dva inštitúty zahrnuté v civilnom konaní a ponúka pohľad na ich možnú implementáciu do trestného konania.

**KLúčové slová:** *trestné konanie, civilné konanie, procesné právo, efektívnosť, analógia iuris*

**Abstract:** The Criminal Procedure Code was recoded in 2005. The Civil Dispute Procedure was recoded in 2016. Procedural codes are constantly being developed and amended, while civil procedures are generally significantly more efficiency oriented. The paper identifies two institutes included in civil proceeding and offers an insight into their possible implementation in criminal proceeding.

**Keywords:** *criminal procedure, civil procedure, procedural law, efficiency, analogy iuris*

## Úvod

Súčasný Trestný poriadok (Zákon č. 301/2005 Z. z. Trestný poriadok) ako *lex generalis* trestného konania od rekodifikácie v roku 2005 prešiel vývojom, ktorý sprevádza široká odborná diskusia. Zákonodarca bol po vzniku samostatnej Slovenskej republiky v oblasti normotvorby trestného práva efektívnejší. Rekodifikácia trestného procesného kódexu predchádzala rekodifikácii civilného kódexu o viac ako dekádu. V uvedenom rámci možno považovať Civilný sporový poriadok (Zákon č. 160/2015 Z. z. Civilný sporový poriadok) za modernejší všeobecne záväzný právny predpis. Civilné konanie je už zo svojej povahy efektívnejšie ako trestné konanie a v Civilnom sporovom poriadku je možné identifikovať množstvo implicitných odkazov na požiadavky efektivity. Je teda na mieste úvaha, či by do trestného konania bolo možné prevziať niektoré mechanizmy, ktorými sa zabezpečuje efektívnosť v rámci civilného konania.

Cieľom príspevku je použitím komparácie a analógie identifikovať v Civilnom sporovom poriadku dva vhodné inštitúty, u ktorých je z ich povahy alebo účelu možné kvalifikovane vyhodnotiť, že aspoň čiastočne boli do civilného procesu zákonodarcom zahrnuté z dôvodov, ktoré mali na zreteli efektívnosť civilného konania.

## Stručný historický vývoj trestno-procesného kódexu

Na súčasnom území Slovenskej republiky sa prvý moderný trestno-procesný kódex zaviedol v roku 1873 za čias Rakúsko-Uhorska. Autorom bol vtedajší minister spravodlivosti Július Glaser. Glaserov trestný poriadok, v Rakúsku je jeho podstatná časť v platnosti aj v súčasnosti. Turbulentnejšie politické obdobie konca osemnásteho a prvej polovice devätnásteho storočia prinieslo dynamický vývoj viacerých osobitných trestno-procesných kódexov, ktoré po intenzívnej spoločenskej kritike a schválení novej ústavy z roku 1960 rezultovali v nový Trestný poriadok č. 141/1961 [1.1]. Za častej príbežnej novelizácie, najmä inkorporáciou po roku 1989 vyžadovaných demokratizačných prvkov modernejšieho trestného konania, bol Trestný poriadok z roku 1961 rekodifikovaný až v treťom tisícročí. Poslednou výraznou rekodifikáciou bol zákon č. 301/2005 Z. z. Trestný poriadok, ktorý je v priebežne novelizovanej podobe účinný už viac ako 18 rokov, pričom zákonodarca pristúpil k zmenám najmä s dôrazom na rešpektovanie medzinárodnoprávných záväzkov Slovenskej republiky a moderného vývoja kontinentálneho systému práva a implementáciu mechanizmov smerujúcich k zjednocovaniu s niektorými princípmi Európskej únie [4.1]. Významnými právne-modernizačnými

rozšíreniami Trestného poriadku sú v poslednej dekáde prostredníctvom Zákona č. 312/2020 Z. z. o výkone rozhodnutia o zaistení majetku a správe zaisteného majetku a o zmene a doplnení niektorých zákonov, účelom ktorého podľa dôvodovej správy je, cit.: „*efektívne vyhľadávanie, zaistovanie a odnímanie výnosov z trestnej činnosti a zavedenie jasných a účelných pravidiel pre správu zaisteného majetku a nakladanie s ním*“ [5.11], alebo prostredníctvom Zákona č. 274/2017 Z. z. o obetiach trestných činov pridávajúc k všeobecným zásadám Trestného poriadku novú zásadu, tzv. zásadu poškodeného, ktorá ale podľa kritikov nepriniesla [1.3] poškodenému komplexnú úpravu jeho postavenia, len posilnila jeho procesný status a vytvorila základný normatívny rámec a potrebu ďalšieho upresnenia do konkrétnych procesných práv [2.1].

Následky priebehu trestného procesu, najmä jeho kvalitatívny aspekt a úroveň dodržiavania všeobecne záväzných právnych predpisov, majú významný vplyv na verejný život [1.2]. Trestné konanie sa diferencuje do dvoch častí a to na predsúdnú časť a súdnu časť. Diferenciácia na časti je odôvodnená predovšetkým potrebou v reálnych podmienkach naplniť úlohu trestného konania, pričom obe tieto časti sa odlišujú vo viacerých charakteristických znakoch. Okrem spoločných sa tieto časti líšia aj niektorými odlišnými zásadami, odlišnou štruktúrou subjektov zúčastňujúcich sa v ich priebehu na trestnom konaní a prípadne aj odlišnosťami v ich postavení, hlavne ale v oblasti dokazovania a jeho účinkoch pre naplnenie úlohy trestného konania [4.1]. Súčasnou aplikačnou otázkou a zároveň predmetom skúmania právnej praxe v trestno-procesnej oblasti je posledná novelizácia prostredníctvom Zákona 40/2024 Z. z., ktorým sa mení a dopĺňa zákon č. 300/2005 Z. z. Trestný zákon v znení neskorších predpisov a ktorým sa menia a dopĺňajú niektoré zákony, ktorá významným spôsobom rozšírila pojmové vymedzenie a postavenie podozrivého ako subjektu trestného konania.

## Potenciálne aplikovateľné inštitúty civilných procesných kódexov

Predchádzajúcim procesným kódexom spoločne civilnej a správnej sféry bol zákon č. 99/1963 Zb. Občiansky súdny poriadok. Rekodifikácia Občianskeho súdneho poriadku rezultovala v tri osobitné všeobecne záväzné právne predpisy, konkrétne zákon č. 160/2015 Z. z. Civilný sporový poriadok, zákon č. 161/2015 Z. z. Civilný mimosporový poriadok a zákon č. 162/2015 Z. z. Správny súdny poriadok, všetky spoločne účinné od 1. júla 2016. Uvažujúc časové rozpätie legislatívneho procesu je možné považovať rekodifikáciu Občianskeho súdneho poriadku za modernejšiu ako rekodifikáciu Trestného poriadku, čím vzniká priestor pre štúdium týchto novších procesných noriem ako podkladov pre vyvodenie analógie z hľadiska efektívnosti potenciálne užitočných inštitútov z civilnej a správnej do trestnej oblasti.

Zákonodarca do Civilného sporového poriadku za účelom efektívnosti civilného sporového konania zahrnul okrem iných aj inštitúty predbežného prejednávania sporu a predbežného právneho posúdenia vecí. Inštitút predbežného prejednávania sporu môžeme z hľadiska jeho postavenia v časovej súslednosti konania umiestniť na roveň trestno-procesnému inštitútu preskúmania obžaloby resp. predbežného prejednávania obžaloby, t.j. pred prvé pojednávanie, resp. hlavné pojednávanie. Cit. Civilný sporový poriadok, § 171, ods. 1: „*Ak sa spor nepodarilo vyriešiť zmlerom, súd uloží stranám povinnosti potrebné na dosiahnutie účelu konania, najmä v súvislosti s prípravou pojednávania. Zároveň určí, ktoré skutkové tvrdenia sú medzi stranami sporné, ktoré skutkové tvrdenia považuje za nesporné, ktoré dôkazy vykoná a ktoré dôkazy nevykoná. Súd tiež uvedie svoje predbežné právne posúdenie vecí a predpokladaný termín pojednávania.*“ Inštitút predbežného prejednávania sporu je kľúčovou fázou súdnej časti sporového konania, v ktorej súd identifikuje predmet sporu a tým aj oblasť, ktorá bude predmetom dokazovania [1.3]. Toto *určenie sporných a nesporných skutkových tvrdení zo strany súdu a obligatórne predbežné právne posúdenie vecí sú kľúčovými inštitútmi na zrýchlenie civilného sporového konania, ako aj prostriedkom na predídanie tzv. prekvapivých súdnych rozhodnutí*“ [3.1], ktoré má za cieľ pozitívne ovplyvniť hospodárnosť celého konania. Strany si v dôsledku recepcie deklarovaného súdneho posúdenia niektorých častí skutkového stavu môžu informovane zvoliť, že k niektorým dielčím otázkam, v ktorých s ohľadom na konkrétny záujem strany viac nie je potrebné na súd návrhmi na dokazovanie ďalej vplývať. Z hľadiska ďalšej efektívnosti strany nemusia vlastné dokazovanie smerovať k už nespornej skutočnosti a budú sa ďalej

zaoberať len z hľadiska ich záujmu spornými oblasťami. Predbežné prejednanie sporu je v zmysle § 168 Civilného sporového poriadku fakultatívnym inštitútom, preto je z hľadiska zefektívňovania súdneho konania zaujímavejší už obligatórny inštitút predbežného právneho posúdenia veci, cit. Civilný sporový poriadok, § 181, ods. 2: „*Po úkonoch podľa odseku 1 súd určí, ktoré skutkové tvrdenia sú medzi stranami sporné, ktoré skutkové tvrdenia považuje za nesporné, ktoré dôkazy vykoná a ktoré dôkazy nevykoná. Súd tiež uvedie svoje predbežné právne posúdenie veci. To neplatí, ak tak už postupoval pri predbežnom prejednaní sporu.*“ Z dikcie ukotvenia predbežného právneho posúdenia veci vyplýva, že je tento inštitút naviazaný na inštitút predbežného prejednanie sporu. Tieto dva inštitúty spoločne predstavujú inšpiráciu pre implementáciu podobnej povinnosti sudcu v trestnom konaní. V zmysle druhej hlavy tretej časti trestného poriadku súd po podaní obžaloby obligatórne aplikuje podľa stanovených podmienok buď preskúmanie obžaloby, prípadne za stanovených podmienok fakultatívne predbežné prejednanie obžaloby. Zmyslom týchto inštitútov je hodnotenie podanej obžaloby vykonané súdom, ktoré väčšinou vyústi do nariadenia hlavného pojednávania, avšak za určitých podmienok aj do uplatnenia iného postupu. Na rozdiel od predbežného právneho posúdenia veci v civilnom sporovom poriadku však trestný súd prostredníctvom preskúmania obžaloby, resp. predbežného prejednanie obžaloby neinformuje prokurátora ani obžalovaného o svojom predbežnom názore ani o povahe svojich úvah o skutkových okolnostiach uvedených v obžalobe a už vôbec by tak ani nemohol činiť záväzným spôsobom, nakoľko podľa Trestného poriadku, § 278, časti ods. 2, cit.: „... *súd môže pri svojom rozhodnutí prihliadať len na skutočnosti, ktoré boli prebraté na hlavnom pojednávaní, a opierať sa o dôkazy, ktoré boli na hlavnom pojednávaní vykonané.*“ Súd teda nemôže rozhodovať bez vykonaného dokazovania na hlavnom pojednávaní, preto je pri zvažovaní inštitútu predbežného právneho posúdenia veci dôležité koncipovať tento inštitút spôsobom, aby toto posúdenie nebolo vnímané ako taký úkon súdu, ktorý má povahu rozhodnutia. Predbežné právne posúdenie sa do trestného konania javí ideálne umiestniť bezprostredne hneď po vyhlásení obžalovaného, eventuálne po jeho rozhodnutí nevyužiť toto svoje právo po prednesení obžaloby, aby tento nezáväzný názor súdu nepôsobil na vyhlásenie obžalovaného manipulatívne, ktorý zvyčajne nedisponuje právnym vzdelaním a často nevie v kontexte vyhodnotiť, ktorý z predbežných názorov súdu je možné dokazovaním na hlavnom pojednávaní zmeniť. Aj z tohto dôvodu je na mieste úvaha smerujúca k takej implementácii tohto inštitútu do Trestného poriadku, ktorý s ohľadom na predchádzanie neefektívnym konaniam o otázkach zaujatosti súdu znemožňovala v predbežnom právnom posúdení hodnotiť otázku viny, v opačnom prípade by totiž bola narúšaná prezumpcia neviny. Tak ako v civilnom procese, možnosť poznať predbežný názor súdu na skutkové okolnosti a úvahy, ktoré ho k nemu hodnotením priebehu prípravného konania viedli, môže viesť k posilneniu kontradiktórnosti súdnej časti trestného konania. S uvedeným názorom sa analogicky stotožňuje aj Ústavný súd Slovenskej republiky, cit.: „*Ústavný súd považuje za vhodné dodať, že účelom a zmyslom stanoviska súdu k skutkovým tvrdeniam a navrhovaným dôkazom a jeho predbežného právneho posúdenia veci podľa § 181 ods. 2 CSP je zefektívnenie, zrýchlenie a zjednodušenie sporového konania vrátane prevencie tzv. prekvapivých súdnych rozhodnutí. Svoju povinnosť splní súd tým, že s predmetnými závermi oboznámi osoby prítomné na prvom pojednávaní. Obligatórne určenie sporných a nesporných skutkových tvrdení, vymedzenie predmetu dokazovania a vyslovenie predbežného právneho názoru na vec má zásadný význam pre ďalší procesný postup strán v kontradiktórnom sporovom konaní. Postup súdu je pre strany a ich zástupcov na základe uvedených úkonov predvídateľný a transparentný. Súčasne je však kladený väčší dôraz na zodpovednosť strany za jej vlastnú procesnú aktivitu a za rovnako transparentné substancovanie skutkových tvrdení a dôkazných návrhov. Na tomto mieste je potrebné zdôrazniť, že súd rozhoduje na základe zisteného skutkového stavu (§ 215 ods. 1 CSP) a okrem zákonných výnimiek berie do úvahy iba skutočnosti, ktoré vyšli najavo počas konania (čl. 11 ods. 4 CSP). Sám pritom rozhodne, ktoré z navrhnutých dôkazov vykoná (§ 185 ods. 1 CSP) a pri zisťovaní skutkového stavu vychádza zo zhodných tvrdení strán, ak neexistuje dôvodná pochybnosť o ich pravdivosti (§ 186 ods. 2 CSP).*“ [6.1] Zefektívnenie súdnej časti teda spočíva najmä v tom, že ak sa súčasne súd, prokurátor aj obžalovaný na niektorých skutočnostiach explicitne zhodnú, nemuseli by sa vykonávať ohľadne týchto skutočností dôkazy na hlavnom pojednávaní nad rámec vyšetrovania

vykonaného už v prípravnom konaní. V tejto súvislosti je vhodné poznamenať, že inštitút predbežného právneho posúdenia skutkových okolností sa javí účelným len v trestnom konaní, ktoré je postavené na koncepcii silného prípravného konania. Zároveň ohľadne skutočností, ktoré súd predbežne označí za sporné, prípadne aj oboznámi prokurátora a obžalovaného s úvahami, ktoré ho k takému zatiaľ predbežnému hodnoteniu viedli, by ďalšie dokazovanie mohlo byť efektívnejšie z dôvodu presnejšieho zacielenia dokazovania a argumentácie prokurátora a obžalovaného práve na tieto súdom predbežne vytyčené sporné skutočnosti. Pre strany má praktický význam poznať vnútorný myšlienkový proces súdu, najmä v otázkach, ktoré malo zodpovedať znalecké skúmanie, nakoľko právne posúdenie výstupu zisteného znaleckým skúmaním je štandardne stranám dostupné až v odôvodnení rozsudku.

Ďalším významným rozdielom medzi civilným a trestným konaním v súdnej časti je spôsob, akým konanie spravuje taký priebeh konania, v ktorom je stranou opakovane uplatnený riadny opravný prostriedok proti prvostupňovému rozsudku. Podľa Civilného sporového poriadku, § 390, cit.: „*Odvolačí súd sám rozhodne vo veci, ak (a) rozhodnutie súdu prvej inštancie bolo už raz odvolacím súdom zrušené, vec bola vrátená na ďalšie konanie a nové rozhodnutie a (b) odvolací súd koná a rozhoduje o odvolaní proti novému rozhodnutiu súdu prvej inštancie.*“ z čoho vyplýva, že ak v civilnom procese odvolací súd rozhoduje vo veci opakovane, nemôže vec znova vrátiť na rozhodnutie prvostupňovému súdu, ale musí vo veci meritórne rozhodnúť sám. Tento inštitút Trestný poriadok nepozná, avšak jeho zavedenie v totožnej podobe by mohol mať sankčnú povahu. V trestnom konaní sa rozhoduje o najväznejších zásahoch do práv a slobôd osoby, proti ktorej sa vedie trestné stíhanie, preto by zavedenie všeobecného limitu na dostupný počet odvolaní mohlo mariť právo na účinnú obhajobu. V súlade s účelom trestného konania a jeho zásadami by bolo možné uvažovať o takom implementovaní limitácie počtu odvolaní, ktoré by nemalo generálny charakter, len by sa obmedzilo na rozhodovanie o individuálnych skutočnostiach. Ak by teda odvolanie opakovane smerovalo k posúdeniu tej istej skutočnosti odvolacím súdom, mohol by odvolací súd mať povinnosť rozhodnúť záväzne len o predmetnej skutočnosti a toto rozhodnutie by malo záväzný charakter pre prvostupňový súd, ktorému by odvolací súd stále mohol vrátiť vec na ďalšie konanie. Analogickými úvahami sa zaoberal aj zákonodarca pri vyhlásenom znení Trestného poriadku, ktorý v dôvodovej správe uviedol, cit.: „*K zmenám dôjde aj v odvolacom konaní, kde sa počíta s obmedzením revízneho princípu a benefícia cohaesionis, ale zároveň s posilnením apelačného princípu.*“ Zároveň sa z pohľadu ochrany práv obžalovaného javí vhodné uvažovať o dispozitívnosti predmetného inštitútu vo forme výlučného práva obžalovaného, ktorého využitím by pri opakovanom odvolaní kvôli rovnakej skutočnosti mohol zaviazat' odvolací súd, aby danú právnu skutočnosť posúdil záväzne. Napriek závažným otázkam v zaradení navrhovaného mechanizmu medzi prvky odvolacieho konania je uvažovanie o prevzatí tohto inštitútu v upravenej forme z Civilného sporového poriadku akademicky inšpiratívne a hodné ďalšieho odborného skúmania.

## Záver

Uplatnením vhodných analógií a aplikovaním zásad trestného konania na ich implementáciu do trestného procesu sú dostupné civilné inštitúty, ktorými je možné zefektívniť trestné konanie. V rámci komparatívneho skúmania boli identifikované dva osobitné mechanizmy civilného konania, ktoré je možné v upravenej forme prevziať do súdnej časti trestného konania.

Predbežné právne posúdenie veci súdom by zefektívnilo proces dokazovania v súdnej časti trestného konania, nakoľko by pre strany bolo zreteľnejšie, ktorými úvahami sa do začiatku dokazovania riadil súd pri preskúmaní alebo predbežnom prejednávaní obžaloby. Okrem zefektívnenia by tento inštitút mohol prispieť aj ku kontradiktórnosti.

Striktná limitácia opakovaného odvolania vo všeobecnosti síce pravdepodobne nie je v trestnom konaní pri zachovaní všetkých práv obžalovaného možná a ani žiaduca, avšak špecifická limitácia v rámci posúdenia konkrétnej individuálnej skutočnosti aspoň v dispozitívnej rovine má potenciál zefektívniť konanie aspoň v oblasti opravných prostriedkov.

## Literatúra

### 1. Knižná publikácia (monografia, učebnica, zborník ...)

1. IVOR, I., POLÁK, P., ZÁHORA, J.: Trestné právo procesné I. Všeobecná časť. 2. vydanie. Bratislava: Wolters Kluwer SE s. r. o., 2021, 596 s. ISBN 978-80-571-0332-5.
2. ŠTRKOLEC, M. Zákonnosť v trestnom práve. Bratislava: C. H. Beck, 2022. 224 s. ISBN 978-80-8232-017-9.
3. GEŠKOVÁ, Katarína, Romana SMYČKOVÁ a Jozef ZÁMOŽÍK, 2017. Repetitóriium civilného procesného práva. Prvé vydanie. Bratislava: IURIS LIBRI spol. s r.o. 232 s. ISBN 978-80-89635-31-3

### 2. Príspevok v knihe/zborníku

1. ROMŽA, S. Zásada ochrany práv poškodeného. V zborníku II. Košické dni trestného práva. Právnická fakulta UPJŠ v Košiciach, 2018. str. 147-158. ISBN 978-80-8152-680-0
2. FEDOROVÁ, A.: Aktuálna právna úprava postavenia obete a poškodeného v právnom poriadku Slovenskej republiky. V zborníku II. Košické dni trestného práva. Právnická fakulta UPJŠ v Košiciach, 2018. str. 360-373. ISBN 978-80-8152-680-0

### 3. Článok v časopise

1. BÁRÁNY, E.: Neurčitost' v práve. In: Časopis pro právní vědu a praxi č. 4/2017:599-612, ISSN 1210-9126

### 4. Záverečné a kvalifikačné práce

1. BIROŠ, Matej. Postavenie poškodeného a oznamovateľa v trestnom konaní. [Diplomová práca] Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta, Katedra trestného práva. Košice, 2023, 58 strán.

### 5. Zákony

1. Zákon č. 141/1961 Zb. o trestnom konaní súdnom (trestný poriadok)
2. Zákon č. 99/1963 Zb. Občiansky súdny poriadok
3. Zákon č. 301/2005 Z. z. Trestný poriadok
4. Zákon č. 160/2015 Z. z. Civilný sporový poriadok
5. Zákon č. 161/2015 Z. z. Civilný mimosporový poriadok
6. Zákon č. 162/2015 Z. z. Správny súdny poriadok
7. Zákon č. 274/2017 Z. z. o obetiach trestných činov a o zmene a doplnení niektorých zákonov
8. Zákon č. 312/2020 Z. z. o výkone rozhodnutia o zaistení majetku a správe zaisteného majetku a o zmene a doplnení niektorých zákonov
9. Zákon č. 40/2024 Z.z. ktorým sa mení a dopĺňa zákon č. 300/2005 Z. z. Trestný zákon v znení neskorších predpisov a ktorým sa menia a dopĺňajú niektoré zákony
10. Dôvodová správa k zákonu č. 301/2005 Z. z. Trestný poriadok
11. Dôvodová správa k zákonu č. 312/2020 Z. z. o výkone rozhodnutia o zaistení majetku a správe zaisteného majetku a o zmene a doplnení niektorých zákonov

### 6. Judikatúra

1. Uznesenie Ústavného súdu Slovenskej republiky I. ÚS 643/2022 z 24. 11. 2022



# RODINNÉ FAKTORY VO VZŤAHU K RIZIKOVÉMU SPRÁVANIU DETÍ A MLÁDEŽE

*Family factors in relation to risky behavior of children and youth*

**Simona Čečková, Magdaléna Hovanová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Predkladaný príspevok sa zameriava na teoretické vymedzenie rodinných faktorov, vplyvujúcich na rizikové správanie detí a mládeže. Špecifikuje sa na obdobie dospievania, ktoré je vyznačované snahou dosiahnuť autonómiu a zároveň pretrvávajúcimi silnými vzťahmi s rodičmi. Druhá časť prezentuje návrh projektu výskumu k dizertačnej práci, stanovuje ciele, výskumné otázky aj metodiky.

**KLúčové slová:** *Rodinné faktory. Rizikové správanie. Dospievanie.*

**Abstract:** The presented contribution focuses on the theoretical delineation of family factors influencing the extent of risky behavior among children and youth. It specifies the period of adolescence characterized by the pursuit of autonomy while maintaining strong relationships with parents. The second part presents a research project proposal for a dissertation, outlining its objectives, research questions, and methodologies.

**Keywords:** *Family factors. Risky behavior. Adolescence.*

## Úvod

Cieľom príspevku je predstaviť rámec projektu výskumu k dizertačnej práci. Úvod vymedzuje problematiku rizikového správania v období dospievania a v tomto kontexte identifikuje rizikové a protektívne rodinné faktory. Druhá časť príspevku sa zameriava na návrh projektu výskumu. Definuje výskumné otázky, predpokladaný výskumný súbor aj metodiku.

Rizikové správanie možno označiť za individuálny či skupinový prejav, ktorý zvyšuje možné nebezpečenstvo pre samotných aktérov, ich okolie aj širšiu spoločnosť. Jeho dôsledkom sú sociálne, psychologické, zdravotné, vývinové, fyziologické a ďalšie negatívne zmeny (Dolejš 2010), ktoré kooperujú s kompromisom krátkodobého zisku a potencionálneho negatívneho dôsledku (Orosová 2003). Dominujúce rizikové správanie sa počas vývinu mení. V rámci príspevku ho delíme podľa dotazníka Rizikového správania (Lovašová 2021) na: šikanovanie a delikvenciu; online rizikové správanie; užívanie psychoaktívnych látok; suicidálne a sebapoškodzujúce správanie; rizikové sexuálne správanie; problematické stravovacie návyky; radikalizáciu a extrémistické prejavy. V kontexte budúceho výskumu dizertačnej práce predpokladáme identifikáciu zmien v skúmaných formách rizikového správania u adolescentov. Cieľom bude komplexnejšie analyzovať vybrané rizikové správanie, napr. online rizikové správanie ako jeden druh s viacerými formami (nadmerné používanie internetu, kyberšikanovanie, sexuálny obsah pre neplnoletých, problém súkromia a pod.) a jeho súvislosť s rodinou. (Šmahel 2009). Online prostredie je súčasťou bežného dňa a proti jeho nástrahám je potrebné preventívne zasahovať. Využitelnosť budúceho bádania si vyžaduje poznať a zamerať sa na rizikové správanie preferujúce v danom vývinovom období.

Dospievanie je obdobie, v ktorom prebieha mnoho fyzických a psychických zmien. Je to čas utvárania vlastnej identity a rozhodnutí vplyvujúcich na budúcnosť, ktoré môžeme deliť na obdobie puberty a adolescencie (Verešová 2020). Vágnerová (2012) rozlišuje obdobie pubescencie – 11 až 15 rokov a obdobie adolescencie – 15 až 20 rokov. Dospievajúci si vyberá z možností, definuje seba a svoje ciele. Hľadá rovnováhu medzi túžbou po autonómii, s pretrvávajúcou silnou väzbou k rodičom (McElhaney et al. 2009). Niektoré formy rizikového správania vznikajú v období adolescencie, resp. sú v nej najčastejšie, napr. sebapoškodzovanie, delikventné a kriminálne správanie, látkové a nelátkové závislosti, poruchy príjmu potravy (Šlosár 2020). Z toho hľadiska sa javí efektívne smerovať preventívne aktivity skôr pubescentom, kedy rizikové správanie ešte nemusí byť významne rozvinuté. Je možné ho eliminovať v období charakteristickým experimentovaním s rôznymi

formami rizikového správania. Pubescencia sa v rámci psychického vývinu spája s emočnou labilitou, fázou druhého vzdoru, striedaním nálad, impulzívnym jednaním, nestálosťou (Langmeier 1991). Pubescent má deficit skúseností, jeho rozhodovanie nie je vždy objektívne a správne vyhodnotené, môže byť kritický k učiteľom aj rodičom (Vágnerová 2000). Znižuje sa závislosť na rodičoch a zvyšuje sa význam vrstovníkov (Zusková 2001). Vytvára sa systém hodnôt, na ktorý okrem iného vplýva aj rodina (Šlosár 2020). Podľa Ďurdiaka (2007) je pre pubescentov rizikový vplyv partii a rovesníckych skupín na prehĺbenie rizikového správania.

## **Rizikové a protektívne rodinné faktory vo vzťahu k rizikovému správaniu dospelých**

Rodina v kontexte rizikového správania predstavuje najvýznamnejší protektívny faktor (Macek 2003). Významné interakcie charakteristické pre rodinný systém začínajú detstvom, ale prebiehajú aj neskôr. Citovú väzbou k rodičom a dopady jej narušenia vysvetľuje teória pripútania Bowlbyho (1975). Zaoberá sa ňou mnoho odborných výskumov. (Cassidy et al. 2013; Moretti, Peled 2004; Flaherty, Sadler 2011; Shaw, Dallos 2005) Dieťa má prirodzený pud pripútať sa k osobe, väčšinou matke, resp. k opatrojúcej osobe, načo nadväzujú aj jeho prejavy správania (napr. plač pri vzdialení sa matky a úsmev pri návrate) (Hašto 2005). Reakcie sa menia podľa typu vzťahovej väzby, čo má dopad na ďalší vývin dieťaťa. Bezpečná vzťahová väzba súvisí so znížením angažovanosti zapájať sa do rizikového správania. Okrem toho je spojená s lepším psychickým zdravím, sociálnymi zručnosťami či stratégiami zvládania. (Moretti, Peled 2004) Má významný vplyv na celkový sociálny a emocionálny vývin jednotlivca, ovplyvňuje obdobie dospievania.

V rodinnom prostredí sa formuje dôvera voči sebe aj okoliu, postoj k spoločnosti a preberajú sa modely správania, komunikačné vzory i procesy tvorby vzťahov v sociálnom kontexte. (Šatánek 2004). Rodina poskytuje zázemie, je zdrojom sociálnej opory a pomoci. Reguluje nežiaduce formy správania, ako sú závislosti či patologické prejavy. (Výrost, Slameník 1997) Protektívny je autoritatívny výchovný štýl, kedy rodič vyžaduje spoločensky prijateľné správanie, zároveň je starostlivý a načúva potrebám dieťaťa, komunikuje s ním (Verešová, Tomšík 2019). Dôležitý je rovnako dohľad, ktorým rodič zabezpečuje kontrolu nad aktivitami. Informovaný by mal byť o mieste a spôsobe trávenia voľného času, rovnako o kolektíve. (Rioux 2016). Pre rodiča môže byť náročné nájsť správnu rovnováhu medzi tým, čo je zodpovednosťou dieťaťa a kedy je potreba zasahovať. Konflikt môže viesť k pocitom hnevu a odporu zo strany dieťaťa, hoci cieľ rodiča je zabezpečiť pre dieťa iba to najlepšie.

Rodinu, v ktorej protektívne faktory nie sú funkčné, možno označiť za rizikóvu. Vyznačovať sa môže nasledovnými znakmi: nedostatkom miery sociálnej opory od rodiny; nedostatočným monitoringom a kontrolou nad aktivitami svojho dieťaťa; nefunkčnou komunikáciou. Dynamika vnímaná v rodinnom priestore sa stáva normou, odhliadnuc od toho, či je pozitívna alebo negatívna. Má významný vplyv na formovanie vzťahu k sebe aj okoliu. V kontexte výchovných štýlov je riziková nie len autokratická výchova, ale aj príliš liberálna. Ohrozením môže byť zanedbávanie, na druhej strane i požiadavky na perfekcionizmus (Verešová, Tomšík 2019). Neisté rodinné prostredie, hádky, stres, rozvody, neúplná rodina, užívanie drog rodičmi či staršími súrodencami sú rizikovými faktormi (Wood 2009). Rodina má poskytovať bezpečie, stabilné a ochranné prostredie. Dôsledkom zlyhávania rodiny v tejto funkcii môže byť zhoršenie emocionálneho, fyzického a psychického stavu dieťaťa, čo môže byť ďalší prediktor jeho budúceho rizikového správania.

Vzťah sociálnej práce k spomínanej problematike vidíme v sociálnej práci s rodinou. Dôležitá je intervencia, prioritou by ale mala byť prevencia rizikového správania, posilnenie tých rodinných faktorov, ktoré sú protektívne. Témou medzi odbornou verejnosťou je novela zákona o sociálnych pracovníkoch v školách, ktorá dopĺňa zákon č. 245/2008 Z.z. o výchove a vzdelávaní (školský zákon). Trvalo dlhé obdobie, kým sa presadila podstata a dôležitosť sociálnych pracovníkov v školstve, ale aj v iných oblastiach. Prináša to nový priestor pre sociálnu prácu s rodinou, nové možnosti pomoci dospelým. Na rozdiel od fungujúcich profesionálov v škole sa sociálny pracovník zaoberá celým okolím jedinca – aj rodinou. Za efektívny model považujeme

multidisciplinárnu spoluprácu, ktorá bude klásť dôraz na potreby žiakov, s rešpektom k odborným kompetenciám všetkých členov školského podporného tímu. Predkladaný výskumný projekt by mohol aktuálnymi výsledkami o vzťahu rodinných faktorov na výskyt rizikového správania pomôcť sociálnym pracovníkom pracujúcim nie len v škole, ale aj na iných miestach práce s mládežou. Cieľom dizertačnej práce bude vyskúmať model rodinných faktorov a zamerať sa na preventívne pôsobenie v rodinách. Voči už vzniknutému rizikovému správaniu existuje právny rámec pre prácu s rodinou, ktorý definuje zákon č. 305/2005 Z.z. o sociálnoprávnej ochrane detí a o sociálnej kuratele a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

### Návrh projektu výskumu

Cieľom výskumu dizertačnej práce bude skúmať existenciu vzťahov medzi protektívnymi, rizikovými rodinnými faktormi a ich vplyv na výskyt rizikového správania pubescentov. Ochranné faktory môžu byť zároveň aj predikciou rizikivosti, pričom budeme zisťovať vzťah výchovného štýlu rodiny, mieru sociálnej opory, nastavenie pravidiel a noriem v rodine, závislostné správanie v rodine a rozvodovosť. Zaujímať sa budeme tiež o mieru rodičovskej dôvery, komunikácie a odcudzenia rodičov. Každý faktor môže v rozličnej podobe zvýšiť, resp. znížiť rizikové správanie. Cieľom bude vytvoriť model rodinných faktorov, zistiť ktoré a ako ovplyvňujú rizikové správanie dospievajúcich.

VO1: Aký je vzťah medzi rodinnými protektívnymi faktormi a výskytom rizikového správania dospievajúcich?

VO2: Aký je vzťah medzi rodinnými rizikovými faktormi a výskytom rizikového správania dospievajúcich?

VO2: Aký je vzťah medzi jednotlivými výchovnými štýlmi a výskytom rizikového správania dospievajúcich?

VO3: Aký je vzťah medzi mierou sociálnej opory a rizikovým správaním u dospievajúcich?

VO4: Aký je vzťah medzi pripútačnou väzbou a výskytom rizikového správania u dospievajúcich?

### Výskumný súbor

Pre účely budúceho výskumu využijeme náhodný výber žiakov 2. stupňa základných škôl z Košického a Prešovského kraja. Na základe verejného zoznamu Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky vytvoríme zoznam základných škôl, ktoré sú aktuálne v Košickom a Prešovskom kraji, z nich budeme žrebovať. Vybrané školy kontaktujeme elektronickou, telefonickou resp. osobnou formou. Zriaďovateľmi týchto škôl sú jednotlivé obce a mestá. Prínosom by mohlo byť rozšírenie výskumnej vzorky a to zapojením a porovnaním so súkromnými základnými školami z Košického kraja, ktoré sú zamerané na modernú rešpektujúcu výchovu, využívajúce tvorivý spôsob učenia.

### Metódy

Výskum bude realizovaný prostredníctvom batérie dotazníkov, doplnených o autorské otázky. Prvým bude štandardizovaný dotazník MSPSS – Multidimensional Scale of Perceived Social Support, ktorý publikovali Zimet, Dahlem, Zimet a Farle (1988). Slovenskú verziu validizovali Hovanová, Šišňanská a Tóthová (2024). Dotazník skúma mieru sociálnej opory od jednotlivých zdrojov – rodiny, priateľov a výnimočnej osoby. Je zložený z 12 výrokov, hodnotených sedemstupňovou Likertovou škálou (1 úplne nesúhlasím až 7 úplne súhlasím).

Druhou metodikou bude IPPA (Armsteden a Greenberg 1978), ktorá v pôvodnej verzii meria citovú väzbu k rodičom a rovesníkom, pričom obsahuje 3 faktory: dôveru, komunikáciu a odcudzenie. Spomenuté faktory budeme zisťovať vo vzťahu k rodičom, použitím 25 výrokov hodnotených päťstupňovou Likertovou škálou (1 takmer nikdy alebo nikdy sa to nestáva – 5 takmer vždy alebo vždy sa to stáva). Dotazník v súčasnosti nie je v slovenčine validizovaný. Overenie metodiky

prebehne v rámci predvýskumu, ktorý bude predchádzať hlavnému zberu dát. Predvýskum bude realizovaný na menšom počte respondentov (100-150).

Výchovné štýly ako ďalší protektívny či rizikový faktor skúma Dotazník pre zisťovanie spôsobov výchovy v rodine (Čáp, Boschnek 1994), ktorý obsahuje 40 výrokov. Pri každom sa určuje miera súhlasu zvlášť pre matku a otca. Obsahuje konkrétne zložky výchovy: komponent kladných/záporných citov (emočný vzťah v rodine) a komponent požiadaviek a voľnosti (výhodné riadenie). Na základe hodnotenia výrokov je možné definovať dominujúci výchovný štýl v rodine, či ide o autokratický, liberálny alebo sociálno-integračný výchovný štýl.

Ďalšou časťou bude Dotazník rizikového správania - RSI (Lovašová 2021), ktorý skúma výskyt rizikového správania. Skladá sa z 35 výrokov, ktoré obsahujú 7 foriem rizikového správania: šikanovanie a delikvenciu; online rizikové správanie; užívanie psychoaktívnych látok; suicidálne a sebapoškodzujúce správanie; rizikové sexuálne správanie; problematické stravovacie návyky; radikalizáciu a extrémistické prejavy. Ako sme v teoretickej časti vymedzili, je snaha o zameranie sa na jeden konkrétny druh rizikového správania a jeho formy – online rizikové správanie.

Výskum bude doplnený autorskými otázkami, zameranými na závislostné prejavy rodičov, neúplnosť rodiny a ďalšie demografické údaje.

### **Návrh štatistického spracovania výskumných dát**

Pri spracovaní výsledkov budeme využívať deskriptívnu štatistiku a frekvenčnú analýzu. Na overenie vzťahov medzi jednotlivými premennými použijeme indukčnú štatistiku, konkrétne korelačný výskum. Pomocou regresnej analýzy budeme zisťovať pôsobenie rodinných faktorov na rizikové správanie pubescentov. Výsledky spracujeme v programe SPSS.

### **Záver**

Predpokladáme existenciu viacerých rodinných faktorov, ktoré ovplyvňujú mieru rizikového správania dospievajúcich. Príspevok vymedzuje niektoré z nich (výchovný štýl, mieru sociálnej opory a kontroly rodičov, citovú väzbu rodič – dieťa) a vysvetľuje ich protektívny aj rizikový vplyv. Cieľom bolo prezentovať návrh výskumného projektu k dizertačnej práci, ktorý bude spomínané rodinné faktory overovať, prepájať ich s konkrétnou teóriou sociálnej práce a východiskami sociálnej práce s rodinou v rámci prezentovanej problematiky.

### **Literatúra**

Armsden, G., & Greenberg, M. (1987). The Inventory of Parent and Peer Attachment: Individual differences and their relationship to psychological well-being in adolescence. *Journal of Youth and Adolescence*, 16, 427-454.

CASSIDY, J., J. D. JONES and P. R. SHAVER. (2013). Contributions of Attachment Theory and Research: A Framework for Future Research, Translation, and Policy. *Development and Psychopathology*. 25 (4), s. 1415-1434. ISSN 1469-2198

ČÁP, J. and P. BOSCHEK, 1994. *Dotazník pro zjišťování způsobu výchovy v rodině. Příručka*. Bratislava : Psychodiagnostika

DOLEJŠ, M. 2010. *Efektivní včasná diagnostika rizikového chování u adolescentů*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-2642-6.

ĎURDIAK, Ľ. 2007. *Rodina a voľný čas vo vzťahu k drogovej závislosti*. Pán učiteľ. 2 (9). ISSN 1336-7161.

- FERJENČÍK, J. 2010. Úvod do metodologie psychologického výzkumu. Praha: Portál, s.r.o. ISBN 978-80-7367-815-9.
- FLAHERTY, S. CH. And L. S. SADLER. (2011). A review of attachment theory in the context of adolescent parenting. *J Pediatr Health Care*. 25 (2), s. 114-121.
- HAŠTO, J. (2005). *Vzťahová väzba. Ku koreňom lásky a úzkosti*. Trenčín: Vydavateľstvo F, Pro mente sana s.r.o.. ISBN 80-88952-28-X.
- HOVANOVÁ, M., 2023. *Sociálna opora ako významná súčasť života adolescenta*. Košice: ŠafárikPress. V tlači.
- LANGMEIER, J. 1991. *Vývojová psychologie pro dětské lékaře*. Praha: Avicenum.
- LOVAŠOVÁ, S., 2016. *Sociálna práca: formy, postupy a metódy*. Košice: Katedra sociálnej práce, Filozofická fakulta UPJŠ v Košiciach. ISBN 978-80-8152-386-1.
- LOVAŠOVÁ, S., 2021. *Adolescencia ako obdobie rizika: rizikové správanie v adolescencii a jeho identifikácia*. ISBN 978-80-8152-972-6.
- MACEK, P. 2003. *Adolescence*. Praha: Portál. ISBN 8071787477.
- MCELHANEY, K. B. et al. (2009). Attachment and Autonomy During Adolescence. In: R. M. LERNER and L. STEINBERG (Eds.) *Handbook of adolescent psychology (3rd ed.)*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken. ISBN 978-0-470-14921-8.
- MORETTI, M. M. and M. PELED. (2004). Adolescent-parent attachment: Bonds that support healthy development. *Paediatr Child Health*, 9 (8), s. 551-555.
- OROSOVÁ, O. 2003. *Prevenčia – pomoc – rovesníci alebo „Preventívne nie nepoškodí...“*. *Inovatívne metódy pomoci v prevencii drogových závislostí v školskej praxi*. Košice: UPJŠ.
- OROSOVÁ, O. a kol., 2007. Rizikové faktory užívania drog dospelými. *Československá psychologie*. 51 (1), 32-48. ISSN 0009-062X.
- RIOUX, CH. et al. 2016. The interaction between temperament and the family environment in adolescent substance use and externalizing behaviors: Support for diathesis-stress or differential susceptibility? *Developmental Review*.
- ŠATÁNEK, J. 2004. *Rodinné prostredie ako faktor socializácie a personalizácie osobnosti dieťaťa*. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici Fakulta humanitných vied. ISBN 80-8083-015-0.
- ŠIŇANSKÁ K., M. HOVANOVÁ, L. TÓTHOVÁ, 2023. The Multidimensional Scale of Perceived Social Support: Validation Study of the Slovak version for adolescents. *Cogent education* – v tlači.
- ŠLOSÁR, D. 2020. *Riziko ako sociálna kategória v období adolescencie*. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, ŠafárikPress. ISBN 978-80-8152-899-6.
- ŠMAHEL, D. in: ŠEVČÍKOVÁ a kol. 2014. *Děti a dospívající online. Vybraná rizika používání internetu*. Praha: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-5010-1.
- VÁGNEROVÁ, M. 2012. *Psychopatologie pro pomáhající profese*. Praha: Portál. ISBN 978-80-262-0225-7.

VÁGNEROVÁ, M. *Vývojová psychologie*. Praha: Portál. ISBN 978-80-246-2153-1.

VEREŠOVÁ, M. 2020. *Rizikové správanie dospievajúcich v systéme vyššieho sekundárneho vzdelávania*. Nitra: Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Pedagogická fakulta. ISBN 978-80-558-1623-4.

VEREŠOVÁ, M. a R. TOMŠÍK. 2019. *Rizikové správanie dospievajúcich a výchovné štýly v rodine*. Nitra: PF UFK v Nitre. ISBN 988-80-558-1405-6.

VÝROST, J. a I. SLAMĚNÍK. 1997. *Sociální psychologie – Sociálna psychológia*. Praha: ISV. ISBN 80-85866-20-X.

WOOD, D. 2009. *Patterns of Substance Abuse Among School – Age Children: Clinical Paper*.

ZIMET, G. D., N. DAHLEM, S. ZIMET & G. FARLEY, 1988. The Multidimensional Scale of Perceived Social Support. *Journal of Personality Assesment*, 52(1), 30-41. ISSN 0022-3891

ZUSKOVÁ, K. 2001. Psychický vývin. In: MIKUŠ, M. a kol. *Tréningové štandardy mládeže v hádzanej*. Bratislava: SZH. ISBN 80-968400-4-5.

Zákon č. 245/2008 Z.z. o výchove a vzdelávaní (školský zákon)

# LÁSKA AKO TÉMA V SÚČASNÝCH SLOVENSKÝCH PIESŇOVÝCH TEXTOCH

*Love as a topic in contemporary Slovak song lyrics*

**Andrea Čurošová Gavalcová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Téma lásky a ľúbostných vzťahov patrí medzi najvyužívanejšie v textoch populárnych piesní, čo vyplýva najmä z potenciálu priblíženia sa k poslucháčovi. Prejavuje sa v rozličných variáciách, od vyznání medziľudskej náklonnosti, cez vzťah k prírode, k vlasti, k Bohu až po rozchody a vyjadrenia telesnej túžby. V piesňových textoch, ktoré tematizujú lásku ako hodnotu či ideál, sa často spája s negatívnymi konotáciami. Príspevok prostredníctvom príkladov populárnych piesní slovenských interpretov z rôznych období slovenskej piesňovej tvorby poukazuje na rozptyl variácií analyzovaných tém a ponúka stručný sumár výsledkov analýzy tém súvisiacich s láskou v súčasnej populárnej slovenskej piesňovej tvorbe.

**Príučové slová:** *piesňový text, pieseň, láska, téma.*

**Abstract:** The topic of love and romantic relationships is one of the most used in the lyrics of popular songs, which results mainly from the potential of getting closer to the listener. It manifests itself in various shapes, from confessions of interpersonal affection, through the relationship to nature, to the motherland, to God, up to breakups and expressions of physical desire. In lyrics that thematize love as a value or an idea, it is often associated with negative connotations. The paper points to the dispersion of variations of the analyzed themes through examples of popular songs by Slovak performers from different periods of Slovak songwriting. It also offers a brief summary of the analysis of themes related to love in contemporary popular Slovak songwriting.

**Keywords:** *song lyrics, song, love, topic.*

## Východiská a tradícia lásky v piesňových textoch

Láska patrí medzi najvd'áčnejšie témy v umení. Dalo by sa hyperbolicky povedať, že je kráľovnou všetkých tém. Je bezodnou studnicou inšpirácií a ukrýva v sebe nespočetné množstvo potenciálnych variácií. Nie je preto prekvapením, keď z nej čerpajú aj autori piesňových textov.

Populárne piesne sú súčasťou masmediálnej produkcie, z čoho vyplýva aj jeden z ich najdôležitejších cieľov – zaujatie čo najvyššieho počtu percipientov a z toho vyplývajúci zisk. Pieseň môže okrem príjemnej a chytľavej melódie či pútavého rytmu zaujať aj textom, v praxi populárnej piesne ideálne takým, s ktorým sa poslucháč dokáže stotožniť. Populárna pieseň má poslucháčov z rôznych vekových skupín, primárne však cieľi na mladšie publikum, a to najmä v online streamovacích službách. Témy piesňových textov sa preto často prispôbujú mladším poslucháčom. Okrem rapových piesní, kde prevládajú témy prekonávania životných prekážok a nespokojnosť s usporiadaním okolitého sveta, toto prispôbovanie tém mladším ročníkom zväčša znamená orientáciu na témy lásky a vzťahových problémov.

Podľa Michalca (2010, s. 13) sú pre piesne hitovej produkcie populárnej hudby typické romantizujúce tendencie, ktoré sa prejavujú jednak romantickosťou v hovorovom zmysle slova, teda láskou a dojemnosťou, ale aj „výraznou citovosťou, bojovnosťou, odmietaním a spochybňovaním takmer všetkého, čo sa týka súčasnej spoločnosti“, čo sú motívy typické práve pre hip-hopové žánre, najmä rap. Romantika sa teda tematicky prejavuje aj v hip-hope, len v trochu odlišnej podobe.

Slovenská populárna pieseň v mnohom odkazuje na folklór a čiastočne vychádza z tradície ľudových piesní. Na rozdiel od ľudovej prózy, ktorú interpretovali starší členovia komunity, ľudová pieseň bola vlastná všetkým vekovým kategóriám. Tematicky sa však ľudové piesne zameriavali najmä na témy mladých ľudí, z čoho možno predpokladať aj ich väčšiu zainteresovanosť na ich tvorbe a interpretácii. Medzi ľudovými piesňami preto prevládajú ľúbostné a tanečné piesne a námetové okruhy ako láska a erotika, svadba, tance, regrútsky a vojenský život (Leščák – Sirovátka, 1982, s. 158).

„Láska je hlavnou a prirodzenou témou folklórnej piesne“ (Leščák – Sirovátka, 1982, s. 158) a ostáva aj hlavnou a prirodzenou témou súčasnej populárnej piesne. Zmenili sa však vyjadrovacie prostriedky, ktorými sa táto téma vyjadruje, ale aj okolnosti, ktoré ovplyvňujú podobu vzťahov a ich odraz v piesňových textoch. Napríklad dôvodom rozchodu v ľudovej piesni mohli byť okrem bežných a nadčasových príčin (nevera či „ochladnutie citu“) aj majetkové rozdiely, sociálny status či odchod na vojnu (tamže).

Podľa Petra Libu „v populárnej literatúre autor k dielu nepristupuje ako osobnosť“, nevyjadruje svoje individuálne a jedinečné myšlienky a hodnoty či vlastné interpretácie reality, ale skôr idey ustálené v spoločnosti (1991, s. 116). Výber témy ľúbostných vzťahov či lásky vo všeobecnosti podľa tohto prístupu nevyplýva z autorovej potreby napísať o svojich skúsenostiach, ale z potreby zaujatia poslucháča a uspokojenia jeho poslucháčskych potrieb. V tvorbe piesňových textov sa to prejavuje aj nízkou variabilitou tém, konvenčnosťou, využívaním ošúchaných fráz a kliše. Individuálne prežívanie nahrádzajú frázy, s ktorými sa stotožní čo najviac poslucháčov. „V tematike textov skladieb hitovej produkcie populárnej hudby dominujú štandardizované, všeobecne ladené dejové zápletky, prostredníctvom ktorých sa ľahko uplatňuje identifikačná funkcia hudby“ (Michalec, 2010, s. 13).

### Variácie ľúbostných tém

Pojem láska možno chápať úzko ako ľúbostný medziľudský vzťah, ale aj širšie ako náklonnosť či pozitívny vzťah k niekomu či niečomu. V tomto zmysle môžeme v piesňovej tvorbe pomenovať široký rozptyl tém od lásky k prírode cez lásku k žene/mužovi až po lásku k Bohu či životu ako takému.

Vyjadrenie lásky k prírode či vlasti čiastočne vychádza z piesňovej tradície. Naši predkovia v ľudových piesňach často využívali prírodné motívy a vyjadrovali pozitívny vzťah k prírode, keďže príroda bola úzko prepojená s ich každodenným životom a obživou, prírodné motívy dobre fungovali aj ako symboly a v neposlednom rade ľudia spievali a písali o tom, čo dobre poznali, čiže o svojom blízkom okolí. Vyjadrenie lásky k prírode je často analógiou vzťahu k vlasti, čo sledujeme najmä v starších textoch, napríklad Pavla Braxatorisa z roku 1956: „Najkrajší kút v širom svete je moja rodná zem“ (Dvorský, 1983) či Luboša Zemana: „V dolinách kvitne kvet, ktorý lásku nám dáva... Je to Slovensko čarovné, hrdé / mám ho rád“ (Duchon, 1976). Peterajov text *Horehronie*: „Najkrajšie stromy sú na Horehroní“ (Kristína, 2010) či text *Štítý hôr* Adriany Brúderovej: „Tiché miesta, štítý hôr / Kde necítiš krivdu a bôľ“ (Gladiator, 2022) pracujú zas s analógiou vzťah k prírode = vzťah k sebe samému, resp. so spájaním pobytu v prírode s psychickou pohodou.

Pozitívne psychické rozpoloženie navodzujú aj piesne, ktoré sa tematicky zameriavajú na lásku k životu. Pri tejto téme sa často stretávame s piesňami, ktoré majú poslucháča motivovať k tancu či jednoducho k príjemným pocitom, ako v piesni rapera Ega *Žijeme len raz*: „Toto je moje milované obdobie. / Som v pohode, si tu so mnou, že?“ (Ego, 2012) alebo motivovať k lepšiemu vzťahu so sebou samým ako v Mirgovej texte *Venuša*: „A ty si dokonalá / taká, aká si, nádherná“ (Mirgová, 2023).

So vzťahom k prírode, k životu, ale aj k sebe samému súvisí aj vzťah k životnej filozofii, náboženstvu, vyššiemu princípu či jednoduchšie k Bohu. Náboženské témy sa spravidla vyskytujú najmä v špecifických hudobných subžánroch, napríklad v gospele, môžeme ich však objaviť aj v mainstreamovej populárnej hudbe. Napríklad v texte *Bud' hviezda* Rasťa Kopinu: „Nežným vánkom poštekli mi pery, / do myšlienok vráť mi trocha viery“ (Nocadeň, 2003) alebo Simy Magušinovej *Nenahraditeľná*: „Nechaj sa uprosiť, veď ma máš rád, / nenechaj klopať ma zas d'alsíkrát“ (Martausová, 2019). Vzťah k Bohu býva v populárnych piesňach vyjadrený ambivalentne, teda je



často možné ho interpretovať ako vzťah k človeku. K identifikácii transcendentálnych tém zvyknú pomôcť slová spájajúce sa s náboženskou témou ako napríklad nebo, viera, kríž<sup>28</sup> a podobne.

Láska v slovenských piesňových textoch nie je vždy iba bezproblémová. Časté sú aj témy rozchodov či kríz vo vzťahu, prípadne neopätovanej lásky. V extrémnych prípadoch môže nešťastná láska skončiť samovraždou, ako v texte Igora Timka *Žily*: „Ďakujem ti, že sme spolu žili, / ja preťal som si žily“ (No Name, 2000) alebo dokonca vraždou ako v texte *Vetroň* Martina Žúžih: „S priateľkou som sa nezhodol, / tak som ju zavraždil“ (Hex, 1997). V tvorbe kapely Hex nájdeme aj iné problematiku podoby lásky, ako napríklad sledovanie nič netušiaceho objektu záujmu v texte *Každý deň je nedeľa*: „A s prvou rannou kávou / pozerám ti do okien“ (Hex, 1999). Bežnejšími sú však vyjadrenia sklamaní či smútku po rozchode: „Zabudla si mi dať návod, / ako mám bez teba žiť“ (Desmod, 2017) alebo riešenie problémov a rozdielov medzi aktérmi ľúbostného vzťahu ako v texte Vlada Krausza *Budeme to stále my*: „A kľukatá cesta s rovnou, / ja s tebou a ty so mnou“ (IMT Smile, 2018).

Láska ako téma sa v slovenských piesňových textoch prejavuje mimoriadne často v podobe vyznaní, ktoré môžu byť vyjadrené explicitne, ako napríklad v texte Barbary Haščákovej *Anjel II*: „Ja ťa ľúbim, stále ľúbim viac a viac“ (MC Erik a Barbara, 1995), alebo opisnejšie ako v texte Vlada Krausza *Nelutujem*: „Každú z minút chcem s tebou minúť“ (Đurica, 2015), resp. kombináciou ako v texte Borisa Lettricha *Krásne krásna*: „Vzduch, ktorý dýchaš ty / mi zmenil svet, preto ťa milujem“ (Bezdeda, 2006).

S medzilidským ľúbostným vzťahom sa prepája aj téma fyzickej lásky, resp. vyjadrenie telesnej túžby po druhom človeku. Nejde pri tom o novú tému, erotika je prítomná aj v ľudovej piesni. Súčasné texty tieto motívy vyjadrujú často priamejšie či explicitne, v rámci mainstreamovej populárnej hudby však bez vulgárnych vyjadrení. Ako príklad uvádzame text Tiny *Viem, že povieš áno*: „A ochutnám ťa celého, / viem, aký máš byť tam.“ (Tina, 2006) a text Mira Juriku *Mám na teba chuť*: „Stále viac mi chýbaš, / príd' a rýchlo rob, čo vieš. / Zvádžaj, zrádžaj, skús ma, / ja ťa túžim skúsiť tiež“ (Team, 2002). Tému fyzickej lásky vystihol metaforicky Kamil Peteraj v piesni *Modlitba lásky*: „Modlitba lásky bud' me ňou, / nahí a krásni aj bez slov“ (Grigorov, 1992).

### **Keď je láska témou**

V textoch populárnych piesní sa často tematizuje láska ako taká, ako hodnota či ideál, ku ktorému vzhliadame. Podľa Libu (1991, 38 – 39) texty populárnej literatúry, ku ktorým piesňového texty patria, charakterizuje tzv. „metafora lacného ideálu“, ktorá je symbolom „harmónie, mravného imperatívu, kladného vzťahu k realite, utvrdzovaním jestvujúcich spoločenských vzťahov a podobne“. Mainstreamový piesňový text ako súčasť popkultúry tak supluje funkcie vysokého umenia či umeleckej literatúry, ktoré reflektujú tzv. veľké témy, ako je dobro, zlo, pravda, hrdinstvo či v neposlednom rade láska a priateľstvo (Malíček, 2012, s. 82).

Všeobecné pravdy o láske môžu niekedy znieť ako prázdne klišé, najmä ak ich využívajú neskúsení textári, sú však súčasťou tvorby aj tých najuznávanejších textárov či básnikov. Napríklad v zhudobnenej básni *Jesenná láska* od Miroslava Válka sa dozvedáme, že: „[I]láska je strašne bohatá, / láska tá všetko sľúbi. / No ten, čo ľúbil, sklamal sa / a ten, čo sklamal, ľúbi“ (Žbirka, 1988). Boris Filan v texte *Amnestia na neveru* konštatuje: „Vie to aj piatačik, vie to riaditeľ školy, / že láska občas tak nádherne bolí. / Miluje dotyky, tance a gestá, / neverných odmení a verných trestá“ (Elán, 1994). Kamil Peteraj zas text, v ktorom vymenúva najmä temné stránky ľúbostného citu, nazval *Láska*: „Láska, dá čo nedá ti. / Láska, tá pravdu vráti. / Láska, máš ju, keď ju nemáš“ (Palonder, 1992). Juraj Babulic použil rovnaký názov pre pieseň, v ktorej sa subjekt zamýšľal nad dostupnosťou lásky na základe vlastného sklamaní: „V obchodoch sa nedá kúpiť, / v domoch lásky ponúknu ti iba falošnú...Prečo láska nie je ako šťastie...“ (Gladiator, 2022).

<sup>28</sup> Využitie týchto a podobných slov však takisto nemusí znamenať priamy odkaz na náboženstvo či Boha. Často sa s nimi (nielen) v piesňových textoch stretávame v kontexte bez náboženských konotácií.

Spomenuté piesne patria medzi tie najznámejšie a najpopulárnejšie zo slovenskej populárnej hudby, napriek tomu alebo možno práve preto, že v konštatovaní všeobecných právd o láske prevažujú negatívne konotácie, ktoré vychádzajú z negatívnej skúsenosti lyrických subjektov. Podobne melancholicky je ladený aj text Borisa Filana *Lovesong*: „Láska je mánotratný úžerník, / rozdáva chvíle, ale žiada dni“ (Habera, 1993). Sú však aj populárne piesne, ktoré zameriavajú pozornosť na pozitívne stránky lásky, napríklad *V slepých uličkách* Kamila Peteraja: „Ak ju nosíš v tvári, krajšej tváre niet“ (Žbirka, 1980). Peter Nagy vo svojom texte *Láska je tu s vami* pracuje okrem lásky aj s ďalším ľudským ideálom a tým je komunita alebo solidarita. „Veď láska nenosí nikdy žiaden nápis, / rozdá sa pre všetkých, s tým sa darmo trápiš“ (Nagy, 1986).

Témou piesňového textu sa môže stať aj určitý špecifický typ ľúbostného citu. Napríklad *Krátke lásky* Daniela Heviera: „Krátke lásky sú tie najdlhšie, / nikto nikdy ešte pred nimi neušiel“ (Team, 2000) alebo *Študentská láska* Kamila Peteraja: „Až je zrazu celé mesto svieže / z bojzlivej lásky študentskej“ (Gombitová, 1978).

### Zastúpenie lásky v súčasnej slovenskej piesňovej tvorbe

V rámci výskumu k dizertačnej práci sme analyzovali tematické zameranie najhranejších piesní slovenských interpretov<sup>29</sup> v slovenskom éteri za ostatných deväť rokov. Predmetom skúmania bolo konkrétne sto najhranejších piesní rokov 2015<sup>30</sup> až 2023 podľa verejne dostupných štatistík Medzinárodnej federácie fonografického priemyslu.

Zo stovky analyzovaných piesní bolo šesťdesiatšesť zameraných primárne na tému lásky a ľúbostných vzťahov, pričom aj pri ďalších by sa dali identifikovať aspoň ľúbostné motívy. Zo šesťdesiatich siedmich piesňových textov o ľúbostných vzťahov sa sedem zameriavalo skôr na fyzický aspekt lásky. V dvoch analyzovaných textoch sa prejavili náboženské motívy, štyri texty sa tematicky zamerali na vzťah človeka k prírode, resp. vzťah k vlasti. V šesnástich textoch sme identifikovali motívy pozitívneho vzťahu k životu a sebe samému, pričom najviac z týchto pozitívne až motivačne ladených piesní prislúchalo roku 2023.

### Záver

Láska je prirodzeným tematickým zameraním populárnej piesne. Jej dominanciu sme priblížili prostredníctvom čiastočných výsledkov analýzy súčasných najhranejších slovenských piesní a jej nadčasovosť zas príkladmi využitia v piesňovej tvorbe naprieč rokmi existencie slovenskej populárnej hudby. Vo svojej zdanlivej konvenčnosti a jednotvárnosti v sebe téma lásky ukrýva pestrosť variácií prístupov a motívov.

### Literatúra

MALÍČEK, Juraj, 2012. Popkultúra: Návod na použitie. Nitra: Filozofická fakulta Univerzity Konštantína Filozofa v Nitre. ISBN 978-80-558-0204-6.

MICHALEC, Milan, 2010. Klasicko-romantické a libidinózne tendencie v hitovej produkcii populárnej hudby. In: *Musicologica*. [online]. [cit. 2024-03-24]. 2010, č. 1. Dostupné na internete: <http://www.musicologica.eu/klasicko-romanticke-a-libidinozne-tendencie-v-hitovej-produkcii-popularnej-hudby/>. ISSN 1337-9070.

LEŠČÁK, Milan – SIROVÁTKA, Oldřich, 1982. *Folklór a folkloristika*. Bratislava: Smena.

LIBA, Peter, 1991. *Literatúra a folklór*. Nitra: Pedagogická fakulta v Nitre. ISBN 80-85183-35-8.

<sup>29</sup> Kritériom zaradenia piesne do výberu bola národnosť hlavného interpreta. Do výberu sa preto dostali aj piesne v anglickom či čiastočne v českom jazyku.

<sup>30</sup> Webové stránky IFPI majú zverejnené rebríčky od roku 2015.

## Pramene

Rebríčky a hitparády: SK - RADIO - TOP 50 SK. In: Medzinárodná federácia fonografického priemyslu [online]. [cit. 2023-03-30]. Dostupné na: <<https://ifpicr.cz/hitparada>>

Adam Ďurica. 2015. Neľutujem. In: Mandolína [hudobný album]. Slovensko: Universal Music.

Desmod. 2017. Chýbanie. In: Molekuly zvuku [hudobný album]. Slovensko: Desmod s.r.o..

Dominika Mirgová. 2023. Venuša. In: Wonder Woman [hudobný album]. Slovensko: Talizman s.r.o..

Ego. 2012. Žijeme len raz. In: Žijeme len raz (Mixtape) [hudobný album]. Slovensko: Tvoj Tatko Records.

Elán. 1994. Amnestia na neveru. In: Hodina angličtiny [hudobný album]. Slovensko: BMG Ariola.

Gladiator. 2022. Štítý hôr. In: Štítý hôr [hudobný album]. Slovensko: Universal Music.

Hex. 1997. Vetroň. In: Ultrapop [hudobný album]. Slovensko: Bonton.

Hex. 1999. Každý deň je nedeľa. In: Supermarket [hudobný album]. Slovensko: Bonton.

IMT Smile. 2018. Budeme to stále my. In: Budeme to stále my [hudobný album]. Slovensko: Universal Music.

Karol Duchoň. 1976. V slovenských dolinách. In: V slovenských dolinách [hudobný album]. Československo: Opus.

Kristína. 2010. Horehronie. In: Horehronie [hudobný album]. Slovensko: H.o.M.E. Production.

Marcel Palonder. 1992. Láska. In: Cudzinec v tvojom srdci [hudobný album]. Československo: Opus.

Marika Gombitová. 1978. Študentská láska. In: OPUS '78 [hudobný album]. Československo: Opus.

MC Erik a Barbara. 1995. Anjel II. In: U Can't Stop (96 version) [hudobný album]. Slovensko: Polydor Records.

Miroslav Žbirka. 1980. V slepých uličkách. In: Doktor sen [hudobný album]. Československo: Opus.

Miroslav Žbirka. 1988. Jesenná láska. In: Zlomky poznania [hudobný album]. Československo: Opus.

Nocadeň. 2003. Buď hviezda. In: Katarzia [hudobný album]. Česko: BMG.

No Name. 2000. Žily. In: Počkám si na zázrak [hudobný album]. Slovensko: Universal Music.

Pavol Habera. 1993. Lovesong. In: Fontána pre Zuzanu 2 [hudobný album]. Slovensko: Tommü Records.

Peter Dvorský. 1983. Pieseň o rodnej zemi. In: Pieseň o rodnej zemi [hudobný album]. Československo: Opus.

Peter Nagy. 1986. Láska je tu s vami. In: Myslíš na to, na čo ja? [hudobný album]. Československo: Opus.

- Robo Grigorov. 1992. Modlitba lásky. In: Chýbaš mi... [hudobný album]. Slovensko: Slovart Records.
- Sima Martausová. 2019. Nenahraditeľná. In: Len tak sa stíšim [hudobný album]. Slovensko: Moja Muzika.
- Team. 2002. Mám na teba chuť. In: Team 8 – Mám na teba chuť :-) [hudobný album]. Slovensko: Universal Music.
- Team. 2000. Krátke lásky (sú tie najdlhšie). In: Team 7 – 7edem [hudobný album]. Slovensko: Forza.
- Tina. 2006. Viem, že povieš áno. In: Chillin [hudobný album]. Slovensko: EMI.
- Tomáš Bezdeda. 2006. Krásne krásna. In: Ostrov [hudobný album]. Slovensko: Spinaker.

# ZÁKON O SLOBODNOM PRÍSTUPE K INFORMÁCIÁM VS. VŠEOBECNÉ NARIADENIE O OCHRANE ÚDAJOV: PRÁVNE KOLÍZIE A APLIKAČNÉ PROBLÉMY V PRAXI OBCÍ

*Act on free access to information vs. General data protection regulation: legal conflicts and application problems in the practice of municipalities*

Viktória Ferková

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Fakulta verejnej správy*

**Abstrakt:** Príspevok sa zameriava na komparáciu právnych nástrojov a možné aplikačné problémy pri uplatňovaní práva na prístup k informáciám a práva na ochranu osobných údajov v praxi obcí. Cieľom príspevku je zanalyzovať právne a praktické aspekty oboch legislatívnych nástrojov a poukázať na hlavné právne kolízie a aplikačné problémy, ktoré vznikajú pri dodržiavaní požiadaviek na ochranu údajov a zabezpečovaní slobodného prístupu k informáciám.

**KLúčové slová:** *infozákon, infožiadosť, GDPR, osobné údaje, obec*

**Abstract** The contribution focuses on the comparison of legal instruments and possible application problems in the application of the right to access to information and the right to the protection of personal data in the practice of municipalities. The aim of the contribution is to analyze the legal and practical aspects of both legislative instruments and to point out the main legal conflicts and application problems that arise when complying with data protection requirements and ensuring free access to information.

**Keywords:** *information act, information request, GDPR, personal data, municipality*

## Komparácia právnych úprav ochrany osobných údajov a slobody informácií

Za účelom vykonávania ústavného práva na slobodný prístup k informáciám bol prijatý zákon č. 211/2000 Z. z. o slobode informácií a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov (ďalej len „infozákon“). Infozákon je založený na základnom princípe „čo nie je tajné, je verejné“, na základe ktorého majú byť zo strany povinných osôb sprístupňované všetky informácie okrem tých, ktoré sú vylúčené zákonom (Wilfling, 2012). Povinnosť sprístupňovať informácie podľa infozákona majú tzv. povinné osoby. Kategórie subjektov, ktoré sú povinné sprístupňovať informácie vymedzuje infozákon v ustanovení § 2, v zmysle ktorého sú povinnými osobami aj obce a mestá Slovenskej republiky a v Bratislave a Košiciach aj mestské časti (VSSR, 2018). Infozákon je vyjadrením zásady otvorenosti verejnej správy, avšak komplexne nestanovuje rozsah informácií, ktoré môžu občania žiadať od povinných osôb. Vo všeobecnosti sa vychádza z pravidla, že povinné osoby sprístupňujú informácie, ktoré majú k dispozícii v prípade, že to neznemožňujú iné obmedzenia alebo skutočnosti (Transparency International, 2018). Právo na informácie môže byť obmedzené len na základe osobitného predpisu spôsobom, ktorý infozákon ustanovuje.

Medzi právom na ochranu osobných údajov a právom na slobodný prístup k informáciám existuje hodnotový a právny nesúlad. Cieľom práva na ochranu osobných údajov je ochrana informačnej integrity jednotlivcov a cieľom práva na informácie je Ústavou Slovenskej republiky garantovaná podpora občanov v participácii na správe vecí verejných. Limity nesúladu týchto právnym poriadkom chránených hodnôt sú regulované troma východiskovými právnymi predpismi: *Nariadením Európskeho parlamentu a Rady ochrane fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov (všeobecné nariadenie o ochrane údajov – nariadenie GDPR), zákonom č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov a o zmene a doplnení niektorých zákonov a zákonom č. 211/2000 Z. z. o slobodnom prístupe k informáciám a o zmene a doplnení niektorých zákonov (zákon o slobode informácií)*. Z dôvodu rozporov medzi ochranou osobných údajov a slobodným prístupom k informáciám sa v praxi stretávame s pomerne veľkým množstvom problémových postupov a nedorozumení. Obce a mestá sú povinné naraz dodržiavať všetky tri právne predpisy. Na jednej strane vystupujú podľa zákona o slobodnom prístupe k informáciám ako povinné osoby, ktoré majú byť otvorené sprístupňovaniu

informácií, na strane druhej musia ako prevádzkovateľ osobných údajov pri spracúvaní osobných údajov predmetné údaje chrániť.

Požiadavku na dodržiavanie rovnováhy medzi vyššie spomenutými predpismi možno nájsť v samotnej Ústave Slovenskej republiky. Článok 26 ods. 1 zaručuje slobodu prejavu a právo na informácie. Ústavnoprávne medze sú vyjadrené v ods. 4 tohto článku, podľa ktorého je možné v prípade použitia opatrení demokratickej spoločnosti nevyhnutných na ochranu práv a slobôd iných, verejného poriadku, verejného zdravia alebo mravnosti či bezpečnosti štátu, zákonom obmedziť právo vyhľadávania a šírenia informácií a rovnako aj právo na slobodu prejavu. Podľa článku 19 Ústavy platí, že každý jednotlivец má právo na rešpektovanie ľudskej dôstojnosti, dobrej povesti, osobnej cti, na ochranu mena, na ochranu pred neoprávneným zasahovaním do rodinného a súkromného života, právo na ochranu pred neoprávneným zhromažďovaním, zverejňovaním alebo iným zneužívaním údajov o svojej osobe. (ZMOS, 2020)

Účelom GDPR je zaistiť vysokú a konzistentnú úroveň ochrany fyzických osôb a rovnako aj odstrániť prekážky tokov osobných údajov v rámci Európskej Únie. GDPR poskytuje transparentnosť, právnu istotu a rovnakú úroveň vymožitelnosti práv pre fyzické osoby vo všetkých členských štátoch. Úroveň ochrany práv a slobôd fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov by tak mala byť v zmysle nariadenia rovnaká vo všetkých členských štátoch. Ochrana poskytovaná nariadením vo vzťahu ku spracúvaniu osobných údajov sa vzťahuje na fyzické osoby bez ohľadu na ich štátnu príslušnosť alebo miesto bydliska. Nariadenie a zákon o ochrane osobných údajov majú predovšetkým posilniť právo dotknutých osôb na prístup k ich osobným údajom a chrániť podmienky spracúvania týchto údajov. GDPR je priamo aplikovateľné a vykonateľné vo všetkých členských štátoch Európskej únie, bez ohľadu na to, či naň nadväzuje národná právna úprava ochrany osobných údajov. Z dôvodu, že sa Nariadenie nevzťahuje na všetky spracovateľské operácie a vymedzenie hranice, ktoré činnosti sú alebo nie sú regulované právom Európskej únie nie je jednoznačne určené, Slovenská republika harmonizovala národnú právnu úpravu s GDPR prijatím zákona č. 18/2018 Z. z. (Hudecová, 2020).

Zákon o slobodnom prístupe k informáciám je doménou národného práva a prostredníctvom neho sa realizuje ústavné právo na informácie. Jeho nositeľom sú podľa článku 26 ods. 4 Ústavy Slovenskej republiky všetky fyzické alebo právnické osoby (vrátane cudzincov, ak nie sú výslovne priznané iba štátnym občanom Slovenskej republiky). Z ustanovenia § 9 infozákona zároveň vyplýva, že osobné údaje patria medzi informácie, ktoré sa nesprístupňujú.

### **Infožiadosti týkajúce sa osobných údajov alebo súkromia podľa § 9 infozákona**

Pri podávaní tohto typu infožiadostí je podstatné, aby mala obec vedomosť o tom, či jej plynie základná 8 dňová lehota na sprístupnenie informácií. V procese vybavovania infožiadosti musí obec zistiť odpovede na základné otázky (či bola žiadosť podaná spôsobom predpokladaným infozákomom, či ide o podanie, ktoré vyvoláva účinky voči povinnej osobe) a či spĺňa náležitosti žiadosti o informácie). Ak obec skonštatuje, že sú dodržané všetky podmienky, mala by začať s vyhľadávaním a zhromažďovaním požadovaných informácií a identifikáciou nosičov informácií, na ktorých sa požadované informácie nachádzajú. Osobitne v tejto fáze musí obec dbať na to, aby sprístupnením informácie nezasiahla do práv garantovaných článkom 19 Ústavy.

Ak má obec vyžadované informácie k dispozícii, musí zvážiť či ide o:

- a) informácie, ktoré sa dotýkajú súkromia fyzickej osoby,
- b) informácie, ktoré sa dotýkajú osobnosti fyzickej osoby,
- c) písomnosti osobnej povahy,
- d) obrazové snímky,
- e) podobizne,
- f) zvukové a obrazové záznamy týkajúce sa fyzickej osoby alebo prejavov osobnej povahy tejto fyzickej osoby.

Ak obec zistí, že infožiadosť smeruje k informáciám, ktoré sa môžu podľa § 9 infozákona dotýkať súkromia, mala by preveriť či disponuje niektorým z právnych základov na sprístupnenie informácií, ktorými sú:

- a) existencia osobitného zákona, ktorý ustanovuje, že sa majú informácie sprístupniť,
- b) existencia súhlasu blízkej osoby, ak už dotknutá osoba nežije (nie je rozhodujúce či je blízka osoba dedičom dotknutej osoby),
- c) existencia predchádzajúceho písomného súhlasu dotknutej osoby (obec musí zorganizovať získavanie súhlasu tak, aby sa dotknutá osoba vyjadrila či dáva obci súhlas na poskytnutie informácií najneskôr v siedmy pracovný deň od podania žiadosti. Ak by obec predĺžila lehotu pri získavaní súhlasu, dopustila by sa porušenia infozákona a to aj v prípade, že by obec sprístupnila informácie po doručení súhlasu od dotknutej osoby - išlo by o tzv. fiktívne rozhodnutie).

Avšak súhlas dotknutej osoby so sprístupnením osobných údajov nie je vždy nevyhnutný. Možno pri tom vychádzať z § 9 ods. 3 infozákona, v ktorom je zakotvený princíp prevažujúceho verejného záujmu. Podľa tohto ustanovenia povinná osoba na základe infožiadosti sprístupní informácie o verejnej činnosti a platových pomeroch vedúcich zamestnancov, verejných činiteľov alebo osôb podieľajúcich sa na rozhodovaní o verejných prostriedkoch. V samospráve ide napríklad o osobné údaje primátorov starostov, prednostov obecných úradov, poslancov obecného zastupiteľstva, vedúcich zamestnancov realizujúcich práce vo verejnom záujme (riaditeľ odboru, vedúci oddelenia a pod.), členov hodnotiacej komisie či iného obdobného orgánu (napríklad člen komisie pre výber ponuky vo verejnom obstarávaní), ktorí participujú na procese rozhodovania o použití verejných prostriedkov obce alebo mesta. (Wilfling, 2012) Okrem ustanovenia § 9 ods. 3 infozákona existujú ďalšie dva právne základy pre obce a mestá, ktoré umožňujú zverejnenie informácie aj napriek tomu, že sú jej súčasťou osobné údaje. Oba právne základy sa dotýkajú povinného zverejňovania informácií obcou a sú nimi proaktívne zverejňovanie informácií podľa § 5 a údaje o faktúrach a objednávkach podľa § 5b (ZMOS, 2020).

Vždy je nevyhnutné osobitne skúmať prípad od prípadu, ale v momente keď je osoba identifikovateľná ide o osobný údaj a je potrebné postupovať podľa predpisov o ochrane osobných údajov. Napríklad meno a priezvisko sa teda pokladajú za osobné údaje vtedy, ak je prostredníctvom nich fyzická osoba priamo alebo nepriamo identifikovateľná. Za osobný údaj možno pokladať pracovný email, pretože obsahuje informáciu o mene a priezvisku a rovnako aj informáciu o zamestnávateľovi alebo tiež osobný údaj/označenie fyzickej osoby ako starosta alebo primátor, pretože aj keď nie je uvedené meno a priezvisko, nepriamo sa fyzická osoba dá týmto oslovením identifikovať.

V prípade, že obec ako povinná osoba nedodrží limity ustanovené § 9 infozákona, dotknutá osoba sa môže argumentujúc textom Ústavy domáhať ochrany kvôli neoprávnenému zasahovaniu do jej súkromia alebo neoprávnenému zverejňovaniu jej informácií. Obec by sa v tomto prípade dopustila porušenia infozákona a zároveň aj porušenia spracúvania osobných údajov. Dotknutá fyzická osoba by na základe toho mohla voči obci vyvodiť zodpovednosť podľa Občianskeho zákonníka. Ak by obec by sprístupnila informácie, ktoré sa dotýkajú osobnosti dotknutej fyzickej osoby, išlo by o aktívny zásah do práva na ochranu osobnosti. Právo na ochranu osobnosti môže byť zasiahnuté aj pasívnym konaním (tzn. opomenutím). Ak obec poruší právo dotknutej osoby, tak má táto osoba právo domáhať sa upustenia od neoprávnených zásahov do jej práv a odstránenia následkov týchto intervencií. Dotknutá osoba má tiež po takomto neoprávnenom zásahu nárok na primerané zadosťučinenie.

Aj v prípade, že infožiadosť smeruje k informáciám týkajúcich sa osobných údajov, resp. ak sú medzi požadovanými informáciami aj informácie, ktoré sa týkajú osobných údajoch fyzickej osoby spracúvaných v informačnom systéme, obec nemôže odmietnuť sprístupnenie všetkých požadovaných informácií (napr. celého dokumentu kvôli tomu, že obsahuje osobné údaje). Tieto informácie iba vylúči. Keďže v infozákone nie je bližšie upravený spôsob vylúčenia osobných

údajov. Aplikujú sa ustanovenia zákona o ochrane osobných údajov (§ 8 a §11). Obec musí podľa zákona spracúvať osobné údaje spôsobom, ktorý na základe využitia primeraných technických a organizačných opatrení zaručí adekvátnu bezpečnosť osobných údajov vrátane ochrany pred neoprávneným a nezákonným spracúvaním osobných údajov, ich náhodnou stratou, vymazaním alebo poškodením. (ZMOS, 2020)

### **Zabezpečenie ochrany osobných údajov pri podávaní žiadosti o informácie**

Obec ako povinná osoba pre ochranu osobných údajov musí zabezpečiť, aby nebolo možné priradiť ku konkrétnej fyzickej osobe jej osobné údaje. V praxi obcí sa preto odporúča prekrytím alebo začiatením znečitateľniť text na papieri, resp. oxeroxovaním vystrihnúť hlas z audiovizuálneho záznamu (anonymizácia). Samosprávne jednotky sú oprávnené zverejňovať iba osobné údaje v rozsahu titul, meno, priezvisko, adresa trvalého pobytu. Ostaté osobné údaje sa musia v každej časti dokumentu a príloh zamazávať. Obce a mestá sú pri zamazávaní povinné dodržiavať zásadu integrity a dôvernosti, čo znamená, že si musia dávať pozor, aby nepoužili automatizovaný spôsob, ktorý na prvý pohľad bude pôsobiť, že osobné údaje sú zamazané, ale keď sa v zverejnenom dokumente skopíruje nečitateľný text, osobné údaje sa opätovne objavia (išlo by o porušenie predpisov o ochrane osobných údajov)

Avšak ak obec žiadateľovi o informácie nesprístupní všetky vyžadované informácie, je podľa § 18 ods. 2 infozákona povinná o nesprístupnení informácií vydať písomné rozhodnutie doručené do vlastných rúk. Rozhodnutie musí zároveň obsahovať základné náležitosti stanovené Správnym poriadkom (výrok, odôvodnenie, poučenie o odvolaní). Nestačí, že sa do obálky vloží papier so znečitateľným textom obsahujúcim anonymizované osobné údaje. Považujeme za potrebné podotknúť, že odôvodnenie nemôže obsahovať iba konštatovanie, že sú požadované informácie chránené zákonom o ochrane osobných údajov. Obec musí vysvetliť, prečo požadovaná informácia - osobný údaj spadá pod ochranu príslušnými ustanoveniami zákona o ochrane osobných údajov a akými úvahami sa pritom obec riadila. (ZMOS, 2020)

Pri vybavovaní žiadostí o informácie v niektorých prípadoch povinné osoby zvažujú, či požadované informácie poskytnúť alebo či vzhľadom na ochranu osobných údajov žiadosť odmietnuť. Dôležitým ustanovením z hľadiska ochrany osobných údajov je § 9, ktorý ustanovuje, že informácie týkajúce sa osobnosti, prejavov osobnej povahy, súkromia fyzickej osoby a osobných údajov poskytne povinný subjekt len v súlade s právnymi predpismi upravujúcimi ich ochranu (v súčasnosti predovšetkým v súlade s GDPR). Infozákon teda odkazuje v § 9 na zvláštnu právnu úpravu, avšak GDPR žiadny explicitný zákaz poskytovania informácií de facto neobsahuje. Základný právny rámec pre spracúvanie (a teda aj sprístupnenie) osobných údajov je uvedený predovšetkým v článku 6 GDPR, v ktorom sú uvedené jednotlivé zákonné dôvody spracúvania, a teda okolnosti, za ktorých je možné osobné údaje spracovávať. Najčastejšie využívaným ustanovením je ustanovenie článku 6 GDPR ods. 1 písm. c), podľa ktorého je spracúvanie zákonné pokiaľ je nevyhnutné na splnenie právnej povinnosti, ktorá sa na spracovávateľa vzťahuje (pri dodržiavaní ustanovení § 9 infozákona). Povinný subjekt poskytne tieto informácie len v súlade s právnymi predpismi upravujúcimi ich ochranu. Znamená to teda, že príslušný samosprávny orgán, ktorý je povinným subjektom musí pred poskytnutím informácie zvážiť, či sa v danom prípade nejedná o zásah do súkromia a či sa na požadované informácie nevzťahuje ochrana podľa vyššie uvedených právnych predpisov. Právna úprava teda poskytuje širší priestor pre uváženie príslušného orgánu, či sa jedná o zásah do súkromia alebo nie a či je možné požadovanú informáciu poskytnúť (t. j. či sú splnené podmienky pre poskytnutie osobných údajov stanovené príslušnými ustanoveniami zákona o ochrane osobných údajov a ďalšími právnymi predpismi upravujúcimi práva fyzických osôb na ochranu pred neoprávneným zásahom do súkromného a osobného života). Z rozhodovacej praxe súdov vyplýva, že ani rozsiahle obhajovanie sa a argumentovanie povinných osôb s ochranou osobných údajov koncipovanou v GDPR nemusí viesť vo všetkých prípadoch k záveru o prednosti tejto ochrany pred právom na informácie. Inak povedané, nie je možné vo všetkých prípadoch vychádzať z predpokladu absolútnej aplikačnej prednosti ochrany osobných údajov pred právom na prístup k informáciám,



hoci by opačný záver, t. j. uprednostnenie práva na informácie pred ochranou osobných údajov mal byť v praxi skôr výnimkou (Janečková, 2019).

V § 9 ods. 3 infozákona je tiež ustanovená povinnosť sprístupnenia informácií týkajúcich sa skupiny verejne činných osôb (napríklad údaje o mene a priezvisku, funkcii, pracovnom zaradení, platových pomeroch). V praxi sa aj napriek tomu často objavujú obmedzenia sprístupnenia informácií z dôvodu ochrany osobných údajov, keď sa žiadateľ dovoľáva informácie súvisiacej s konkrétnym úradníkom. Keď ide o informácie spojené s konkrétnym zamestnancom, obce argumentujú tým, že tieto informácie nespádajú do rozsahu informácií podľa § 9 ods. 3. Tento výklad však nie je prípustný a ústavne konformný. Ak je požadovaná napríklad informácia o úradnej činnosti konkrétneho štátneho zamestnanca, obec nemôže zamedzovať sprístupneniu informácie odôvodnením, že takáto informácia je osobným údajom a nespadá ani do kategórie sprístupňovaných informácií podľa infozákona. V prípade štátnych zamestnancov musí byť braná do úvahy skutočnosť, že verejne činné osoby angažované v záležitostiach verejného záujmu majú obmedzenú, resp. zúženú ochranu súkromia. A teda pri poskytovaní vyššie vymedzených informácií nehovoríme o porušení ochrany osobných údajov. Zároveň platí, že osoby, ktoré sa cítia byť zverejnením informácií dotknuté na svojich právach, majú právo dožadovať sa ochrany na súde (napríklad z dôvodu porušenia ochrany súkromia). V tomto prípade je nevyhnutné, aby dokázala povinná osoba, ktorá zverejnila informácie preukázať prevažujúci verejný záujem nad nárokmi dotknutej osoby na ochranu jej súkromia, resp. neoprávneného zaobchádzania s jej osobnými údajmi (Transparency International, 2020).

Z pohľadu ochrany osobných údajov je dôležité aj ustanovenie § 5 ods. 6: „Povinná osoba je povinná zverejniť označenie nehnuteľnej veci vrátane bytov a nebytových priestorov a hnuteľnej veci, ktorej nadobúdacia cena bola vyššia ako 20-násobok minimálnej mzdy vo vlastníctve štátu, verejnoprávnej inštitúcie, obce, vyššieho územného celku alebo orgánu verejnej moci, ktorý táto povinná osoba previedla do vlastníctva alebo ktorý prešiel do vlastníctva inej osoby než orgánu verejnej moci, dátum prevodu alebo prechodu vlastníctva a právny titul, ako aj informácie o osobných údajoch a iných identifikačných údajoch osôb, ktoré nadobudli tento majetok do vlastníctva.“ Zverejňuje sa dátum prevodu/prechodu vlastníctva, právny titul a informácie o osobných údajoch a iných identifikačných údajoch osôb, ktoré nadobudli do vlastníctva tento majetok (meno a priezvisko, názov alebo obchodné meno, adresa pobytu alebo sídlo, identifikačné číslo, ak ide o právnickú osobu alebo fyzickú osobu – podnikateľa). Informácia sa zverejňuje najmenej po dobu jedného roka odo dňa prevodu alebo prechodu vlastníctva, pričom je potrebné rešpektovať zásadu minimalizácie uchovávaní osobných údajov („osobné údaje musia byť uchovávané vo forme, ktorá umožňuje identifikáciu dotknutej osoby najneskôr dovtedy, kým je to potrebné na účel, na ktorý sa osobné údaje spracúvajú“).

Obec alebo mesto musí dotknutej osobe poskytnúť podľa § 19 zákona o ochrane osobných údajov informácie, v ktorých bude uvedená doba spracúvania osobných údajov a súvisiace lehoty (napr. lehota na zverejnenie osobných údajov keď došlo k prevodu alebo prechodu vlastníctva či lehota podania žiadosti o uplatnenie prístupu k informáciám podľa infozákona). Samosprávy sú povinné informovať dotknuté osoby o tom, ako dlho budú ich osobné údaje spracúvané, pričom doba uchovávaní nesmie prekročiť dobu potrebnú na naplnenie účelu spracúvania (ZMOS, 2020).

## Záver

V príspevku sme identifikovali kľúčové aspekty týkajúce sa aplikácie práva na prístup k informáciám a práva na ochranu osobných údajov na samosprávnej úrovni. V praxi obcí existujú viditeľné aplikačné problémy a kolízie spôsobené právnym či hodnotovým rozporom medzi právom na ochranu osobných údajov a právom na slobodný prístup k informáciám. Tento nesúlad je regulovaný právnymi predpismi v zmysle Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady o ochrane fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov (GDPR), Zákona o ochrane osobných údajov a Zákona o slobodnom prístupe k informáciám. Pre správne dodržiavanie týchto právnych predpisov musia obce a mestá v Slovenskej republike ako povinné osoby dodržiavať postupy a princípy dané právnou úpravou. V samosprávnej praxi môže dôjsť k situáciám, kedy je z dôvodu konfliktu medzi ochranou osobných

údajov a právom na informácie ťažké určiť o aké informácie občania môžu požiadať formou infožiadosti. Niektoré informácie môžu byť posudzované ako súkromné, čo môže spôsobiť problémy pri ich sprístupnení. Obce a mestá majú povinnosť chrániť súkromie a bezpečnosť osobných údajov svojich občanov, ale zároveň musia dodržiavať zákon o slobodnom prístupe k informáciám. Je bezpodmienečne dôležité, aby obce a mestá okrem dodržiavania predmetných právnych predpisov a ochrany práv občanov prispievali aj k zabezpečeniu transparentnosti vo verejnej správe. Zároveň však musia pri svojej aplikačnej činnosti vedieť nájsť rovnováhu medzi právom na informácie, ochranou súkromia a osobných údajov.

*Príspevok bol spracovaný za podpory grantovej agentúry ako výstup z riešenia výskumného projektu VVGS-2023-2699 „Povinné zverejňovanie informácií na komunálnej úrovni“*

## Literatúra

HUDECOVÁ, Irena a Anna CYPRICHOVÁ. 2020. Nariadenie o ochrane fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov/GDPR. Žilina: Eurokódex. ISBN: 9788081550942.

JANEČKOVÁ, Eva. 2019. GDPR - Řešení problémů v praxi obcí. Bratislava: Grada. ISBN: 9788024729251.

PETER WILFLING, 2012. Zákon o slobodnom prístupe k informáciám: Komentár Problémy z praxe - Rozhodnutia súdov. Pezinok: VIA IURIS. ISBN: 978-80-970686-4-6.

ZDRUŽENIE MIEST A OBCÍ SLOVENSKA, 2020. Národný projekt Modernizácia miestnej územnej samosprávy: Infozákon a ochrana osobných údajov v podmienkach samosprávy so zameraním na aplikačné problémy [online]. 2020. [cit. 2024-04-01]. Dostupné na: [https://npmodmus.zmos.sk/download\\_file\\_f.php?id=1307120](https://npmodmus.zmos.sk/download_file_f.php?id=1307120)

PORTÁL VEREJNÁ SPRÁVA SLOVENSKEJ REPUBLIKY, 2018. Infozákon vo svetle novej legislatívy o ochrane osobných údajov problémy [online]. 2020. [cit. 2024-04-05]. Dostupné na: <https://www.vssr.sk/clanok-z-titulky/infozakon-vo-svetle-novej-legislativy--o-ochrane-osobnych-udajov-2018.htm/>

Transparency International Slovensko, 2019. Infozákon – najlepší prostredník na ceste k informáciám [online]. 2019. [cit. 2024-04-05]. Dostupné na: <https://transparency.sk/sk/akademia/temy/justicia/infozakon-manual/>

Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2016/679 o ochrane fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov a o voľnom pohybe takýchto údajov

Ústava Slovenskej republiky

Zákon č. 40/1964 Zb. Občiansky zákonník

Zákon č. 71/1967 Zb. Zákon o správnom konaní (správny poriadok)

Zákon č. 211/2000 Z. z. o slobodnom prístupe k informáciám a o zmene a doplnení niektorých zákonov (zákon o slobode informácií)

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

# VYHORENIE A KONTRAFAKTOVÉ MYSLENIE

## *Burnout and counterfactual thinking*

Richard Gamrát

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Cieľom tejto práce bolo preskúmať vzťah vybraných typov kontrafaktového myslenia a prejavov vyhorenia u študentov. Konkrétne sme sa zamerali na korelačné súvislosti týchto premenných. Pre výskum sme použili dotazníkové dáta od 136 respondentov. Išlo o vysokoškolských študentov (75% žien, 24% mužov, 1% iné/neuviedli rod). Vekovo sa naša vzorka pohybovala v rozpätí 19 až 29 rokov ( $M = 21.24$ ;  $SD = 1.91$ ; 131 respondentov uviedlo vek). Niekoľko výsledkov bolo konzistentných s našimi hypotézami. Konkrétne, vzostupné kontrafakty súviseli pozitívne s celkovými prejavmi vyhorenia aj emočnými ťažkosťami (dimenzia vyhorenia). Avšak ostatné výsledky neboli v súlade s našimi hypotézami. Napr. zostupné kontrafakty nesúviseli s prejavmi vyhorenia ani jeho dimenziami, aj keď sme očakávali negatívne vzťahy (s výnimkou kognitívnych ťažkostí, kde sme síce tiež nezachytili vzťah, avšak ani sme nevytvorili hypotézu o ich vzťahu). Tieto zistenia, ale aj teoretické východiská a metodológiu, v práci podrobnejšie rozoberáme.

**KLúčové slová:** *vyhorenie, kontrafaktové myslenie, vyčerpanosť, mentálny odstup, študenti*

**Abstract:** The aim of this study was to explore the relationship between certain types of counterfactual thinking and burnout symptoms in students. Specifically, we focused on the correlation between these variables. For our research, we used questionnaire data from 136 respondents. These respondents were university students (75% females, 24% males, 1% other/did not specify the gender). Regarding the age of our sample, it ranged from 19 to 29 years ( $M = 21.24$ ;  $SD = 1.91$ ; 131 respondents provided their age). Several results were consistent with our hypotheses. Specifically, upward counterfactuals were positively associated with overall burnout symptoms and emotional impairment (burnout dimension). However, other results did not align with our hypotheses. For example, downward counterfactuals were not associated with burnout symptoms nor its dimensions, even though we expected negative relationships (except for cognitive impairment, where we also did not observe a significant relationship, but nor have we hypothesized their relationship). We discuss these findings, as well as theoretical background, and methodology, in more detail in the paper.

**Keywords:** *burnout, counterfactual thinking, exhaustion, mental distance, students*

## Úvod

Mnoho ľudí je zasiahnutých vyhorením. Intenzívna únava z práce či štúdia, averzia voči klientom, kolegom, či samotnej práci predstavujú niektoré z javov, s ktorými je vyhorenie spájané (resp. stotožňované). Keďže je vyhorenie pravdepodobne podmienené multifaktoriálne, je potrebné skúmať množstvo premenných potenciálne zodpovedných za vznik, progres (ako aj regres) a udržiavanie vyhorenia. Priestor nepreskúmaných faktorov, ktoré sú potenciálne v pozadí prejavov vyhorenia ostáva veľký, preto chceme prispieť k pokrytiu časti tohto priestoru. Konkrétne sa v tejto práci zameriavame na súvis kontrafaktového myslenia (vyvolaného negatívnou udalosťou) a prejavov vyhorenia. Kontrafaktové myslenie (KM), ako premýšľanie o tom, čo mohlo byť, poskytuje rámec, ktorý by mohol prispieť k parciálnemu vysvetleniu vyhorenia. Na (mal)adaptívnosť týchto myšlienok bolo poukázané v súvislosti s niektorými psychickými problémami, avšak na vyhorenie zatiaľ pozornosť upriamená nebola, čo si žiada výskum v tejto oblasti. Taktiež má výskum zmysel z dôvodu teoretických súvislostí vyhorenia a KM: negatívne udalosti, ktoré študent zažíva (napr. nesprávna odpoveď na vyučovaní) môžu viesť k myšlienkam ako „kiež by to dopadlo lepšie“, pričom časté myšlienky tohto typu, sprevádzané negatívnym afektom (Allen, 2014), by mohli viesť logicky k vyčerpanosti či mentálnemu odstupu (prejavy vyhorenia) ako zvládacej stratégii. Popríklad súvislosť by mohla byť aj opačná, napr. študenti s vyššou úrovňou prejavov vyhorenia by logicky mohli rozmýšľať nad príčinami ich nepriaznivého stavu, a teda generovať myšlienky ako „keby to len dopadlo inak“. Poznatky o týchto asociáciách by potom potenciálne mohli byť zapracované do

poradenských/terapeutických teórií, ktoré pracujú s dysfunkčnými myšlienkami (napr. kognitívno-behaviorálna terapia). Konkrétne sa v tejto práci zameriavame na súvislosti prejavov vyhorenia a KM u študentov, keďže sú menej skúmanou populáciou (v súvislosti s vyhorením) než pracujúci ľudia, pričom sa zameriavame na korelačné skôr než predikčné vzťahy, keďže ide o počiatkové overovanie súvislostí týchto premenných. Špecificky sa zameriavame na nereferenčné *zostupné* a *vzostupné* kontrafakty, keďže chceme preveriť potenciálne adaptívne aj maladaptívne kontrafakty, zároveň ale ostať konzistentný vzhľadom na referenta. Najprv si bližšie priblížime vyhorenie a kontrafaktové myslenie, potom sa dostaneme k výskumnej časti, pričom výsledky, prínosy a limity komentujeme v diskusii a závere.

## Vyhorenie

Model vyhorenia (*burnout*), ako konštelácie (a) emocionálnej vyčerpanosti, (b) depersonalizácie (cynizmu) a (c) pocitu zníženej kompetencie/úspechov v práci Maslachovej a Jacksona (1981), je v psychológii najpopulárnejším poňatím vyhorenia (Edú-Valsania et al., 2022). Avšak mnoho autorov poukazuje na jeho nedostatky (napr. vysoká podobnosť s depresiou – slabá diskriminačná validita; pozri napr. Bianchi et al., 2015; Bianchi et al., 2019). Čo podnecuje vytváranie nových konceptualizácií vyhorenia. Ako jeden zo sľubných prístupov sa ukazuje model Schaufeliho, Desartovej a De Witteho (2020), ktorý sa snaží napraviť mnohé nedostatky doterajších prístupov. Pod vyhorením rozumejú vyčerpanosť vychádzajúcu z práce, charakteristickú (a) veľmi výraznou únavou (vyčerpanosťou); (b) mentálnym odstupom; oslabenou schopnosťou regulovať (c) poznávacie a (d) emocionálne procesy (Schaufeli, Desart & De Witte, 2020). Okrem týchto primárnych faktorov, hovoria aj o sekundárnych – depresívna nálada a nešpecifické psychologické či psychosomatické ťažkosti. Pričom prácu chápu v širšom zmysle tak, že aj štúdium či iná štruktúrovaná na cieľ-orientovaná aktivita spadá pod túto definíciu. Ich prístup adoptujeme aj my v tejto štúdií.

Ako sme naznačili vyššie, vyhorenie sa v literatúre najčastejšie vzťahovalo na pracujúcich ľudí, avšak dobrovoľníci, študenti či dokonca rodičia sú taktiež skúmané populácie v kontexte vyhorenia. V oblasti pracovného (zamestnaneckého) vyhorenia je jeden z najvplyvnejších rámcov na objasnenie vzniku vyhorenia model pracovných nárokov a zdrojov (napr. Bakker et al., 2023). Základným postulátom je, že vyhorenie súvisí s nepomerom pracovných zdrojov (napr. sociálne zručnosti) a nárokov (napr. časový tlak). Avšak táto teória sa stáva čoraz viac integratívnou a dáva dôraz aj na *osobné* zdroje (napr. optimizmus). Čo je v súlade aj so súčasnými systematickými prehľadmi (Shoman et al., 2021) a meta-analýzami (Shoman et al., 2022), naznačujúcimi okrem roly pracovných aj rolu osobných a iných faktorov. Model pracovných nárokov a zdrojov bol pre vysvetlenie vyhorenia úspešne modifikovaný aj pre študentov (Jagodics & Szabó, 2023), keďže aj tí môžu čeliť vyhoreniu (napr. prehľadová štúdia Rosales-Ricarda et al. (2021) poukazuje na prevalenciu vyčerpanosti až u 55% študentov). Pričom vyhorenie je u nich spojené nie len s horšími akademickými výsledkami (pre meta-analýzu pozri Medigan & Curran, 2021), ale aj vážnou psychopatológiou a zvýšeným rizikom suicídia (Seo et al., 2021). Čo spolu s menším zameraním výskumu vyhorenia na študentov predstavuje niektoré z dôvodov, prečo sú aj v tejto štúdií našou cieľovou skupinou práve študenti. Konkrétne sa budeme zameriavať na to, či s prejavmi vyhorenia môžu súvisieť kontrafaktové myšlienky (vzťahujúce sa negatívne udalosti), ktoré popisujeme nižšie.

## Kontrafaktové myslenie

Ľudia zvyknú rozmýšľať nad minulosťou a nad tým, ako mohli veci dopadnúť inak (Roese & Epstude, 2017). Táto tendencia predstavovať si, že veci mohli byť inak, ak by sa niečo v minulosti inak odohralo, predstavuje kontrafaktové myslenie (*counterfactual thinking*), ktoré často naberá podobu ak-tak výrazu („ak by som sa bol viac učil, tak by som dostal lepšiu známku“; Epstude & Roese, 2008). Podľa funkčnej teórie kontrafaktového myslenia (Epstude & Roese, 2008; Roese & Epstude, 2017) je tento spôsob myslenia primárne o cieľoch. O tom, čo osoba mohla spraviť, aby cieľ dosiahla, aby prekonala prekážky, a tak dosiahla žiadúci výsledok. Dôležité je rozlíšiť kontrafaktové myšlienky na *vzostupné* (*upward counterfactuals*), ktoré sú zamerané na to, ako veci mohli dopadnúť lepšie a *zostupné* kontrafakty (*downward counterfactuals*), ktoré simulujú to, ako veci mohli dopadnúť

horšie (Roese & Epstude, 2017); a to preto, lebo sa môžu rôzne vzťahovať k emocionálnym reakciám či behaviorálnym intenciami. Napr. vzostupné kontrafakty sú skôr spojené so sklamaním, hanbou či vinou, ale aj plánovaním budúcich krokov, aby sa neželaná minulosť neopakovala; zatiaľ čo zostupné s úľavou alebo radosťou (pre prehľad Byrne, 2016; Roese & Epstude, 2017). Kontrafakty sa taktiež môžu deliť na nereferenčné (nevzťahujúce sa na špecifickú osobu), sebareferenčné (vzťahujúce sa na osobu, ktorá dané kontrafakty generuje) a kontrafakty vzťahujúce sa na iné osoby (Rye et al., 2008). Aj kvôli ich súvisu s afektom sa rôzne vzťahujú k mentálnemu zdraviu a psychickým ťažkostiam, čo diskutujeme nižšie.

## Vyhorenie a kontrafaktové myslenie: potenciálny súvis?

Vyhoreniu v súvislosti s KM, pokiaľ vieme, zatiaľ nebola venovaná pozornosť. Avšak pozornosť bola venovaná KM vo vzťahu k iným mentálnym ťažkostiam. Napr. Broomhallová et al., (2017) sa meta-analyticky zamerali na vzťah vzostupných kontrafaktov a depresie a našli pozitívny vzťah. Tento vzťah ďalej doplnili napr. Angus a Phillipsová (2021), ktorí zistili, že negatívny vzťah sebasúcity a depresie je čiastočne sprostredkovaný skrz nižší výskyt sebareferenčných vzostupných kontrafaktov (okrem nich, aj nereferenčné vzostupné kontrafakty korelovali s depresiou). Zatiaľ čo Broomhallová et al. (2018) zistili, že vzťah vzostupných sebareferenčných kontrafaktov a depresie bol plne sprostredkovaný ľútosťou. Keďže aj vyhorenie (vrátane modelu BAT; Schaufeli, De Witte & Desart, 2020) býva (stredne až silno) asociované s depresívnymi symptómami, mohli by sme potenciálne očakávať aj vzťah kontrafaktového myslenia a prejavov vyhorenia. Napríklad študentom, ktorí často rozmýšľajú nad tým, ako im veci (napr. písomka, príprava na hodinu) nevyšli a mohli byť lepšie, môže ulpievanie na kontraste medzi tým „horším“ (realitou) a tým „lepším“ (čo mohlo byť) negatívne ovplyvňovať náladu. Čo je v súlade so zisteniami Allena et al. (2014), ktorí poukázali na pozitívny vzťah množstva druhov negatívnych emócií, intenzitou negatívnych emócií a dĺžkou ich výskytu so vzostupnými kontrafaktmi. Opakovane by generovanie takýchto myšlienok prirodzene mohlo viesť aj k vyčerpaniu a mentálny odstup by sa mohol rozvinúť ako zvládacia stratégia na zmiernenie negatívneho afektu spojeného s týmito myšlienkami. Kognitívne problémy, ako poruchy koncentrácie, by sa taktiež mohli rozvinúť v dôsledku emočnej dysregulácie (Lee & Son, 2023), ale aj neschopnosti odpútať sa od generovania vzostupných kontrafaktov. Naopak, zostupné kontrafakty („mohlo to byť horšie“; napr. „mohol som dostať aj horšiu známku“) by mohli zarámovať to, čo sa stalo, ako komparatívne dobré (oproti tomu, čo sa *mohlo* stať) a potenciálne tak znížiť cynické postoje voči štúdiu, znižovať pravdepodobnosť emočnej dysregulácie (keďže skôr vyvolávajú pocity ako úľava; Roese & Epstude, 2017), vyčerpania a tým pádom aj celkových prejavov vyhorenia. Čo sa týka súvisu zostupných kontrafaktov a kognitívnych ťažkostí, ostávame agnostickí, čo sa odráža aj pri formulovaní hypotéz a otázok, ktoré prezentujeme v nasledujúcej sekcii na základe vyššie uvedených úvah.

## Výskumné ciele a hypotézy

Cieľom nášho výskumu je zistiť, či existuje súvis medzi vybranými typmi kontrafaktového myslenia vzťahujúceho sa na negatívnu udalosť a prejavmi vyhorenia; konkrétne v populácii študentov. Od toho sa odrážajú aj naše hypotézy a otázky:

H1: Vzostupné nereferenčné kontrafakty (VNK) pozitívne súvisia s celkovým vyhorením a jeho aspektmi, konkrétne:

H1a: VNK pozitívne súvisia s prejavmi vyčerpania

H1b: VNK pozitívne súvisia s prejavmi mentálneho odstupu

H1c: VNK pozitívne súvisia s prejavmi kognitívnych ťažkostí

H1d: VNK pozitívne súvisia s prejavmi emočných ťažkostí

H2: Zostupné nereferenčné kontrafakty (ZNK) negatívne súvisia s celkovými prejavmi vyhorenia a niektorými jeho aspektmi, konkrétne:

H2a: ZNK negatívne súvisia s prejavmi vyčerpania

H2b: ZNK negatívne súvisia s prejavmi mentálneho odstupu

H2c: ZNK negatívne súvisia s prejavmi emočných ťažkostí

O1: Súvisia ZNK s prejavmi kognitívnych ťažkostí?

## Metóda

### Výskumný súbor

Náš výskumný súbor tvorilo 136 respondentov (po odstránení respondentov, ktorí uviedli vek nižší ako 18 rokov). Išlo o vysokoškolských študentov, 105 z odboru psychológie (77.2%); 21 zo sociálnej práce (15.4%); a 10 zo slovakisticko-mediálnych štúdií (7.4%). Väčšinu respondentov tvorili ženy: 102 (75%) participantov. Mužov bolo 32 (24%) a dvaja (1%) respondenti neuviedli rod, respektíve zaškrtili možnosť *iné/nechcem uviesť*. 131 respondentov uviedlo aj vek, pričom sa pohyboval v rozsahu 19 až 29 rokov ( $M = 21.24$ ;  $SD = 1.91$ ).

### Procedúra

Dáta sme zbierali príležitostným výberom počas vyučovania online (cez platformu Google forms) alebo tlačnými dotazníkmi. Elektronický aj tlačný dotazník zahŕňali rovnaké výskumné škály, prezentované v totožnom poradí. V úvode boli participanti oboznámení s anonymnou povahou dotazníka a faktom, že ich účasťou dávajú súhlas so spracovaním ich údajov čisto na vedecké účely. Následne vyplnili demografické údaje a potom vyplňali škálu vyhorenia a nakoniec škálu kontrafaktového myslenia. Zber dát prebiehal od 13.03.2024 do 19.03.2024.

### Výskumné nástroje

V našom výskume sme použili dve škály, pričom obe boli preložené metódou spätného prekladu (v slovenskom prostredí zatiaľ neboli overované):

Škála Kontrafaktového Myslenia pre Negatívne Udalosti (*Counterfactual Thinking for Negative Events Scale*; CTNES; Rye et al., 2008) pozostáva zo 16 položiek; pričom má štyri subškály (každá štyri položky) zodpovedajúce rôznym druhom kontrafaktového myslenia. Konkrétne ide o (a) nereferenčné vzostupné, (b) sebareferenčné vzostupné, (c) nereferenčné zostupné a (d) vzostupné kontrafaktové myslenie referujúce iných ľudí. Pre potreby nášho výskumu sme použili dve subškály: nereferenčnú zostupnú (napr. „Rozmýšľam o tom, na koľko horšie mohli veci byť.“;  $\omega = .62$ ) a nereferenčnú vzostupnú škálu („Rozmýšľam o tom, na koľko lepšie mohli veci byť.“;  $\omega = .76$ ); a to kvôli pragmatickým úvahám – dĺžka dotazníka – a dôvodom, ktoré sú diskutované v úvode.

Nástroj pre Zisťovanie Vyhorenia (*The Burnout Assessment Tool*; BAT; Schaufeli, Desart & De Witte, 2020) sme použili na zisťovanie úrovne prejavov vyhorenia u študentov. Konkrétne sme použili skrátenú verziu pre študentov, dostupnú na webe autorov (Schaufeli, De Witte & Desart, 2020), zahŕňajúcu štyri jadrové dimenzie vyhorenia (12 položiek), pričom každá je zachycovaná tromi položkami: (a) vyčerpanie (napr. „Kvôli môjmu štúdiu sa cítim psychicky vyčerpaný/á.“;  $\omega = .76$ ), (b) mentálny odstup (napr. „Ťažko sa mi hľadá nadšenie pre štúdium.“;  $\omega = .78$ ), (c) kognitívne ťažkosti (napr. „Keď pracujem na mojom štúdiu mám problém koncentrovať sa.“;  $\omega = .84$ ) a (d) emočné ťažkosti (napr. „Cítim, že nedokážem ovládať svoje emócie.“;  $\omega = .83$ ).

### Analýza dát

Pre štatistické procedúry sme použili softvér Jamovi. Po vypočítaní hrubého skóre pre jednotlivé subškály (priemer položiek pre (sub)škály vyhorenia; suma položiek pre kontrafaktové myslenie), sme vypočítali ich vnútornú konzistenciu. Následne sme overovali podmienku normálneho rozloženia pre použitie Pearsonovho korelačného koeficientu. Všetky škály, okrem jednej, vykazovali uspokojivé zošikmenie (-1 až 1) a špicatost' (-1 až 1) a taktiež sa po vizuálnej inšpekcii histogramov javili, ako približujúce sa normálnemu rozdeleniu. Škála mentálneho odstupu vykazovala mierne vyššie zošikmenie (1.03), avšak vzhľadom na skôr hraničnú hodnotu a variáciu

akceptovateľnej úrovne zošikmenia pre naznačenie normálneho rozloženia v literatúre (napr. aj -2 až 2; Hair et al., 2022), sme sa rozhodli pokračovať vo výpočte Pearsonových korelačných koeficientov. Ako hladinu významnosti sme použili úroveň .05, pomerne štandardnú pre psychologický výskum podobného typu.

## Výsledky

V Tabuľke 1 stručne opisujeme deskriptívne údaje pre jednotlivé sub-/škály a následne opisujeme korelačné koeficienty.

**Tabuľka 1:** Deskriptívna štatistika výskumných škál

	n	M	Medián	SD	Minimum	Maximum
Vyhorenie	136	2.72	2.67	0.65	1.50	5.00
Vyčerpanie	136	3.24	3.33	0.85	1.00	5.00
Ment_odstup	136	2.24	2.00	0.86	1.00	5.00
Kog_ťažkosti	136	2.86	2.67	0.89	1.00	5.00
Emoc_ťažkosti	136	2.56	2.33	0.98	1.00	5.00
Zostupné_k (ZNK)	136	12.63	13.00	2.98	6.00	20.00
Vzostupné_k (VNK)	135	12.68	13.00	3.75	4.00	20.00

V tejto časti popíšeme korelačné vzťahy týkajúce sa našich hypotéz. VNK súviseli pozitívne s celkovým prejavmi vyhorenia v súlade s H1,  $r(133) = .25, p = .003$ . VNK nesúviseli významne s vyčerpaním ( $r(133) = .15, p = .079$ ), mentálnym odstupom ( $r(133) = .02, p = .834$ ) a kognitívnymi ťažkosťami ( $r(133) = .15, p = .074$ ), čo je v nesúlade s H1a, H1b a H1c. Emočné ťažkosti s VNK súviseli pozitívne,  $r(133) = .37, p < .001$ , v súlade s našou hypotézou (H1d).

ZNK nesúviseli negatívne s celkovými prejavmi vyhorenia ( $r(134) = -.04, p = .664$ ), čo je v nesúlade s H2. Podobne ani vyčerpanie nesúviselo so ZNK,  $r(334) = -.01, p = .922$ , pričom sme očakávali, že vzťah týchto premenných bude negatívny (H2a). Ani mentálny odstup nesúvisel so ZNK,  $r(134) = -.10, p = .226$ , čo je opäť v nesúlade s našim predpokladom, že nájdeme významný negatívny vzťah (H2b). Kognitívne ťažkosti taktiež nesúviseli so ZNK ( $r(134) = -.04, p = .613$ ), napriek tomu, že sme očakávali negatívnu asociáciu týchto premenných (H2c). ZNK nesúviseli ani s emočnými ťažkosťami ( $r(134) = .04, p = .651$ ), čo je nekonzistentné s našou hypotézou – očakávali sme významný negatívny vzťah týchto premenných (H2d). Všetky korelácie, vrátane tých, čo nesúviseli s našimi hypotézami (t.j. korelácie medzi subškálami vyhorenia; korelácie medzi typmi kontrafaktového myslenia) je možné vidieť v Tabuľke 2.

**Tabuľka 2:** Korelačná matica výskumných premenných

	1	2	3	4	5	6	7
1. Vyhorenie	1						
2. Vyčerpanie	0.75 ***	1					
3. Ment_odstup	0.74 ***	0.47 ***	1				
4. Kog_ťažkosti	0.78 ***	0.44 ***	0.56 ***	1			
5. Emoc_ťažkosti	0.63 ***	0.31 ***	0.15	0.28 ***	1		
6. Zostupné_k (ZNK)	-0.04	-0.01	-0.10	-0.04	0.04	1	
7. Vzostupné_k (VNK)	0.25 **	0.15	0.02	0.15	0.37 ***	0.04	1

Poznámka. \* $p < .05$ ; \*\* $p < .01$ ; \*\*\* $p < .001$ ;  $N = 136$ , okrem Vzostupné\_k ( $N = 135$ )

## Diskusia a záver

Hlavným cieľom našej práce bolo zistiť, či existuje vzťah medzi prejavmi vyhorenia a kontrafaktovým myslením vzťahujúcim sa na negatívnu udalosť. Konkrétne sme sa zamerali nie len na prejavy vyhorenia ako celku, ale aj na jeho dimenzie (vyčerpanie, mentálny odstup, kognitívne a emočné ťažkosti). Čo sa týka kontrafaktového myslenia, zamerali sme sa na dva špecifické typy myšlienok: nereferenčné vzostupné a nereferenčné zostupné kontrafakty.

V súlade s našou prvou hypotézou sme zistili, že existuje vzťah medzi celkovými prejavmi vyhorenia a vzostupnými kontrafaktmi. Teda ľudia, ktorí po negatívnej udalosti rozmýšľajú viac o tom, ako veci mohli dopadnúť lepšie, skôr trpia celkovými prejavmi vyhorenia v spojení so štúdiom. Je možné, že sústavné negatívne kontrastovanie nepríjemnej reality (napr. negatívneho hodnotenia na skúške) a lepšej alternatívy, ktorá ostáva len predstavou (napr. pozitívne hodnotenie na skúške), prispieva k prejavom vyhorenia. Čo dáva zmysel aj v kontexte výskumu depresie a vzostupných kontrafaktov (Broomhall et al., 2017). Na druhej strane, vzťah vyčerpania a vzostupných kontrafaktov nebol významný. Je možné, že kvôli nedostatočnej štatistickej sile. Taktiež je možné, že kontrafaktové myslenie má dvojaký efekt – na jednej strane môžu byť takéto myšlienky emočne vyčerpávajúce, na druhej strane však môžu byť kognitívne a behaviorálne nabudzujúce, ako napovedá funkčná teória kontrafaktového myslenia (Roese & Epstude, 2017); preto (kvôli ich vzájomnej negácii) je celkový vzťah medzi týmito premennými skôr nevýznamný než pozitívny/negatívny. Mentálny odstup taktiež nesúvisel so vzostupnými kontrafaktmi, teda podľa nášho výskumu generovanie myšlienok o tom, nakoľko lepšie mohli veci dopadnúť, nesúvisí s cynickým postojom k štúdiu. Je možné, že tento výsledok súvisí aj s typom vzostupných kontrafaktov, ktoré sme zachycovali, keďže sme zachycovali *nereferenčné* kontrafakty, ktoré explicitne nedávajú za vinu situáciu nikomu. Možno by sebareferečné (napr. „keby som len konal inak...“) alebo kontrafakty referujúce iných ľudí (napr. „keby len iní ľudia konali inak...“) mohli skôr vyvolať mentálny odstup, aj keď na prvý pohľad nie je jasné, či by tomu tak malo byť, preto by mohlo ísť o podnet na ďalší výskum. Kognitívne ťažkosti (prejav vyhorenia) taktiež nesúviseli so vzostupnými kontrafaktmi, aj keď sme očakávali pozitívny vzťah. Je možné, že produkcia vzostupných kontrafaktov nepredstavuje distraktor, ktorý by nejako narúšal sústredenie na štúdium, respektíve ich ďalšia funkcia – generovanie cieľových intencií (Smallman & Sumerville, 2018) – *kompenzuje* ich prípadný rušivý vplyv. Napr. ak by študent neuspokojivo napísal test, vzostupné kontrafakty (napr. „ak by som sa viac učil, test by dopadol lepšie“) by sami o sebe mohli narúšať jeho pozornosť, zároveň by však mohli motivovať k učeniu, a tak zmierňovať vplyv iných distraktorov (napr. voľnočasových aktivít). Vzostupné kontrafakty, ako sme očakávali, súviseli (v našom výskume) pozitívne s emočnými ťažkosťami (dimenziou vyhorenia). Teda študenti, ktorých myšlienky sa častejšie orientovali na to, ako by mohli byť veci lepšie (kontrast medzi negatívnou realitou a pozitívnejšou alternatívou), častejšie zažívali problémy s reguláciou emócií. Čo je v súlade so zisteniami, že vzostupné kontrafakty sú skôr spojené s negatívnym prežívaním (Byrne, 2016; Roese & Epstude, 2017), dĺžkou aj intenzitou výskytu negatívnych emócií (Allen et al., 2014).

Okrem vzťahu vzostupných kontrafaktov s prejavmi vyhorenia, nás zaujímal aj vzťah zostupných (nereferenčných) kontrafaktov s prejavmi vyhorenia. V tomto prípade ani jedna z našich hypotéz nenašla podporu: celkové prejavy vyhorenia, vyčerpanie, mentálny odstup ani emočné ťažkosti nesúviseli so zostupnými kontrafaktmi. Na otázku, či kognitívne ťažkosti súvisia so zostupnými kontrafaktmi, sme taktiež dostali zápornú odpoveď. Očakávali sme, že mentálne porovnávanie pozitívnejšej reality a negatívnejšej alternatívy by mohlo viesť k nižším úrovniam prejavov vyhorenia. Napr. že mentálny odstup (t.j. cynický postoj či odpor voči štúdiu) bude nižší, keď tendencia premýšľať o tom, ako veci mohli byť horšie (a vážiť si, že tak nedopadli) bude väčšia. Takisto sme čakali menej emočných ťažkostí, keďže zostupné kontrafakty sú skôr spojené s pozitívnym prežívaním (pre prehľad Byrne, 2016; Roese & Epstude, 2017) a nižšou mierou intenzity aj trvania negatívnych emócií (Allen et al., 2014). Avšak je možné, že zostupné kontrafakty jednoducho s vyhorením nesúvisia. Na rozdiel od vzostupných kontrafaktov, zostupné kontrafakty, zdá sa, nesúvisia veľmi s behaviorálnymi intenciami, motiváciou (súvisia skôr s reguláciou afektu; Byrne, 2016). Keďže majú nižšiu motivačnú funkciu, nemusia viesť k proaktívnym zvládacím



stratégiám, ktoré by mohli prejavy vyhorenia znížiť a možno samotná reguláciu afektu nemusí byť dostatočná na zmiernenie prejavov vyhorenia, ak sa situácia a prostredie aktívne nemodifikuje.

Náš výskum mal niekoľko limitov. Napríklad škála nereferenčných zostupných kontrafaktov mala nižšiu reliabilitu než je uspokojivá ( $\omega = .62$ ). Interpretácia výsledkov je obmedzená na korelačné súvislosti, nemôžeme usudzovať na príčinné-následkové vzťahy a musíme byť opatrní pri generalizovaní týchto poznatkov, keďže sme sa zamerali na populáciu študentov, vo špecifickej kultúre a pod. Zamerali sme sa len na dva typy kontrafaktov, čo je na jednej strane limit (napr. je možné, že by sme skôr zachytili vzťahy s prejavmi vyhorenia, ak by sme sa zamerali aj na sebareferenčné, nie len nereferenčné vzostupné kontrafakty), na druhej strane to môže slúžiť ako podnet pre budúci výskum. Okrem týchto podnetov, náš výskum naznačil aj potenciálne súvislosti nereferenčných – vzostupných aj zostupných – kontrafaktov vzťahujúcich sa na negatívnu udalosť s prejavmi vyhorenia, čo má aj praktický význam, ak by sa tieto súvislosti podarilo replikovať (alebo rozšíriť) aj v ďalších výskumoch (na iných populáciách, s iným dizajnom a pod). V takom prípade by odborníci v oblasti duševného zdravia mohli byť informovaní a pripravení na zvýšený (resp. znížený) výskyt kontrafaktov u ich pacientov s prejavmi vyhorenia a potenciálne s tým pracovať.

## Literatúra

ALLEN, Mark S., Iain GREENLEES a Marc V. JONES, 2014. Personality, counterfactual thinking, and negative emotional reactivity. *Psychology of Sport and Exercise* [online]. 2014, roč. 15, č. 2, s. 147–154. Dostupné na: doi:10.1016/j.psychsport.2013.10.011

ANGUS, Bronwyn M. a Wendy J. PHILLIPS, 2021. Self-referent upward counterfactual thinking mediates the relationship between self-compassion and depression. *Australian Psychologist* [online]. 2021, roč. 56, č. 1, s. 61–69. Dostupné na: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00050067.2021.1890980>

BAKKER, Arnold B., Evangelia DEMEROUTI a Ana SANZ-VERGEL, 2023. Job demands–resources theory: Ten years later. *Annual Review of Organizational Psychology and Organizational Behavior* [online]. 2023, roč. 10, s. 25–53. Dostupné na: doi:10.1146/annurev-orgpsych-120920-053933

BIANCHI, Renzo a Romain BRISSON, 2019. Burnout and depression: Causal attributions and construct overlap. *Journal of Health Psychology* [online]. 2019, roč. 24, č. 11, s. 1574–1580. Dostupné na: doi:10.1177/1359105317740415

BIANCHI, Renzo, Irvin Sam SCHONFELD a Eric LAURENT, 2015. Burnout-depression overlap: a review. *Clinical Psychology Review* [online]. 2015, roč. 36, s. 28–41. Dostupné na: doi:10.1016/j.cpr.2015.01.004

BROOMHALL, Anne Gene a Wendy J. PHILLIPS, 2018. Self-referent upward counterfactuals and depression: Examining regret as a mediator. *Cogent Psychology* [online]. 2018, roč. 5, č. 1, s. 1416884. Dostupné na: doi:10.1080/23311908.2017.1416884

BROOMHALL, Anne Gene, Wendy J. PHILLIPS, Donald W. HINE a Natasha M. LOI, 2017. Upward counterfactual thinking and depression: A meta-analysis. *Clinical Psychology Review* [online]. 2017, roč. 55, s. 56–73. Dostupné na: doi:10.1016/j.cpr.2017.04.010

BYRNE, Ruth M. J., 2016. Counterfactual thought. *Annual Review of Psychology* [online]. 2016, roč. 67, s. 135–157. Dostupné na: doi:10.1146/annurev-psych-122414-033249

EDÚ-VALSANIA, Sergio, Ana LAGUÍA a Juan A. MORIANO, 2022. Burnout: A Review of Theory and Measurement. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2022, roč. 19, č. 3, s. 1780. Dostupné na: doi:10.3390/ijerph19031780

EPSTUDE, Kai a Neal J. ROESE, 2008. The functional theory of counterfactual thinking. *Personality and Social Psychology Review: An Official Journal of the Society for Personality and Social Psychology, Inc* [online]. 2008, roč. 12, č. 2, s. 168–192. Dostupné na: doi:10.1177/1088868308316091

HAIR, Joseph F., G. Thomas M. HULT, Christian M. RINGLE a Marko SARSTEDT, 2022. *A Primer on Partial Least Squares Structural Equation Modeling (PLS-SEM)*. 3rd. ed. B.m.: SAGE. ISBN 978-1-4522-1744-4.

JAGODICS, Balázs a Éva SZABÓ, 2023. Student Burnout in Higher Education: A Demand-Resource Model Approach. *Trends in Psychology* [online]. 2023, roč. 31, č. 4, s. 757–776. Dostupné na: doi:10.1007/s43076-021-00137-4

LEE, Jeong-hwa a Chongnak SON, 2023. The Effect of negative emotion on concentration through emotional regulation: mediated moderation of Metacognitive Awareness. *Journal of Rational-Emotive & Cognitive-Behavior Therapy* [online]. 2023, roč. 41, č. 3, s. 663–675. Dostupné na: doi:10.1007/s10942-022-00473-z

MADIGAN, Daniel J. a Thomas CURRAN, 2021. Does Burnout Affect Academic Achievement? A Meta-Analysis of over 100,000 Students. *Educational Psychology Review* [online]. 2021, roč. 33, č. 2, s. 387–405. Dostupné na: doi:10.1007/s10648-020-09533-1

MASLACH, Christina a Susan E. JACKSON, 1981. The measurement of experienced burnout. *Journal of Organizational Behavior* [online]. 1981, roč. 2, č. 2, s. 99–113. Dostupné na: doi:10.1002/job.4030020205

ROESE, Neal J. a Kai EPSTUDE, 2017. The functional theory of counterfactual thinking: New evidence, new challenges, new insights. V: Olson J. M. Elsevier Academic Press, s. 1–79. ISBN 978-0-12-812120-7. Dostupné na: doi:10.1016/bs.aesp.2017.02.001

ROSALES-RICARDO, Yury, Florentino RIZZO-CHUNGA, Julio MOCHA-BONILLA, José P. FERREIRA, Yury ROSALES-RICARDO, Florentino RIZZO-CHUNGA, Julio MOCHA-BONILLA a José P. FERREIRA, 2021. Prevalence of burnout syndrome in university students: A systematic review. *Salud mental* [online]. 2021, roč. 44, č. 2, s. 91–102. Dostupné na: doi:10.17711/sm.0185-3325.2021.013

RYE, Mark S., Melissa B. CAHOON, Rahan S. ALI a Tarika DAFTARY, 2008. Development and validation of the Counterfactual Thinking for Negative Events Scale. *Journal of Personality Assessment* [online]. 2008, roč. 90, č. 3, s. 261–269. Dostupné na: doi:10.1080/00223890701884996

SCHAUFELI, Wilmar B., Steffie DESART a Hans DE WITTE, 2020. Burnout Assessment Tool (BAT)-Development, Validity, and Reliability. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2020, roč. 17, č. 24, s. 9495. Dostupné na: doi:10.3390/ijerph17249495

SCHAUFELI, Wilmar. B., Hans DE WITTE a Steffie DESART, 2020. Manual Burnout Assessment Tool (BAT) – version 2.0. Belgium: Unpublished internal report: KU Leuven [online]. Dostupné na: [https://burnoutassessmenttool.be/handleiding\\_vragenlijst\\_eng/](https://burnoutassessmenttool.be/handleiding_vragenlijst_eng/)

SEO, Chanhee, Christina DI CARLO, Selina Xiangxu DONG, Karine FOURNIER a Kay-Anne HAYKAL, 2021. Risk factors for suicidal ideation and suicide attempt among medical students: A

meta-analysis. *PloS One* [online]. 2021, roč. 16, č. 12, s. e0261785. Dostupné na: doi:10.1371/journal.pone.0261785

SHOMAN, Yara, Emna EL MAY, Sandy Carla MARCA, Pascal WILD, Renzo BIANCHI, Merete Drevvatne BUGGE, Cigdem CAGLAYAN, Dimitru CHEPTEA, Marco GNESI, Lode GODDERIS, Sibel KIRAN, Damien M. MCELVENNY, Zakia MEDIOUNI, Ingrid Sivesind MEHLUM, Dragan MIJAKOSKI, Jordan MINOV, Henk F. VAN DER MOLEN, Evangelia NENA, Marina OTELEA a Irina GUSEVA CANU, 2021. Predictors of Occupational Burnout: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2021, roč. 18, č. 17, s. 9188. Dostupné na: doi:10.3390/ijerph18179188

SHOMAN, Yara, Valentin ROUSSON, Renzo BIANCHI a Irina GUSEVA CANU, 2022. Holistic Assessment of Factors Associated with Exhaustion, the Main Symptom of Burnout: A Meta-Analysis of Longitudinal Studies. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2022, roč. 19, č. 20, s. 13037. Dostupné na: doi:10.3390/ijerph192013037

SMALLMAN, Rachel a Amy SUMMERVILLE, 2018. Counterfactual thought in reasoning and performance. *Social and Personality Psychology Compass* [online]. 2018, roč. 12, č. 4, s. e12376. Dostupné na: doi:10.1111/spc3.12376

# SÚČASNÝ POHĽAD NA GLOBÁLNU MINIMÁLNU DAŇ

## *Current view on the global minimum tax*

Júlia Hoffmanová

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta*

**Abstrakt:** Tento príspevok sa venuje globálnej minimálnej dani v kontexte súčasných fenoménov globalizácie a digitalizácie. Cieľom tohto príspevku je poskytnúť stručný prehľad o vývoji a aktuálnom stave globálnej minimálnej dane a identifikovať prínosy, ktoré sa jej zavedením sledujú. Autorka v príspevku skúma, ako globálna minimálna daň slúži ako nástroj v boji proti daňovým únikom, vyhýbaniu sa daňovým povinnostiam a agresívnemu daňovému plánovaniu, ktoré sa nastali v dôsledku globalizácie a presúvania zisku do jurisdikcií s nízkou úrovňou zdanenia. Príspevok tiež analyzuje, ako zavedenie globálnej minimálnej dane môže prispieť k efektívnejšiemu zdaňovaniu nadnárodných spoločností a zabezpečeniu spravodlivejšej konkurencie medzi štátmi.

**KLúčové slová:** *Globálna minimálna daň, Globalizácia, Digitalizácia, Daňové úniky, Daň z príjmov*

**Abstract:** This paper focuses on the global minimum tax in the context of current phenomena of globalization and digitalization. The aim of this paper is to provide a brief overview of the development and current state of the global minimum tax and to identify the benefits that are pursued by its implementation. The author in the paper examines how the global minimum tax serves as a tool in the fight against tax evasion, tax avoidance, and aggressive tax planning, which have arisen as a result of globalization and profit shifting to jurisdictions with a low level of taxation. The paper also analyzes how the introduction of a global minimum tax can contribute to more effective taxation of multinational companies and ensure fairer competition among states.

**Keywords:** *Global Minimum Tax, Globalization, Digitalization, Tax Evasion, Income Tax*

## Úvod

Globalizáciu a digitalizáciu možno v týchto dňoch považovať za javy, ktoré zrejme najpresnejšie charakterizujú súčasnú dobu. S cieľom zabezpečiť efektívnejšie fungovanie hospodárstva a spoločný rast patrí medzi stratégie Európskej únie (ďalej len „EÚ“) reagovať na tieto javy včas a efektívne. EÚ prejavuje záujem byť atraktívnym priestorom pre digitálne spoločnosti predovšetkým z dôvodu príležitostí, ktoré sa s nimi spájajú, ako je napríklad vytváranie nových pracovných miest, pokrok vo vzdelávaní či stimulácia konkurencieschopnosti a rozvoj v oblasti inovácií (Rada Európskej únie: Digitálna budúcnosť pre Európu). Význam fenoménu globalizácie možno vnímať v oblasti svetového hospodárstva, nakoľko geografická vzdialenosť nie je tak významná, ako tomu bolo v minulosti. V dôsledku toho dochádza k rozvoju nielen medzinárodného obchodu ale taktiež aj ku vzniku nových obchodných modelov a napredovaniu medzinárodných obchodných skupín.

Tejto skutočnosti napomáha aj stále rozširujúca sa a v neposlednom rade aj všadeprítomná digitalizácia a s ňou spojená digitálna ekonomika, ktorú možno vnímať ako podkategóriu ekonomiky ako takej (Hrabčák, Stojáková, 2020). Vzostup digitalizácie a globalizácie, napriek ich početným výhodám, predstavuje z pohľadu daňového práva výzvu, s ktorou sú jednotlivé ekonomicky nútené vysporiadať sa. Tovary a služby sa stávajú stále mobilnejšie a zároveň ich nehmotný charakter znižuje potrebu fyzickej prítomnosti a infraštruktúry pre potreby tvorby zisku. Práve táto skutočnosť spôsobuje riziko vzniku daňových únikov, vyhýbania sa daňovej povinnosti, rozširovania agresívneho daňového plánovania a v neposlednom rade aj riziko stále intenzívnejšej škodlivej súťaže medzi štátmi o daňové príjmy pochádzajúce od týchto spoločností.

Jedným z nástrojov, ktoré slúžia v prospech plnenia daňových povinností a pôsobia preventívne voči praktikám obchodných spoločností je administratívna spolupráca členských štátov EÚ, ktorá spočíva v automatickej výmene informácií medzi dotknutými štátmi. Napriek významnému prínosu automatickej výmene informácií bolo potrebné pristúpiť k spolupráci štátov aj na inej úrovni. S cieľom boja proti negatívnym javom vzniknutým následkom globalizácie a digitalizácie pristúpili OECD, EÚ a ďalšie jednotlivé štáty k tzv. Dvojpilierovému riešeniu (Z angličtiny: „Two-Pillar

*Solution*“), ktorého cieľom je predchádzať vzniku daňových únikov (Pilier I.) a zaviesť tzv. Globálnu minimálnu daň (Pilier II.).

Cieľom tohto príspevku je za pomoci štandardných vedeckých metód (analýza, historická metóda a metóda syntézy) poskytnúť stručný prehľad o vývoji globálnej minimálnej dane, predstaviť aktuálny bod jej vývoja a poukázať na prínosy, ktoré sa jej zavedením sledujú.

## Cesta k prijatiu Globálnej minimálnej dane

Ako sme už v úvode načrtli, stále významnejšie daňové úniky v oblasti medzinárodného zdaňovania a zvyšovanie intenzity škodlivej súťaže medzi štátmi o daňové príjmy boli primárnym podnetom pre potrebu nájsť riešenie, ktoré by prinajmenšom obmedzovalo a v ideálnej rovine vylučovalo vznik a vývoj týchto negatívnych javov a praktík s nimi spojených. Nakoľko je tento problém komplexný a presahuje hranice jednotlivých štátov, vznikla zhoda na potrebe nájsť multilaterálne riešenie nastoleného problému, na ktorom sa bude podieľať čo najväčšie množstvo štátov. Organizácia pre hospodársku spoluprácu a rozvoj (ďalej len „OECD“) bola lídrom v iniciatíve týkajúcej sa prípravy návrhu globálnej minimálnej dane a už v roku 2019 začala s prípravou vlastného návrhu jej budúcej podoby a deklarovala vytvorenie dohody do konca roka 2020 (Bunn, Bray, 2023). Zároveň na úrovni EÚ bolo prijaté Uznesenie Európskeho parlamentu z 18. decembra 2019 o spravodlivom zdaňovaní v digitalizovanom a globalizovanom hospodárstve: BEPS 2.0, ktoré reagovalo napríklad aj na finančnú krízu v rokoch 2008 – 2009 či sériu odhalení novinárov a organizácií občianskej spoločnosti týkajúcich sa praktík daňových únikov, agresívneho daňového plánovania, vyhýbania sa daňovým povinnostiam a prania špinavých peňazí (ide napríklad o odhalenia pod skratkou Panama Papers, LuxLeaks, Swiss Leaks a ďalšie). Z tohto uznesenia vyplýva jednoznačná podpora OECD a výzva smerovaná voči členským štátom EÚ a Komisii, aby pristúpili k dohode na spoločnej pozícii pre rokovania OECD a aby vystupovali jednotne.

Ďalší posun vpred nastal v roku 2021, kedy sa uskutočnilo stretnutie ministrov financií patriacich do skupiny G7 (Európska komisia: G7; Skupinu G7 tvorí Kanada, Francúzsko, Nemecko, Taliansko, Japonsko, Spojené Kráľovstvo a Spojené Štáty Americké), na ktorom sa títo ministri, ako predstavitelia siedmich najväčších ekonomík sveta dohodli, že zavedú inštitút globálnej minimálnej dane, ktorá bude minimálne vo výške 15 %. Dohoda zástupcov siedmich najsilnejších ekonomík znamenala odstránenie prekážok, ktoré by spočívali v nezhode medzi štátmi a predstavovala ďalší významný posun pre dosiahnutie vytýčeného cieľa. Harmonizácia v oblasti nepriamych daní je už počas dlhšieho obdobia skutočnosťou, avšak štáty vnímajú harmonizáciu priamych daní ako zásah do ich daňovej suverenity a preto prijatie dohody o prehĺbovaní spolupráce v oblasti priamych daní možno vnímať ako významný posun vpred.

V roku 2021, konkrétne 8. októbra vydala OECD vyhlásenie s názvom „*Statement on a Two-Pillar Solution to Address the Tax Challenges Arising from the Digitalisation of the Economy*“, podľa ktorého Modelové pravidlá na implementáciu tzv. pravidiel Global Anti-Base Erosion (ďalej len „pravidlá GloBE“) mali byť vypracované do konca novembra 2021.

V nasledujúcom období boli práce motivované vôľou pripraviť finálnu verziu modelových pravidiel globálnej minimálnej dane, pričom už 14. decembra 2021 boli predmetné modelové pravidlá obsiahnuté v dokumente s názvom „*Tax Challenges Arising from the Digitalisation of the Economy – Global Anti-Base Erosion Model Rules (Pillar Two): Inclusive Framework on BEPS*“.

## Globálna minimálna daň

Globálna minimálna daň je súčasťou Dvojpilierového riešenia navrhnutého OECD v rámci Inkluzívneho rámca OECD/G20 a v konkrétnej rovine predstavuje jeho Pilier II. Ako uvádzajú Hrabčák a Stojáková, v rámci svetovej ekonomiky možno vnímať ustálenú kategorizáciu štátov, ktorá sa využíva od obdobia studenej vojny. Na základe nej možno štáty kategorizovať do troch oblastí, a teda na:

1. Rozvinuté krajiny - práve do tejto kategórie môžeme zaradiť členské štáty OECD a zároveň členské štáty EÚ,

2. Krajiny s transformujúcou sa ekonomikou - sem radíme predovšetkým krajiny juhovýchodnej Európy,
3. Rozvojové krajiny - túto kategóriu tvoria štáty, ktoré nie je možné zaradiť do žiadnej z predchádzajúcich (Hrabčák, Stojáková, 2020).

V čase nedostatočnej daňovej regulácie nadnárodných spoločností najviac profitovali zo vzniknutého stavu rozvinuté krajiny a krajiny označované ako tzv. daňové raje, ktoré v dôsledku uplatňovania nízkych sadzieb dane lákali nadnárodné spoločnosti, aby presúvali zisky do týchto krajín a odvádzali v nich aj daň. V roku 2021 patrili medzi daňové raje krajiny ako napr. Holandsko, Švajčiarsko, Luxembursko či Britské Panenské ostrovy (Tax Justice Network, 2021). Na druhej strane rozvojové krajiny ako Tanzánia, Indonézia, Nigéria a mnoho ďalších pocítovali stúpajúcu krízu a odliv zisku nadnárodných spoločností do krajín s nižšou úrovňou zdanenia, teda spravidla do daňových rajov.

Pravidlá GloBE sa uplatňujú výlučne na tie spoločnosti, ktoré spadajú do stanoveného rámca. Podľa čl. 1.1 Modelových pravidiel OECD (OECD, 2021) sa pravidlá GloBE uplatnia na tie medzinárodné skupiny, ktorých ročný konsolidovaný príjem predstavuje aspoň 750 miliónov EUR za bezprostredne predchádzajúci finančný rok. Ak spoločnosti dosiahnu danú hranicu, budú podliehať efektívnej sadzbe dane vo výške 15 %.

Snahou krajín spolupracujúcich na vytvorení globálnej minimálnej dane bolo vytvoriť pravidlá, ktoré by reflektovali spomínané praktiky a ktoré by znížili motiváciu presúvať zisky do iných krajín výhradne s daňovou motiváciou. Pravidlá GloBE sú založené na dvoch základných pravidlách, a to:

1. Pravidlo „*Income Inclusion Rule*“, resp. pravidlo zahrnutia ziskov (ďalej len „IIR“)- v súlade s týmto pravidlom sa uloží tzv. „dorovnávací daň“ materskému subjektu nadnárodného podniku alebo veľkej vnútroštátnej skupine, ak ich zdaniteľný príjem je pod minimálnou efektívnou sadzbou dane, teda sadzbou vo výške 15% (OECD, 2013).
2. Pravidlo „*Undertaxed Payments Rule*“, teda pravidlo pre nedostatočne zdanené zisky- toto pravidlo sa uplatní subsidiárne, ak materská spoločnosť dotknutej skupiny nebude podliehať IIR, teda pôjde najmä o situácie, kedy táto spoločnosť sídli v jurisdikcii, kde nedošlo k zavedeniu IIR (Blažejová, 2023).

EÚ v tomto ohľade pristúpila k prijatiu dokumentu *Smernica Rady (EÚ) 2022/2523 zo 14. decembra 2022 o zabezpečení globálnej minimálnej úrovne zdanenia nadnárodných skupín podnikov a veľkých vnútroštátnych skupín v Únii* (ďalej len „Smernica“), ktorá vychádza z rámcových pravidiel OECD a na základe ktorej vznikla členským štátom EÚ povinnosť zaviesť do vnútroštátnych poriadkov Globálnu minimálnu daň. Podľa bodu 29 Preambuly predmetnej Smernice bola lehota na transpozíciu členskými štátmi EÚ stanovená najneskôr do 31. decembra 2023.

Podľa WTS Global len osemnásť členských krajín EÚ z celkového počtu dvadsaťsedem včas transponovalo túto Smernicu do vnútroštátnych poriadkov. Medzi tieto krajiny patrí: Rakúsko, Belgicko, Bulharsko, Chorvátsko, Česká republika, Dánsko, Fínsko, Francúzsko, Nemecko, Maďarsko, Írsko, Taliansko, Luxembursko, Holandsko, Rumunsko, Slovensko, Slovinsko a Švédsko (WTS Global, 2024). Máme za to, že nesplnenie si povinnosti zo strany deviatich členských štátov EÚ bude pravdepodobne mať negatívny následok, ktorý sa môže prejaviť v podobe nezdanenia príjmov dotknutých medzinárodných skupín pôsobiacich v týchto štátoch, ktoré by pri dodržaní lehoty na transpozíciu Smernice podliehali dorovnávací dani v daných štátoch. Tento dôsledok môže spôsobiť vznik nerovnosti a tým pôsobiť diskriminačne pre spoločnosti, ktorých zisk bude podliehať už novozavedeným pravidlám zdaňovania. Z toho dôvodu považujeme omeškanie vybraných štátov za nespravodlivé nakoľko napriek stanovenej lehote na transpozíciu už v začiatkoch pôsobenia nových pravidiel nerešpektovali nastolené podmienky.

V podmienkach Slovenskej republiky bola Smernica transponovaná *Zákonom č. 507/2023 Z. z., o dorovnávací dani na zabezpečenie minimálnej úrovne zdanenia nadnárodných skupín podnikov a veľkých vnútroštátnych skupín a o doplnení zákona č. 563/2009 Z. z. o správe daní (daňový poriadok) a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov* (ďalej len „ZGMD“), ktorý

Národná rada Slovenskej republiky prijala dňa 8. decembra 2023. Prostredníctvom ZGMD sa Slovenská republika rozhodla pristúpiť k zabezpečeniu minimálneho zdanenia vo forme vnútroštátnej dorovnávej dane tým, že má zabezpečiť, aby subjekty konsolidovanej skupiny podnikov s ročnými výnosmi aspoň 750 miliónov eur dosiahnutých v najmenej dvoch zo štyroch účtovných období predchádzajúcich analyzovanému účtovnému obdobiu podliehali dorovnávej dani za predpokladu, že efektívne zdanenie príjmov subjektov skupiny v Slovenskej republike nebude presahovať úroveň minimálnej sadzby dane vo výške 15 %. V zákone sú primárne obsiahnuté ustanovenia potrebné na výpočet minimálnej úrovne efektívneho zdanenia a taktiež je definovaný spôsob, akým bude platba a vyberanie dorovnávej dane zabezpečené.

Nakoľko ide o dynamicky sa rozvíjajúcu oblasť, Ministerstvo financií Slovenskej republiky už zverejnilo dňa 10. januára 2024 predbežnú informáciu o návrhu novely ZGMD. Z predbežnej informácie vyplýva, že Inkluzívny rámec OECD/G20 zverejnil počas roka 2023 administratívne usmernenia ku globálnym modelovým pravidlám proti narúšaniu základu dane, ktoré nie sú súčasťou Smernice. OECD v tejto súvislosti potvrdila, že pri uplatňovaní Smernice je potrebné zabezpečiť súlad s týmito dokumentmi, aby sa zabránilo nesúladu alebo uplatniteľnosti odlišných noriem (Predbežná informácia k Návrhu novely Zákona č. 507/2023 Z. z. o dorovnávej dani na zabezpečenie minimálnej úrovne zdanenia nadnárodných skupín podnikov a veľkých vnútroštátnych skupín a o doplnení zákona č. 563/2009 Z. z. o správe daní (daňový poriadok) a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov).

## Záver

Zdaňovanie nadnárodných spoločností globálnou minimálnou daňou predstavuje komplexnú a zároveň dynamicky sa vyvíjajúcu problematiku. Tento príspevok bol zameraný na poskytnutie súčasného pohľadu na globálnu minimálnu daň, ktorá sa stala aktuálnou témou v kontexte globalizácie a digitalizácie. Cieľom bolo poskytnúť stručný prehľad o jej vývoji a aktuálnom stave, ako aj poukázať na jej prínosy, ktoré sa jej zavedením sledujú.

Z analýzy vyplýva, že globálna minimálna daň predstavuje významný nástroj v boji proti daňovým únikom, vyhýbaniu sa daňovým povinnostiam a agresívnemu daňovému plánovaniu, ktoré nastali ako dôsledok globalizácie a presúvania zisku do jurisdikcií s nízkou úrovňou zdanenia. Jej zavedenie je reakciou na potrebu efektívnejšieho zdaňovania nadnárodných spoločností, zabezpečenia spravodlivejšej konkurencie medzi štátmi a zvýšenia transparentnosti. Na druhej strane však je potrebné zohľadniť skutočnosť, že pristúpením k zavedeniu globálnej minimálnej dane sa štáty opäť vzdali časti svojej daňovej suverenity a nezávislosti v určovaní vlastných daňových pravidiel. Je preto z dlhodobého hľadiska potrebné dbať na to, aby boli vytvorené vyvážené podmienky, v ktorých žiaden zo štátov nebude podliehať znevýhodneniu oproti iným v dôsledku ekonomickej vyspelosti či iného aktuálneho faktora. Z toho dôvodu je nevyhnutné, aby pri implementácii globálnej minimálnej dane boli zohľadnené aj potreby rozvojových krajín a aby boli minimalizované negatívne dopady na tieto krajiny.

Významným míľnikom vo vývoji globálnej minimálnej dane bol rok 2021, kedy došlo k dohode medzi členmi skupiny G7 a následne aj k vydaniu modelových pravidiel OECD. Napriek tomu, že nie všetky členské štáty EÚ stihli včas transponovať smernicu o globálnej minimálnej dani do svojich vnútroštátnych právnych predpisov, je zrejmé, že sa jedná o významný krok vpred v oblasti medzinárodného zdaňovania. V rámci Slovenskej republiky bola smernica transponovaná včas, čo poukazuje na jej dôležitosť a relevanciu v kontexte slovenského daňového systému. Na druhej strane však niekoľko štátov nerešpektovalo dohodnutý termín na transpozíciu, čo je možné vnímať ako rizikový faktor nakoľko v dôsledku toho nie je vylúčené, že sa spoločnosti podliehajúce pravidlám do času transpozície vyhnú novej právnej úprave.

Záverom je možné konštatovať, že globálna minimálna daň predstavuje významný nástroj v rámci medzinárodného zdaňovania, ktorý napomáha k efektívnejšiemu fungovaniu hospodárstva a zabezpečuje spravodlivejšiu konkurenciu medzi štátmi. Jej vývoj a implementácia sú však stále v procese a je potrebné sledovať ďalšie kroky a opatrenia v tejto oblasti.

## Použitá literatúra

Blažejová, Z., 2023. KPMG: Rada EÚ prijala smernicu o minimálnej dani. [online] Dostupné na: <https://www.danovky.sk/sk/rada-eu-prijala-smernicu-o-minimalnej-dani> [Citované 07.04.2024].

Bunn, D. a Bray, S., 2023. The Latest on the Global Tax Agreement. V: Tax foundation.

Dôvodová správa, osobitná časť k Zákonu č. 507/2023 Z. z. o dorovnávej dani na zabezpečenie minimálnej úrovne zdanenia nadnárodných skupín podnikov a veľkých vnútroštátnych skupín a o doplnení zákona č. 563/2009 Z. z. o správe daní (daňový poriadok) a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov

Doložka vybraných vplyvov k Zákonu č. 507/2023 Z. z. o dorovnávej dani na zabezpečenie minimálnej úrovne zdanenia nadnárodných skupín podnikov a veľkých vnútroštátnych skupín a o doplnení zákona č. 563/2009 Z. z. o správe daní (daňový poriadok) a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov

Európska komisia: G7.

Hrabčák, L. a Stojáková, M., 2020. Digitálna ekonomika, digitálne služby a daň z digitálnych služieb-hrozba alebo výzva pre normotvorcov?. *STUDIA IURIDICA Cassoviensia*, s. 16, 17. [online] Dostupné na: <https://doi.org/10.33542/SIC2020-1-02> [Citované 07.04.2024].

OECD, n.d. Tax Challenges Arising from Digitalisation of the Economy – Global Anti-Base Erosion Model Rules (Pillar Two). 2021.

OECD, n.d. The Pillar Two Rules in a Nutshell. 2023. s. 4. [online] Dostupné na: <https://www.oecd.org/tax/beps/pillar-two-model-rules-in-a-nutshell.pdf> [Citované 30.03.2024].

Predbežná informácia k Návrhu novely Zákona č. 507/2023 Z. z. o dorovnávej dani na zabezpečenie minimálnej úrovne zdanenia nadnárodných skupín podnikov a veľkých vnútroštátnych skupín a o doplnení zákona č. 563/2009 Z. z. o správe daní (daňový poriadok) a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov

Rada Európskej únie: Digitálna budúcnosť pre Európu.

Tax Justice Network, 2021. Corporate Tax Haven Index - 2021 Results. [online] Dostupné na: <https://cthi.taxjustice.net/en/> [Citované 09.04.2024].

WTS Global, 2024. Pillar Two: Updates January 2024. [online] Dostupné na: <https://wts.com/global/publishing-article/20240205-pillar-two-implementation-status-january~publishing-article> [Citované 09.04.2024].



## POETIKA KAROLA HORÁKA V KONTEXTE INTERMEDIÁLNYCH VZŤAHOV

*Poetics of Karol Horák in the Context of Intermedia Relations*

Laura Hoľanová

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Príspevok analyzuje tvorbu slovenského dramatika, režiséra, spisovateľa, literárneho vedca, teatrológa a vysokoškolského pedagóga Karola Horáka, ktorý významným spôsobom ovplyvnil slovenskú umeleckú tvorbu. Jeho prínos je možné vidieť nielen v umeleckej publikačnej činnosti a širokom zábere jeho umeleckej tvorby (prozaické diela, rozhlasové hry, divadelné hry, televízne filmy a inscenácie), ale aj vo vedecko-odbornej sfére publikovaním monografií v oblasti literatúry, divadla a filmu a zároveň v dlhoročnej práci, odbornom i umeleckom vedení študentov najskôr Divadla poézie Filozofickej fakulty Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Prešove a neskôr Študentského divadla Prešovskej univerzity v Prešove. Autorka sa zamerala na fenomén intermediality, ktorý je významnou súčasťou poetiky autora.

**KLúčové slová:** *Karol Horák, fenomén intermediality, slovenská próza, slovenská rozhlasová dráma, slovenská divadelná dráma.*

**Abstract:** The paper analyses the work of the Slovak playwright, director, writer, literary scholar, theatre scholar and university lecturer Karol Horák, who significantly influenced Slovak artistic production. His contribution can be seen not only in his artistic publishing and the wide range of his artistic output (prose works, radio plays, theatre plays, television films and productions), but also in the scientific and professional sphere through the publication of monographs in the field of literature, theatre and film, as well as in his long-standing work, professional and artistic guidance of students, first at the Poetry Theatre of the Faculty of Arts of the Pavol Jozef Šafárik University in Presov and later at the Student Theatre of the University of Presov. The author focused on the phenomenon of intermediality, which is an important part of the author's poetics.

**Keywords:** *Karol Horak, phenomenon of intermediality, slovak prose, slovak radio drama, slovak theatre drama.*

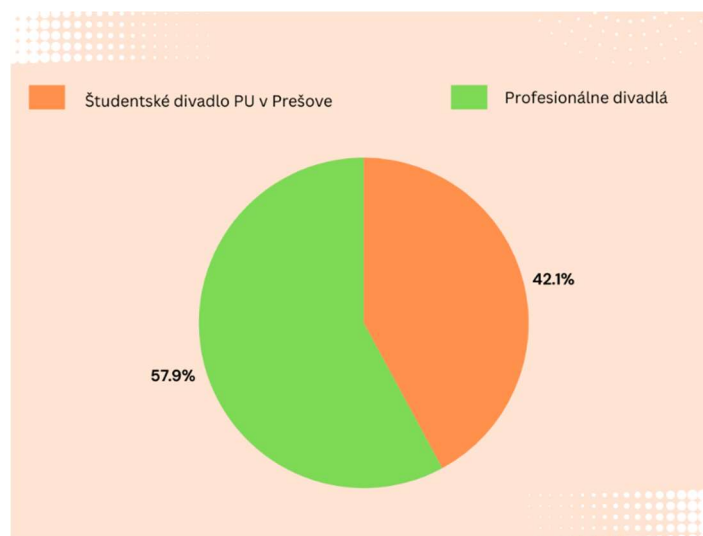
### Všestraný autor

Pre umeleckú tvorbu Karola Horáka je príznačné prenikanie prvkov jednotlivých umeleckých druhov (lyrika, epika, dráma) medzi sebou. V ranných začiatkoch svojej tvorby Horák písal experimentálnu prózu krátkeho rozsahu. Jeho literárnou prvotinou bola zbierka asujetových próz pod názvom *Medzivojnový muž*, ktorú napísal približne v rokoch 1966 až 1967. Ako uvádza Sabol (2013, s. 176) vydanie siedmich próz (*Šantenie, Účet z préterita, Hmat, Sluch, Čuch, Chuť, Zrak*) bolo napokon pozastavené, pretože literárne texty sa po roku 1968 podrobili opätovnému posudzovaniu a Horákov debutové dielo bolo vyhodnotené ako nevyhovujúce vtedajším požiadavkám socialistického realizmu. Prvotný neúspech neodradil autora, aby pokračoval v prozaickej tvorbe.

V roku 1974 bola vydaná zbierka *Dve prózy* vo vydavateľstve Slovenský spisovateľ, ktorá obsahovala časť pôvodného rukopisu nevydanej zbierky *Medzivojnový muž*. Publikácia však napokon opäť z ideových dôvodov nebola distribuovaná, zachovali sa len tri exempláre. Po dvoch nezdarených pokusoch sa Horák dočkal svojho literárneho debutu až v roku 1977 vydaním románu *Cukor*, za ktorý mu vydavateľstvo Slovenský spisovateľ v tom istom roku udelilo výročnú cenu. Ďalšou cenou tentokrát z vydavateľstva Smena bola ohodnotená zbierka noviel *Súpis dravcov* (novely *Zánik dialektu* a *Kurz cudzieho jazyka*), ktorá bola vydaná v roku 1979 vďaka úprave pôvodnej proskribovanej zbierky *Dve prózy* z roku 1974. Horák následne publikoval ešte niekoľko próz kratšieho rozsahu vo viacerých literárne zameraných periodikách, napr. *Literární měsíčník* alebo *Romboid* (Inštorisová, 2007, s. 143, s. 173 – 179). V roku 2013 vydavateľstvo Modrý Peter napokon publikovalo zakázanú zbierku *Medzivojnový muž* s menšími obmenami v porovnaní s textom, na ktorom Horák pracoval v rokoch 1966 až 1967, pretože pôvodný rukopis sa nezachoval. Zbierka bola

navyššie doplnená o ďalšie dve už vydané novely *Zánik dialektu* a *Kurz cudzieho jazyka* a je dovedna poslednou knižnou publikáciou autora.

Odklon Karola Horáka od literárnej tvorby k divadlu spôsobila vtedajšia nepriaznivá spoločenská situácia a jeho neochota podriaďiť sa preferovanému kánonu socialistického realizmu. Prvý kontakt s drámou v amatérskom Študentskom divadle Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Prešove mu poskytol hľadajú slobodu v umeleckom vyjadrení a nonkonformnej poetike. Už počas svojho vysokoškolského štúdia na Filozofickej fakulte Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Prešove získal potrebné znalosti v oblasti teórie a dejín divadla, ako aj skúsenosti s umeleckým prednesom (Šotola, Válek, Fearing) a účinkovaním vo fakultnom Divadielku poézie a hudby a v Divadle poézie Na konečnej v Solivare pod vedením Štefana Oľhu (Inštorisová, 2007, s. 9, s. 142). Horák naplno rozvinul postmodernú poetiku v slovenskej dramatickej tvorbe v sedemdesiatych až osemdesiatych rokoch. Deväťdesiate roky predstavujú v jeho tvorbe míľnik prechodu k postdramatickému divadlu, čo sa prejavilo v monologickej, posilnenej naratívnej, vo fragmentárnom spracovaní tematických výsekov reality. Príbeh nahrádza situácia, dochádza k deleniu času a postavy majú hlbšie pozadie. Dramatické diela autor písal vo väčšine prípadov pre konkrétnych inscenátorov Študentského divadla FF UPJŠ v Prešove alebo pre profesionálne divadlá naprieč celým Slovenskom (Štefko, 2013, s. 15 – 16). Medzi prvé napísané hry, ktoré boli uvedené v Študentskom divadle Prešovskej univerzity v Prešove v sedemdesiatych až osemdesiatych rokoch, patria drámy *Džura* (1971), *Živý nábytok* (1975), *Tip-top biotop alebo Blšinec* (1976), *Šu-šu-Šukšín* (1980), *Elementaristika* (1981). Prvou drámou, ktorá bola uvedená na doskách profesionálnej scény Komorného divadla v Martine, bol *Medzivojnový muž* v roku 1984. Od tohto momentu sa Horák etabloval ako skúsený autor vo viacerých slovenských profesionálnych divadlách (Komorné divadlo v Martine, Poetický súbor Novej scény v Bratislave, Divadlo Jonáša Záborského v Prešove, Divadlo Andreja Bagara v Nitre, Činohra SND v Bratislave, Divadlo Alexandra Duchnoviča v Prešove, Bábkové divadlo v Košiciach, Scéna Jorik pri Bábkovom divadle v Košiciach, Štátne divadlo Košice, Činohra ŠD Košice, Malá scéna Štátneho divadla v Košiciach, Divadlo Jozefa Gregora Tajovského vo Zvolene, Spišské divadlo v Spišskej Novej Vsi).



Obr. 3 Podiel divadelnej tvorby K. Horáka v študentskom divadle a v profesionálnych divadlách v rokoch 1971 - 2022

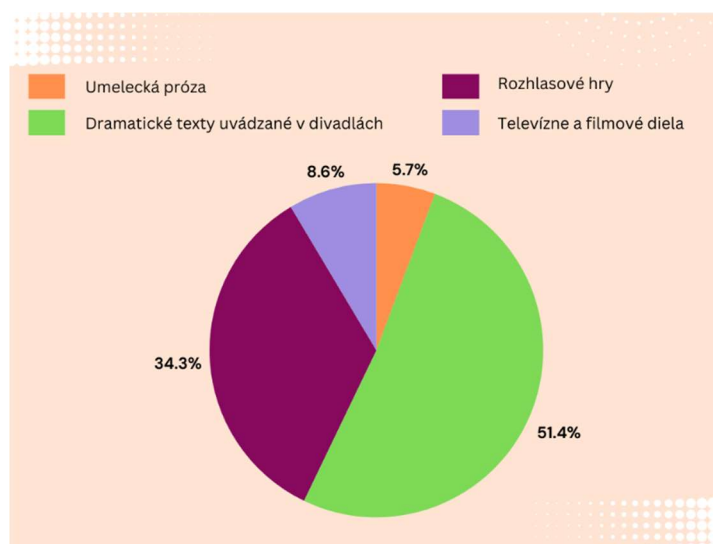
Karol Horák spája tradičnú dramatickú tvorbu a autorské divadlo tým, že píše „všeobecné“ hry, ktoré môžu byť realizované v rôznych divadlách podľa vlastnej režijno-dramaturgickej koncepcie napriek tomu, že boli zväčša napísané pre konkrétny divadelný súbor profesionálneho divadla. Na druhej strane píše hry na objednávku konkrétnej tvorivej skupiny predovšetkým pre členov študentského divadla v Prešove. Aj v tomto prípade vzniká prienik, kedy hry pôvodne napísané pre domáci divadelný súbor študentského divadla možno uviesť aj v iných divadlách. Vďaka tomu K. Horák ako jeden z najvýznamnejších predstaviteľov slovenskej drámy a iniciátor premiery slovenskej drámy a divadla v šesťdesiatych rokoch spája dve generačné zoskupenia slovenskej drámy (Mistrík, 1996, s. 15).

Obdobie osemdesiatych rokov prinieslo nové impulzy rovnako aj v slovenskej rozhlasovej dráme. Fenomén intermediálnosti bol v rozhlasovej dráme prítomný od jej počiatku najmä vo vzťahu k divadlu a literatúre. V osemdesiatych rokoch došlo k intenzívnemu ovplyvňovaniu námetom, filozofiou alebo výrazovými prostriedkami v prípade rozhlasových adaptácií. Vtedajšia kultúrna politika vyvíjala tlak na sprostredkovanie diel masovými médiami, ktoré boli až do roku 1989 pod dohľadom socialistickej ideológie. Horák začal v Československom rozhlase košického štúdia pôsobiť v uvoľnených podmienkach osemdesiatych rokov, aj keď v tom období už bol skúseným dramatikom, ktorý od sedemdesiatych rokov aktívne tvoril v Študentskom divadle FF UPJŠ v Prešove. Intertextové nadväzovanie a intermediálne presahy sú pre jeho tvorbu typické. Jeho drámy majú varianty v divadelnej i rozhlasovej podobe, ktoré vznikali postupne alebo súčasne, a sú často aj transformáciami autorovej prozaickej tvorby (Mitrová, 2010, s. 154 – 157). Hoci bola naďalej preferovaná metóda socialistického realizmu, popri nej sa vyvíjal a postupne silnel alternatívny prúd so zložitejším vyjadrovacím aparátom, ktorý umožňoval autorom venovať sa rôznym tabuizovaným témam. Mnohí autori vo svojich hrách v tomto období reflektovali na prichádzajúce postmoderné tendencie, do tejto skupiny patrí aj Karol Horák (Čahojová, 2002, s. 114).

Do rozhlasového éteru vstúpil hrou *Kurz cudzieho jazyka* (1981), nasledovala hra *Ucho* (1985), ktorá získala hlavnú cenu na IX. ročníku Festivalu pôvodnej rozhlasovej hry v Piešťanoch, ďalej hry *Žena menom Sisyfos* (1988), *Duša hry* (1991), *Poetica axiologica* (1991), „*Spravodliví volali a vyslyšal ich Pán*“ alebo *Traja košickí mučeníci* (1991), *Nulový bod* (1992), *Európa! Ó, Európa...* (1995), *Rekognoskacia alebo Nové pokúšanie Antona* (1995), *Vyššie tam je srdce* (1999), *Chronosov zub* (1999), *Svedectvo krvi* (1999), *Mesianistova hlava* (2000), *Arbitráž* (2002), *Spätné zrkadlo* (2004), *Hrdza* (2004, 2005), *La Musica* (2006), *Pretrhnuté osídla* (2007), *Prorok a tiene* (2010), *Muž zlatého srdca, životné osudy P. P. Gojdiča* (2012), *Abeceda citového šachu* (2016), *Dievčenská slza* (2018), *Preventívna prehliadka* (2018).

Osobitnú skupinu v Horákových dielach tvoria drámy s náboženskou tematikou, resp. náboženské drámy. Náboženská symbolika je v dielach využívaná na prízvukovanie spoločenských alebo morálnych hodnôt. Práve po roku 1989 si dramatik volí konfesijné témy, ktoré sa z povedomia príjemcov vytratil a nie je tak ocenený ich celospoločenský význam. V tomto období boli konfesijné témy v tvorbe viacerých autorov zvolené skôr ako spôsob zobrazovania náboženského útlaku so zámerom posilnenej ilustrácie negatív vtedajšej reality a politickej situácie (Žilková, 2013, s. 56).

Umelecká tvorba Horáka prenikla aj do televízneho priestoru. Na motívy románu *Cukor* vznikol rovnomenný televízny film (1983) v réžii Stanislava Párnického. Premiére *Cukru* predchádzali dokumentárno-dramatická kompozícia z listov nemeckých vojakov pod Stalingradom pod názvom *Posledná pošta* (1969) a televízna hra *Dve frašky* (1980) na motívy frašiek Jonáša Záborského *Pytač* a *Bohatý okrádač*. V roku 1996 mali premiéru obe časti dvojdielného televízneho filmu *Národný hriešnik*, za ktorý Horák získal hlavnú cenu v kategórii Pôvodný národný program a profesionálny výkon v oblasti televíznej tvorby v súťaži Telemúza '95 vyhlásenou Slovenskou televíziou v Bratislave. Rovnomenný televízny film na motívy divadelnej hry *Nové pokúšanie Antona* bol uvedený v roku 1998. K fraškám Jonáša Záborského (*Korhel'* a *Cudzoložník*) sa Horák vrátil v roku 1999, kedy malo premiéru jeho doposiaľ posledné televízne dielo – televízna hra *A ešte dve frašky...* (Inštorisová, 2007, s. 172 – 173).



Obr. 2 Zastúpenie jednotlivých typov médií v tvorbe K. Horáka v rokoch 1971 - 2022

Z uvedeného prehľadu vyplýva, že Karol Horák je všestranný autor, ktorý využíva rôzne komunikačné možnosti, ktoré ponúka literatúra, rozhlas, divadlo, televízia a film. Vďaka tomu je jeho umelecká tvorba rozšírenejšia a dostáva sa prostredníctvom rozhlasu a televízie k masovému publiku. Sabol definuje Horákovu intermediálnu tvorbu nasledovne: „Do prozaických textov preniká dramatický princíp a do dramatických útvarov preniká prozaická zložka predovšetkým vo využívaní narátorských princípov,“ (Sabol, 2019, s. 70). Podľa Čahojovej (2013, s. 16) Horák nepatrí k autorom, ktorí by striktno vymedzovali a dodržiavali hranice medzi jednotlivými literárnymi druhmi, čím sa vo filozofickej a estetickej rovine radí k autorom využívajúcim postmoderný spôsob vyjadrovania. Práve vďaka uvoľneným medzidruhovým hraniciam sú Horákovy texty vhodným materiálom na adaptovanie a prispôsobenie pôvodného textu potrebám a komunikačným špecifikám nových médií. Z uvedeného percentuálneho zastúpenia jednotlivých médií v Horákovskej umeleckej tvorbe vyplýva (obr. 2), že Horák je v prvom rade dramatikom, polovicu jeho tvorby predstavujú dramatické texty uvádzané v divadlách. Druhú najpočetnejšiu oblasť jeho tvorby reprezentujú rozhlasové hry. Za rozhlasom nasleduje televízia a film. Najmenej zastúpená je umelecká próza, do ktorej sme nezahrnuli knižné vydania drám autora: *Päť hier alebo Hrdina menom hra* (1990), *Šesť hier* (1996), *Štyri hry* (2001), *Komorné hry* (2004), *Hra ako divadlo* (2011).

## Intermedialita a literárna veda

Od 60. rokov 20. storočia sa v teórii literatúry a literárnej vede početne objavujú neologizmy. V dôsledku nových teoreticko-metodologických prístupov (literárna postmoderna, literárnovedný postštrukturalizmus, filozofický dekonštruktivizmus) vznikol pojem intertextualita, ktorý zaviedla francúzska literárna vedkyňa Julia Kristeva publikáciou *Bakhtine, le mot, le dialogue et le roman* v časopise *Critique* (1967). Od 70. rokov sa z neho stal medzinárodne uznávaný pojem. Za ďalším takýto neologizmus v súčasnej literárnej vede môžeme považovať intermedialitu.

V nadväznosti na intertextualitu zaviedol pojem intermedialita Aage Hansen-Löwe, pričom bol tento pojem akceptovaný najmä v Nemecku, menej v anglosaskom (pojmy intertextuality a intermediality sa často stotožňujú) a medzinárodnom bádateľskom kontexte. Podľa Wolfa (2011, s. 62) intermedialita poskytuje cenný rozhľad v širokom interdisciplinárnom priestore, v ktorom je účasť literárnej vedy vo veľkej miere relevantná. Za obzvlášť dôležitú časť považuje intermediálny výskum sústredený na literatúru. Počiatky záujmu o intermediálne vzťahy možno nájsť už v začiatkoch estetického myslenia v antike. Vzťahy medzi jednotlivými umeleckými druhmi boli predmetom záujmu Aristotela, podľa ktorého poézia a hudba vytvárajú neoddeliteľnú mediálnu jednotu.

Tak, ako nie je možné zamieňať pojmy text a médium, ani intertextualitu a intermedialitu nie je možné chápať synonymicky. Text predstavuje jazykový znakový komplex, naopak médium reprezentuje kanál určený na prenos informácií v technickej a materiálnej rovine (napr. písmo, tlač, rozhlas, CD a

DVD nosiče a pod.). Médium však špecificky využíva semiotický systém alebo kombináciu viacerých znakových systémov (napr. reč, obraz a hudba/zvuk v prípade filmu) s cieľom prenosu kultúrnych obsahov. V tomto zmysle dochádza k spojeniu foriem tradičných umení s novými komunikačnými formami. Intertextualita prekračuje hranice textu, neprekračuje však hranice verbálneho média, preto ju Wolf (2011, s. 63 – 65) zaradzuje do skupiny intramedialných vzťahov. Intermedialita presahuje hranice média, je teda širšia a obsiahlejšia v porovnaní s intertextualitou. Existujú však sporné prípady, napr. pri skúmaní vzťahov medzi románom a drámou je možné vychádzať z intertextuality – ak považujeme román a drámu za rozličné žánre rovnakého literárneho, resp. verbálneho média. Z hľadiska intermediality sú román a dráma chápané ako dve rôzne médiá. Intertextualita zahŕňa vonkajšieho vzťahu konkrétneho textu k pretextom alebo ich skupinám, resp. k východiskovým textom. V rámci intermediality je možné skúmať vnútorné vzťahy medzi rôznymi médiami v rámci jedného konkrétneho diela, ale aj vonkajšie vzťahy medzi rôznymi médiami mimo hraníc jedného diela.

### Intermedialita ako fenomén Horákovej poetiky

Podľa Mitrovej (2009, s. 98) v slovenskej literárnej tvorbe možno nájsť mnoho autorov, ktorí vo svojej tvorbe vedome využívajú fenomén intermedialnosti, pričom vo svojom príspevku uvádza dvoch najznámejších súčasných slovenských spisovateľov Janu Bodnárovú a Karola Horáka. Kým Bodnárová preferuje transformáciu prozaickej literárnej činnosti do rozhlasovej drámy, Horák využíva obojstrannú transformáciu protextu do divadelnej alebo rozhlasovej podoby v rôznom poradí. Horák v rozhovore s Mariánom Gladišom (2013, s. 246) uviedol, že rozhlasová tvorba mala pre neho špecifický prínos, preto väčšina jeho diel mala premiéru najskôr v rozhlasovej podobe: „[pozn. autorky: v rozhlase] som si 'oťukol' nosnosť príbehu a vlastne aj dialóg. [...] Mal som to šťastie, že som si to mohol odskúšať – v Košiciach, v Bratislave aj v Banskej Bystrici. [...] Bolo to akési 'laboratórium textu'.“

Medzi dramatizované prozaické texty do rozhlasovej podoby radíme:

1. **Kurz cudzieho jazyka** (1981): stereohra vychádza z novely *Kurz cudzieho jazyka* v súbornom knižnom diele pod názvom *Súpis dravcov* (1979);
2. **Žena menom Sifyfos** (1988): v stereohre autor spracoval motív silnej matky v neľahkej životnej situácii, ktorý sa pôvodne objavil v románe *Cukor* z roku 1977;
3. **Ucho** (1985): stereohra vznikla na základe motívov nevydaného rukopisu zbierky siedmich próz pod názvom *Medzivojnový muž*, ktoré autor napísal v rokoch 1966 až 1967. Pôvodný literárny text autor transformoval do rovnomennej divadelnej podoby (1984), neskôr bola aktualizovaná verzia prózy vydaná v zbierke v roku 2013.

Medzi pôvodné rozhlasové hry, ktoré boli adaptované do divadelnej inscenácie patria:

1. **Nulový bod** (1992): pôvodne stereofónna monodráma bola adaptovaná na divadelnú inscenáciu s totožným názvom s premiérou v roku 1993;
2. **Vyššie, tam je srdce** (1999): divadelná premiéra rovnomennej hry v roku 2003.

Do skupiny rozhlasových adaptácií divadelných hier patria nasledovné diela:

1. **Ucho** (1985): adaptácia divadelnej hry *Medzivojnový muž* (1984), ktorá vznikla na základe literárnej predlohy rovnomenného nevydaného súboru próz;
2. **Poetica axiologica** (1991): text prevzatý z divadelnej hry *Džura* realizovanej v malej javiskovej forme ako pohybovo-slovné kreácie v Divadle poézie FF UPJŠ v Prešove;
3. **Duša hry** (1991): rozhlasová adaptácia divadelnej hry *Skaza futbalu v meste K.* s premiérou v roku 1990;
4. **Európa! Ó, Európa...** (1995): pod rovnakým názvom mala divadelná hra premiéru v roku 1992;
5. **Svedectvo krvi** (1999): rovnomenná divadelná predloha stereohry uvedená v roku 1996;

6. **Chronosov zub** (1999): stereohra vychádza z monodrámy *Tehotná hudbou* (1997), motivické inšpirácie nachádzame aj v dráme *Cesta* (1988) a v románe *Cukor* (1977);
7. **Spätné zrkadlo** (2004): divadelná hra s podtitulom *Monodráma pre jednu, ba aj dve dámy* vznikla ako spoločný projekt Študentského divadla FF Prešovskej univerzity v Prešove s činohrou Divadla Jonáša Záborského v Prešove s premiérou v roku 2003 v rámci festivalu Akademický Prešov.

V Horákovej tvorbe rezonuje niekoľko opakujúcich sa tém. Rodinné skúsenosti s prvou svetovou vojnou nepochybne zasiahli a inšpirovali autora natoľko, že téme vojny a jej negatívnych následkov na život človeka venoval vo svojej tvorbe značný priestor. Druhou tematickou oblasťou je slovenská národná história a jej významné osobnosti (Ľudovít Štúr, Janko Kráľ, Jonáš Záborský), ktorú podrobuje postmodernému zobrazovaniu. Horák sa nebránil ani modernejším vplyvom a vyberal si súčasné témy ako problém s alkoholom, drogami či vnútorná prázdnota človeka. Vo vojnovnej tematike možno rozdeliť diela do dvoch skupín. V prvej skupine autor spracoval tému vojny prostredníctvom archetypu ženskej hrdinky, ktorá čelí ťaživej životnej situácii spôsobenej vojnou. Hlavné hrdinky v Horákových dielach sú matky, ktoré sa snažia zachrániť svoju rodinu a vydávajú sa na náročnú cestu, aby zabezpečili svojej rodine základné potreby, ktoré im v čase vojny chýbajú. Prvýkrát sa príbeh matky objavil v románe *Cukor* (1977), v roku 1983 bol sfilmovaný a v roku 1988 vznikla na motívy románu rozhlasová hra *Žena menom Sisyfos* (premiéra 11. 9. 1988) a neskôr tri divadelné hry *Cesta* (premiéra 18. 6. 1988), *Muž z tamtej strany* (premiéra 28. 10. 1988) a pre študentské divadlo *Inšpícia alebo Sisyfos po slovensky* (premiéra 17. 5. 1985). Do druhej skupiny diel tematicky orientovaných na problematiku vojny patria tie texty, v ktorých Horák zhmotnil obraz vojny prostredníctvom mužského archetypu. Absurdnosť vojny zobrazuje v osude vojakov, vojnových veteránov alebo invalidov. Horák napísal novelu *Medzivojnový muž* o mladom vojakovi Jurajovi Hladovi počas vlastnej vojenskej služby v rokoch 1966 až 1967, ktorá mala byť súčasťou rovnomennej zbierky, ktorej vydanie bolo pozastavené z ideologických dôvodov. Modifikovaný rukopis sa dočkal svojho zverejnenia v roku 2013. Krátko po neúspešnom vydaní svojho literárneho debutu Horák prepísal prozaický text do scenára divadelnej inscenácie *Medzivojnový muž*, ktorá mala premiéru 17. 11. 1984 vo vtedajšom Divadle Slovenského národného povstania v Martine (dnes Slovenské komorné divadlo v Martine). Dramatický text bol transformovaný aj do rozhlasu pod názvom *Ucho*. Stereohra mala premiéru 20. 5. 1985 v Československom rozhlase v košickom štúdiu.

V oboch prípadoch je zrejماً väčšia textová príbuznosť dramatických foriem (rozhlasového a divadelného textu) v porovnaní s epickým textom. V dielach so ženskou hlavnou hrdinkou autor dôsledky vojny na spoločnosť a človeka v nej zobrazuje nepriamo, ženské hrdinky putujú za nedostatkovým tovarom, aby nasýtili svoju rodinu, nie sú súčasťou vojenskej mašinerie. Mužské postavy sú dynamickým prvkom vojny, ktorá formuje zmenu ich charakteru. Spoločným aspektom analyzovaných diel je odkaz na antiku, konkrétne na antickú báj o Sifyfovi. V dielach *Cesta* a *Žena menom Sisyfos* je kotúľanie balvana strmým kopcom metaforicky zobrazené prostredníctvom výnosu vreca múky do kopca, pričom v skutočnosti ženská hrdinka vynáša vrece piesku. V *Medzivojnovom mužovi* (novela a divadelná inscenácia) a v rozhlasovej hre *Ucho* hlavný hrdina vojak Juraj Hlada namáhavo bojuje s trávou a lesmi ako svojím nepriateľom, ktorého nemožno vyhladiť. Ideou analyzovaných diel je sifyfovská práca, ktorá je namáhavá a nezmyselná ako vojna sama. Prostredníctvom odkazu na antiku autor vyjadruje svoj názor na zvolenú tému vojny, v duchu postmodernej poetiky aktualizuje antickú báj na spoločenskú situáciu v dejisku druhej svetovej vojny. V epických aj dramatických textoch sa prelínajú prvky lyriky, epiky a drámy.

## Záver

Napriek tomu, že prevažnú časť svojej umeleckej tvorby Karol Horák zasvätil divadlu, jeho kvality sú zrejmé aj v iných médiách ako rozhlas, televízia a film. Ako autor rešpektuje technické parametre a spôsob komunikácie jednotlivých médií. S vizuálnymi prvkami divadla a zvukovými prvkami rozhlasu pracuje ako so sémantickými prostriedkami. Jeho texty sa vyznačujú vysokou mierou

adaptovateľnosti, čo potvrdzuje množstvo adaptovaných diel naprieč jeho tvorbou. Fenomén intermediality je jedným z dominantne prítomných znakov v poetike Karola Horáka.

## Literatúra

ČAHOJOVÁ, B. 2002. Slovenská dráma a divadlo v zrkadlách moderny a postmoderny. Bratislava: Divadelný ústav. ISBN 8085455978

ČAHOJOVÁ, B. 2013. Horákove postavy na ceste od seba k iným. In Slovo, gesto, pohyb, obraz, tvar. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie venovaný okrúhlemu životnému jubileu prof. PhDr. Karola Horáka, CSc. Prešov: Vydavateľstvo Prešovskej univerzity, s. 16 – 22. ISBN 978-80-555-0807-8

GLADIŠ, M. 2013. Karol Horák: V románe Cukor som ušiel do jazyka. [rozhovor Mariána Gladiša s Karolom Horákom]. In Slovo, gesto, pohyb, obraz, tvar. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie venovaný okrúhlemu životnému jubileu prof. PhDr. Karola Horáka, CSc. Prešov: Vydavateľstvo Prešovskej univerzity, s. 243 – 247. ISBN 978-80-555-0807-8

HORÁK, K. 1977. Cukor. Bratislava: Slovenský spisovateľ.

HORÁK, K. 1985. Medzivojnový muž. Bratislava: Slovenská literárna agentúra.

HORÁK, K. 1989. Cesta. Bratislava: Lita. ISBN 8021900059

HORÁK, K. 2013. Medzivojnový muž. Levoča: Modrý Peter. ISBN 978-80-89545-23-0

INŠTITORISOVÁ, D. 2007. Čítanie v myslí dramatika (Karola Horáka). Bratislava: Tatran. ISBN 978-80-222-0539-9

MISTRÍK, M. 1996. Moderné apokalypsy Karola Horáka. In Šesť hier. Džura. Živý nábytok. Inšpekcia alebo Sifyfos po slovensky. Skaza futbalu v meste K. Nulový bod. Nové skúšanie Antona. Levoča: Modrý Peter, s. 8 – 15. ISBN 8085515407

MITROVÁ, A. 2009. Mediálne podoby súčasnej slovenskej drámy (Jana Bodnárová, Karol Horák). In Visnyk. Lvivskoho universytetu, Series Philol., Is. 48. Lviv: Lvivskij nacionalnyj universytet imeni. Ivana Franka, 2009, s. 98 – 107

MITROVÁ, A. 2010. Vývinové tendencie pôvodnej rozhlasovej drámy (so zameraním na Slovenský rozhlas štúdio Košice). Prešov: Prešovská univerzita. ISBN 9788055502250

SABOL, J. S. 2013. Filmová adaptácia novely Karola Horáka Cukor. In Slovo, gesto, pohyb, obraz, tvar. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie venovaný okrúhlemu životnému jubileu prof. PhDr. Karola Horáka, CSc. Prešov: Vydavateľstvo Prešovskej univerzity, s. 176 – 181. ISBN 978-80-555-0807-8

SABOL, J. S. 2019. Problematika témy a tvaru v tvorbe Karola Horáka (medzi prózou, filmom a divadlom). In Slavica litteraria, Roč. 22, č. 1, s. 69 – 75. ISSN 1212-1509

ŠTEFKO, V. 2013. Skeptický autor či autor skepticizmu. In Slovo, gesto, pohyb, obraz, tvar. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie venovaný okrúhlemu životnému jubileu prof. PhDr. Karola Horáka, CSc. Prešov: Vydavateľstvo Prešovskej univerzity, s. 10 – 15. ISBN 978-80-555-0807-8

WOLF, W. 2011. Intermedialita: široké pole výzkumu a výzva literárni vědě. Prel. Zuzana Adamová. In Česká literatura. Roč. 59, č. 1, s. 62 – 85

ŽILKOVÁ, M. 2013. Reminiscencie na rozhlasovú tvorbu Karola Horáka... In Slovo, gesto, pohyb, obraz, tvar. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie venovaný okrúhlemu životnému jubileu prof. PhDr. Karola Horáka, CSc. Prešov: Vydavateľstvo Prešovskej univerzity, s. 55 – 61. ISBN 978-80-555-0807-8



# ALTERNATÍVNE SPÔSOBY VÝKONU VOLEBNÉHO PRÁVA

*Alternative ways of exercising the right to vote*

**Martina Hurčalová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Predkladaná štúdia sa zaoberá alternatívnymi spôsobmi výkonu volebného práva. Umožniť hlasovanie vo voľbách čo najväčšiemu počtu voličov by malo byť pre jednotlivé štáty prioritou, pretože sa tým zvyšuje legitimita zvolených zástupcov. V spoločnosti môžu nastať situácie, kedy je pre voliča štandardný spôsob hlasovania nemožný, preto by mal mať k dispozícii aj iné možnosti. Cieľom štúdie je poukázať na dôležitosť alternatívnych spôsobov výkonu volebného práva pre spoločnosť, aj pre jednotlivca samotného. Štúdia zdôrazňuje význam volebného práva, analyzuje jednotlivé alternatívne spôsoby výkonu volebného práva a ich vplyv na priebeh hlasovania a komparuje postoj vybraných štátov k výkonu aktívneho volebného práva počas mimoriadnej situácie pandémie koronavírusu.

**KLúčové slová:** *voľby, volebné právo, aktívne volebné právo, alternatívne spôsoby výkonu volebného práva, všeobecnosť volebného práva*

**Abstract:** The present study deals with alternative ways of exercising the right to vote. Allowing as many voters as possible to vote in elections should be a priority for states, as this increases the legitimacy of elected representatives. There may be situations in society where the standard way of voting is not possible for a voter, so other options should be available to them. The aim of the study is to highlight the importance of alternative ways of exercising the right to vote for both society and the individual. The study highlights the importance of the right to vote, analyses the different alternative ways of exercising the right to vote and their impact on the voting process, and compares the attitude of selected states towards the exercise of the active right to vote during the emergency situation of a coronavirus pandemic.

**Keywords:** *elections, suffrage, active suffrage, alternative means of exercising the right to vote, universality of the right to vote*

## Pojem voľby a hlasovanie vo voľbách

V súčasných demokratických štátoch je zdrojom moci ľud, ktorý ju zvyčajne priamo nevykonáva. Priama demokracia, teda priame rozhodnutia ľudu o dôležitých otázkach verejného záujmu prevládala napríklad v starovekom Grécku. V súčasných štátoch je priama forma demokracie nevykonateľná z viacerých dôvodov: moderné štáty majú neporovnateľne väčšie územie a početnosť obyvateľstva, nie všetci občania sú kompetentní rozhodovať o všetkých otázkach verejného záujmu resp. prevláda politická apatia, čo je spôsobené aj neporovnateľne zložitejším riadením dnešnej spoločnosti. Z dôvodu efektívnosti riadenia spoločnosti dnes prevláda nepriama, zastupiteľská alebo reprezentatívna demokracia. Znamená, že ľudia si zvolia tých, ktorí budú za nich o otázkach verejného záujmu rozhodovať. Reprezentatívna demokracia býva zvyčajne doplnená o priame prvky, ako je napríklad referendum alebo plebiscit (Domin, 2021). Výber do verejnej funkcie sa môže udiť viacerými spôsobmi, najbežnejším z nich sú voľby. Inštitút volieb má mnoho rôznych definícií. Napríklad O. Krejčí chápe voľby ako „zmluvu medzi reprezentantami a občanmi, na ktorých voliči prenášajú svoje práva.“ Voľby považuje za významný inštitút, pokladá ich za sviatok demokracie a mimoriadnu aktivitu každého občana. Je nepochybné, že tento svoj význam môže inštitút volieb naplniť iba vtedy, ak sa jedná o voľby súťažné, slobodné a pravidelne sa opakujúce, pričom volič musí mať na výber z viacerých možností. Volebné právo je jedným zo základných ľudských práv, zaradujeme ho do prvej generácie ľudských práv medzi politické práva. Termín volebné právo má viacero rozmerov. Môžeme hovoriť o objektívnom a subjektívnom, alebo o aktívnom a pasívnom volebnom práve. Aktívne volebné právo môžeme charakterizovať ako právo voliť, resp. právo na výber politickej alternatívy alebo najviac preferovaného kandidáta. Na výkon aktívneho volebného práva je v súčasnosti nutné splniť najmä podmienku dosiahnutia určitej vekovej hranice a štátneho

občianstva dotknutého štátu alebo trvalého pobytu na území, na ktorom prebiehajú voľby. Pasívne volebné právo (právo byť volený), môžeme charakterizovať ako možnosť uchádzať sa o zvolenie do verejnej funkcie, resp. ako právo vstupovať na politickú scénu s vlastnou politickou alternatívou (Domin, 2021).

### **Alternatívne spôsoby výkonu volebného práva**

Vo väčšine prípadov volič hlasuje priamo vo volebnej miestnosti, a to buď využitím pera a papiera, alebo zriedkavo aj prostredníctvom hlasovacieho zariadenia. Medzi iné, tzv. alternatívne spôsoby hlasovania patrí hlasovanie do prenosnej volebnej schránky, hlasovanie prostredníctvom zástupcu (splnomocnenca), hlasovanie poštou, na pôde veľvyslanectiev či konzulátov alebo internetové hlasovanie.

Osobitným spôsobom hlasovania vo volebnej miestnosti je hlasovanie prostredníctvom tzv. hlasovacieho preukazu. Nemôžeme ho označiť za alternatívny spôsob hlasovania, pretože stále prebieha vo volebnej miestnosti, aj keď nie v tej, kde volič patrí podľa miesta svojho trvalého pobytu. Ak volič vie, že v čase konania volieb sa nebude zdržiavať v mieste svojho trvalého bydliska, môže obec vopred požiadať o vydanie hlasovacieho preukazu, a to buď osobne, prostredníctvom splnomocnenej osoby, poštou alebo elektronicky. Obec ho následne vyčiarke zo zoznamu voličov s poznámkou o vydaní hlasovacieho preukazu, aby nedošlo k viacnásobnému hlasovaniu, čo by predstavovalo porušenie rovnosti volebného práva. Hlasovací preukaz oprávňuje na zápis do zoznamu voličov v ktoromkoľvek volebnom okrsku, kde sa volič nachádza. Okrsková volebná komisia takéhoto voliča dopíše do zoznamu a hlasovací preukaz mu odoberú, aby nedošlo k duplicitnému hlasovaniu (Zákon č. 180/2014 Z. z.). Hlasovanie prostredníctvom hlasovacieho preukazu dopomáha k naplneniu všeobecnosti volebného práva, pretože eliminuje subjektívne dôvody voliča, pre ktoré by sa nemohol zúčastniť volieb (neprítomnosť v mieste bydliska v čase volieb). Na území Slovenska bolo prvýkrát umožnené na základe Zákona č. 28/1946 Sb. o úprave stálych voličských zoznamov.

Prvým z alternatívnych spôsobov výkonu volebného práva je hlasovanie do prenosnej volebnej schránky mimo volebnej miestnosti. Tento spôsob hlasovania je určený najmä starším alebo imobilným občanom, ktorí sa nemôžu zúčastniť volieb v určenej volebnej miestnosti. Takýto občan môže požiadať o hlasovanie do volebnej schránky sám alebo prostredníctvom inej osoby, priamo obec, prípadne v deň konania volieb okrskovú volebnú komisiu vo svojom územnom obvode. Tá následne vyšle za voličom dvoch zo svojich členov s prenosnou volebnou schránkou, hlasovacími lístkami a obálkou. Volič musí prevzatie hlasovacích lístkov a obálky podpísať. Vyslaní členovia volebnej komisie sú nominovaní rozličnými politickými stranami, navzájom sa kontrolujú a zároveň zabezpečujú tajnosť hlasovania. Okrsková volebná komisia zakrúžkuje poradové číslo voliča v zozname voličov hneď po návrate vyslaných členov (Zákon č. 180/2014 Z. z.). Okrem domov a bytov jednotlivých voličov, je takýmto spôsobom možné hromadne hlasovať aj v zariadeniach ústavnej zdravotnej starostlivosti (nemocnica), zariadeniach sociálnej starostlivosti, ústavoch na výkon väzby a v ústavoch na výkon trestu odňatia slobody. Všetci, ktorí sa v daných zariadeniach chcú zúčastniť volieb, musia patriť do volebného okrsku, z ktorého je vyslaná komisia, alebo disponovať hlasovacím preukazom. Tajnosť hlasovania sa zabezpečuje aj tým, že po návrate členov volebnej komisie sa obsah prenosnej volebnej schránky zmieša so schránkou umiestnenou vo volebnej miestnosti, aby sa nedalo identifikovať, ako jednotliví voliči hlasovali.

Niektoré štáty, napríklad Belgicko, Holandsko, Kanada, Poľsko či Veľká Británia, umožňujú hlasovanie vo voľbách prostredníctvom splnomocnenca, resp. hlasovanie v zastúpení. To znamená, že ak sa volič nemôže v deň volieb zúčastniť hlasovania vo volebnej miestnosti, požiada iného voliča, aby hlasoval v jeho mene. V niektorých štátoch je to možné bez dodatočných podmienok, inde takýto spôsob voľby umožňujú iba tým, ktorí sú v deň hlasovania v zahraničí, alebo musí volič uviesť dôvod (zdravotné dôvody, pobyt v zahraničí, výkon povolania, atď.) Je zrejmé, že splnomocnencovi musí daný jednotlivec dôverovať, pretože mu musí prezradiť svoj volebný výber a spoliehať sa, že voľbu uskutoční podľa jeho pokynov (Voting by proxy). Riziko, že splnomocnenec nebude hlasovať podľa

vôle toho, koho zastupuje, však zostáva pomerne výrazné, a nie je žiadnym spôsobom kontrolovateľné. Štáty, ktoré hlasovanie prostredníctvom splnomocnenca umožňujú, nadradili všeobecnosť volebného práva, teda účasť čo najväčšieho počtu voličov, nad túto hrozbu. Na Slovensku takýto spôsob hlasovania nie je možný.

Niektoré štáty umožňujú voličom nachádzajúcim sa na ich území aj voľbu poštou vopred, a to najmä zo zdravotných alebo pracovných dôvodov, alebo v prípade voličov žijúcich v odľahlých oblastiach. Tí musia o takúto formu hlasovania požiadať vopred, následne obdržia hlasovacie lístky s obálkou, vykonajú voľbu a obálky zašlú na určenú adresu. Možnosť voliť poštou z územia štátu, kde voľby prebiehajú a nie zo zahraničia je pomerne raritná, umožňujú ju napríklad Nemecko, Rakúsko, Poľsko, Španielsko, či Veľká Británia v presne vymedzených prípadoch. Na území Slovenska nie je hlasovanie prostredníctvom pošty možné.

Špecifickú otázku pri výkone najmä aktívneho volebného práva predstavuje voľba zo zahraničia. Európska únia dôrazne odporúča, aby mohli aktívne volebné právo vykonávať aj voliči žijúci v zahraničí a drvivá väčšina európskych štátov to aj umožňuje. Na výkon aktívneho volebného práva zvyčajne postačuje občianstvo štátu, do celoštátneho orgánu ktorého chce volič hlasovať, trvalý pobyt nie je nevyhnutný. Na Slovensku môžu voliči zo zahraničia hlasovať iba poštou a len v prípade parlamentných volieb a celoštátneho referenda. Volič, ktorý má trvalý pobyt na Slovensku, ale v čase volieb žije v zahraničí, v minulosti žiadal o voľbu poštou príslušnú obec. Pred poslednými parlamentnými voľbami v roku 2023 bolo umožnené žiadať aj elektronicky, čo celý proces výrazne zjednodušilo. Túto možnosť využili takmer všetci žiadajúci, zlomok požiadal o voľbu poštou prostredníctvom listu na adresu ministerstva vnútra (Lipták, 2023). Ak volič žiadal listom, do určeného dátumu obdržal na uvedenú adresu obálku na hlasovanie a hlasovacie lístky. Tí, ktorí žiadali elektronicky, poštou obdržali iba hlasovaciu obálku a návratnú obálku, hlasovací lístok príslušnej strany si museli stiahnuť z webovej adresy ministerstva vnútra (Ako voliť zo zahraničia v parlamentných voľbách 2023?). Tajnosť volieb zabezpečovali dve obálky. Hlasovací lístok preferovanej politickej strany aj s prednostnými hlasmi volič vložil do hlasovacej obálky, a tú následne do návratnej obálky. Následne obálku na vlastné náklady zaslal na uvedenú adresu podateľne ministerstva vnútra. V minulosti ju zasielal priamo obci, v ktorej mal trvalý pobyt, v obci sa potom tieto hlasy zmiešali s hlasmi odovzdanými priamo vo volebnej miestnosti, tým pádom nebolo možné komplexne vyhodnotiť hlasovanie Slovákov zo zahraničia. V posledných parlamentných voľbách došlo k zmene a všetky hlasy zo zahraničia sa spočítavali spolu vo vyčlenených okrskoch, preto disponujeme kompletnými výsledkami aj hlasovania zo zahraničia. Ministerstvo vnútra pôsobilo ako sprostredkovateľ, pretože doručené obálky iba postúpili okrskovej volebnej komisii osobitne zriadenej pre voľbu zo zahraničia, tá obálky zmiešala v jednej volebnej schránke, aby zostala tajnosť voľby zachovaná. Hlasy sa v týchto volebných okrskoch sčítavali až v deň hlasovania. Predpokladom na započítanie hlasu bolo doručenie ministerstvu vnútra aspoň v posledný pracovný deň pred dňom konania volieb (Lipták, 2023).

Hlasovanie poštou má niekoľko špecifik. Prvým je čas vykonania volieb. Voliči zo zahraničia musia svoje hlasy odoslať v predstihu, aby stihli prísť do vymedzeného času. Musia si teda vybrať politickú stranu v čase, kedy sa najostrejšia kampaň ešte len rozbieha, predvolebné diskusie ešte neprebehli, resp. môže dôjsť k zásadným zvratom vo volebnej kampani alebo môžu kandidáti, či politické strany z volieb odstúpiť. Z tohto dôvodu sa na Slovensku volí naraz v jeden deň, aby mali všetci zúčastnení rovnaké podmienky. Pri hlasovaní v predstihu sú tieto podmienky odlišné, pretože voliči už nemôžu zohľadniť prípadný pokazený záver kampane, alebo nejaký zásadný zvrát v jej priebehu. Čiastočne môžeme spochybniť aj tajnosť volebného práva, ale nie pri spočítavaní hlasov, ale priamo pri hlasovaní. Vo volebnej miestnosti hlasuje jednotlivec za plentou sám, pričom dodržiavanie tohto pravidla kontrolujú členovia volebnej komisie, na voľbu v zahraničí však žiadny člen volebnej komisie nedohliada. Môže teda dôjsť k tomu, že niekto voľbu konkrétneho jednotlivca kontroluje. V prípade generovania hlasovacieho lístka cez internet je možná prítomnosť digitálnej stopy, ktorú nemusí každý používateľ vedieť zahľadiť. Riziká voľby poštou môžu byť spojené aj s poštou samotnou, hypoteticky sa môže stať, že sa obálka cestou stratí alebo ju môže otvoriť niekto, kto na to nemá oprávnenie. Najzásadnejšou výhodou voľby poštou samozrejme je, že volič nemusí ísť fyzicky

do volebnej miestnosti, v presne určený deň a čas (Lipták, 2023). Debata o zavedení voľby poštou zo zahraničia aj pri prezidentských voľbách sa v slovenskej spoločnosti objavuje pravidelne. Najzásadnejšou prekážkou je krátkosť času medzi prvým a druhým kolom prezidentských volieb. Za 14 dní by totiž zo vzdialenejších štátov nebolo možné odvoliť a stihnúť obálku zaslať späť. Drvivá väčšina hlasov zo zahraničia síce prichádza z európskych štátov, napriek tomu nie je možné porušiť zásadu rovnosti volebného práva tým, že by sme voľbu zo zahraničia umožnili iba voličom z niektorých štátov. Jedným z možných riešení by pravdepodobne bolo zaslanie dvoch kópií hlasovacích lístkov už pred prvým kolom. Po zverejnení oficiálnych výsledkov by si volič vybral jedného z dvoch postupujúcich kandidátov a obálku zaslal prakticky okamžite. Inou možnosťou hlasovania zo zahraničia by bola voľba na veľvyslanectvách alebo konzulátoch. Pri takomto spôsobe hlasovania by sa volilo za rovnakých podmienok ako vo volebnej miestnosti na Slovensku. Nevýhodou pri tejto voľbe je, že voliči by museli na najbližší zastupiteľský úrad v rozľahlejších štátoch precestovať aj tisícky kilometrov. Slovensko takúto voľbu zatiaľ neumožňuje a o jej zavedení ani neprebíha diskusia, no bola by to jedna z možností, ako umožniť voličom zo zahraničia vybrať si aj hlavu štátu. Na porovnanie, v Českej republike je situácia opačná. Zo zahraničia môžu českí občania voliť iba na veľvyslanectvách, resp. konzulátoch, čo vzhľadom na vzdialenosť do volebnej miestnosti v niektorých štátoch spôsobuje, že volieb sa zúčastňuje iba zlomok zahraničných voličov. V súčasnosti sa v českom parlamente prerokováva návrh zákona na zavedenie voľby poštou. Koalícia strán vníma zavedenie voľby poštou ako prioritu, opozičné strany ANO a SPD ju odmietajú, napriek tomu, že ANO v minulosti takýto spôsob voľby presadzovalo. Momentálne hovoria o obavách z ohrozenia tajnosti hlasovania a o možnej manipulácii s hlasmi. Okrem Českej republiky neumožňujú voľbu poštou zo zahraničia iba Francúzsko, Malta a Chorvátsko, vo Francúzsku je však zo zahraničia možné voliť cez internet (V Česku sa debatuje o voľbe poštou...). Možnosti hlasovania zo zahraničia ukazujú, akým zásadám volebného práva daný štát pripisuje najväčšiu dôležitosť. Ak najvyššiu váhu prikladá všeobecnosti volebného práva, možnosti hlasovania zo zahraničia budú čo najširšie, ak kladie väčšiu váhu na zásady rovnosti a tajnosti, hlasovanie poštou či elektronické hlasovanie bude pokladať za príliš rizikové.

V súvislosti s pandemiou koronavírusu, aj so zahraničnými voličmi, sa pravidelne objavuje otázka zavedenia hlasovania cez internet. Jedným z dôvodov zavedenia takejto spôsobu hlasovania by mohla byť snaha o zvýšenie volebnej účasti, a to aj v prípade zavedenia iba pre voličov v zahraničí. Celý priebeh volebného dňa by sa v prípade hlasovania len prostredníctvom internetu zjednodušil, znížili by sa náklady na volebné komisie a administratívne zabezpečenie hlasovania, zvýšil by sa komfort pre voličov, pravdepodobne by došlo aj k rýchlejšiemu spracovaniu výsledkov a menšiemu počtu chýb spôsobených ľudským faktorom. Napriek pomerne veľkému množstvu výhod elektronického hlasovania, sú riziká ešte väčšie. Najzávažnejšie pochybnosti sa spájajú s nedodržiavaním priamosti a tajnosti volebného práva, nedala by sa kontrolovať prítomnosť nátlaku od iných osôb. Výrazne by sa zvýšilo riziko zastrašovania, volebnej korupcie a kupovania hlasov, keďže podvodníci by si mohli overiť, či človek hlasoval podľa ich inštrukcií. V súčasnej dobe sú veľkou hrozbou bezpečnostné riziká, hackerské útoky, chyby pri nastavovaní servera, či prípadné zásahy zo strany iných štátov. Priekopníkom v elektronickom hlasovaní je Estónsko, kde je takýto spôsob hlasovania možný pri všetkých druhoch volieb. Niektoré ďalšie štáty takýto spôsob hlasovania testovali, alebo ho majú zavedený pri voľbe zo zahraničia, na celoštátnej úrovni však nie (Janovič, 2020). Zavedenie elektronického hlasovania pre občanov, ktorí majú slovenský občiansky preukaz s čipom malo uvedené OĽaNO vo svojom predvolebnom programe pred parlamentnými voľbami 2020. Takáto otázka sa objavila aj v online ankete strany pred voľbami. V programovom vyhlásení vlády však bola už iba pasáž o zväžení elektronického hlasovania zo zahraničia (Hudáčková, 2020). Téma hlasovania cez internet sa vo verejnej diskusii objavuje pravidelne, momentálne však nie je prioritou žiadnej z relevantných politických strán najmä kvôli zásadným potenciálnym rizikám. Vzhľadom na problematiku elektronizáciu verejnej správy na Slovensku predpokladáme, že o zavedení hlasovania cez internet sa na najbližšie obdobie uvažovať nebude. Aj preto by sa štát mal zamerať na lepšiu dostupnosť voľby zo zahraničia.

## Prečo potrebujeme alternatívne spôsoby hlasovania?

Ak pokladáme voľby za sviatok demokracie a volebné právo za nevyhnutné pre plnohodnotný život jednotlivca v občianskej spoločnosti, najvyšším cieľom pre nás je, aby svoje volebné právo mohol vykonať čo najväčší počet oprávnených voličov. A to bez ohľadu na to, či študujú alebo pracujú v zahraničí, sú zdravotne indisponovaní, v nemocnici, či väznici. So všetkými týmito znevýhodneniami si vieme poradiť prostredníctvom alternatívnych spôsobov hlasovania, ktoré sme predstavili v predchádzajúcej časti.

Svetové fenomény, ako imigrácia a emigrácia, nám aj v oblasti volebného práva prinášajú viaceré výzvy. Vo väčšine štátov je volebné právo do celoštátnych orgánov viazané na štátne občianstvo. V minulosti to bývalo ospravedlňované slabou informovanosťou cudzincov o politike daného štátu, prípadne slabšou lojalitou. V súčasnosti sa už objavujú aj úvahy o priznaní volebného práva cudzincom. V prípade občanov štátu žijúcich v zahraničí je situácia opačná. Niektorí z nich síce majú na Slovensku rodiny, známych a priateľov, plánujú sa vrátiť a preto ostávajú informovaní aj o aktuálnej politickej situácii, iní však stratili akýkoľvek kontakt a plánujú zostať v zahraničí. Obe tieto skupiny majú právo voliť, otázka je však relevancia hlasov druhej skupiny, ktorá má často slabé informácie o jednotlivých politických stranách a kandidátoch. Nevieme však charakterizovať silu prepojenia daného voliča so Slovenskou republikou. Preto je jedinou vhodnou možnosťou umožniť hlasovanie zo zahraničia všetkým a nechať na ich zváženie, či sa cítia spôsobilí hlasovať a či im záleží na osude Slovenska, kam sa už možno neplánujú vrátiť.

Ďalšou skupinou ľudí, ktorí na efektívne vykonanie volebného práva potrebujú alternatívne spôsoby hlasovania, sú zdravotne znevýhodnení. Či už ide o nevidiacich, nepočujúcich, osoby so zníženou pohyblivosťou alebo mentálne postihnutých, štát by mal zabezpečiť čo najvhodnejšie podmienky, ktoré by im uľahčili hlasovanie. Často však narážajú na veľké množstvo rôznych prekážok, napríklad fyzické prekážky vo volebnej miestnosti, ťažkosti s vyplnením hlasovacieho lístka alebo nedostatok pre nich vhodne prístupných informácií. Niektoré z členských štátov Európskej únie umožňujú zdravotne znevýhodneným voličom hlasovať v špeciálnych volebných miestnostiach, inde majú k dispozícii hlasovacie lístky aj ďalšie informácie o voľbách v Braillovom písme, alebo majú nárok na asistenciu pri vykonávaní volebného práva. Spomedzi všetkých štátov Európskej únie ponúka 10 z nich aspoň niektorým skupinám voličov možnosť voliť v predstihu v určených volebných miestnostiach, ktoré sú prispôbené pre osoby so zníženou pohyblivosťou, iné majú zavedenú možnosť voľby poštou alebo aj prostredníctvom splnomocnenca. Najideálnejším riešením pre zdravotne znevýhodnených voličov je elektronické hlasovanie, to je však v plnej forme dostupné iba v Estónsku. Ďalším účinným spôsobom je hlasovanie do prenosnej volebnej schránky, čo umožňuje 17 štátov únie. Tento typ je vhodný najmä pre voličov, ktorých hlavným problémom pri hlasovaní je fyzický prístup do volebnej miestnosti. Užitočný je aj pre skupiny voličov v nemocniciach alebo v zariadeniach dlhodobej starostlivosti (Odstráňme prekážky. Osoby so zdravotným postihnutím a ich právo voliť...) Zdravotne znevýhodnení voliči nemajú na Slovensku veľa možností. Slovensko neumožňuje elektronické hlasovanie, voľbu vopred vo volebnej miestnosti, voľbu poštou ani hlasovanie prostredníctvom splnomocnenca. Jediný účinný spôsob pre túto skupinu obyvateľov tak ostáva hlasovanie do prenosnej volebnej schránky. Voľba priamo vo vlastnom dome alebo byte, prípadne v zariadení je však veľkou pomocou aj preto, že hlasovanie môžu vykonať sami, pričom dvaja členovia volebnej komisie zabezpečia tajnosť hlasovania. Výhodou je, že požiadať o takýto spôsob hlasovania nie je administratívne náročné. Vzhľadom k významu, ktorý pripisujeme všeobecnosti volebného práva, môžeme na záver tejto časti skonštatovať, že osoby so zdravotným postihnutím by mali mať nielen plné právo voliť, ale aj možnosti voliť pre nich tým najvhodnejším spôsobom.

Existencia alternatívnych spôsobov hlasovania je nevyhnutá aj pre tých voličov, ktorí v deň hlasovania trpia nákazlivou chorobou, čo predstavuje jednu z prekážok pre výkon aktívneho volebného práva.

## Výkon aktívneho volebného práva počas pandémie Covidu-19 vo svete

Najmä v priebehu rokov 2020 a 2021 sa svet musel vysporiadať s dovedy bezprecedentnou situáciou, ktorá ovplyvnila všetky oblasti života občanov, vrátane výkonu volebného práva – celosvetovou pandemiou Covidu-19. Priebeh pandémie sa v jednotlivých štátoch líšil, rovnako aj dĺžka trvania najprísnejších opatrení, ktoré zasiahli do základných práv a slobôd občanov. Vo väčšine štátov však takéto opatrenia trvali dosť dlho na to, aby sa štát musel zaoberať otázkou, ako umožniť nakazeným voličom hlasovať pri čo najmenšom riziku ohrozenia ostatných. Konanie volieb si totiž vyžaduje pomerne veľký osobný kontakt, ich periodicita je však pre demokratické štáty kľúčová. Jednotlivé štáty čelili viacerým rizikám, ako napríklad nízka volebná účasť a s tým súvisiace spochybňovanie legitimity volieb, nedostatok volebných pracovníkov z obavy pred nákazou, zníženie počtu volebných miestností a dlhé čakanie v radoch, zvýšenie finančných prostriedkov na hygienické opatrenia, pomalé alebo neefektívne zavádzanie alternatívnych spôsobov hlasovania, technické problémy, nedostatočná komunikácia s verejnosťou a z toho plynúce obavy, prípadne nárast počtu prípadov v období po hlasovaní. Nižšia volebná účasť súvisela aj s faktom, že v niektorých štátoch, napríklad v USA, je povinná registrácia pred voľbami. Tá sa počas pandémie presunula do online priestoru, no najmä pre príslušníkov menšinových komunit, ktorí preferovali osobnú registráciu, táto zmena nebola vyhovujúca. Problémy spôsobil aj zákaz masových podujatí a osobnej kampane, v dôsledku ktorých bolo nevyhnutné zmeniť spôsob vedenia volebnej kampane a presunúť ju viac do online priestoru. Rovnako boli obmedzené medzinárodné pozorovateľské misie. Štáty tak už v prvých mesiacoch pandémie boli postavené pred závažnú dilemu, či uskutočniť voľby aj napriek zmieneným rizikám, alebo posunúť termín volieb a riskovať tak pochybnosti o právnej legitimitate takého kroku. Na rozhodnutie vždy vplývali aj vzájomné vzťahy medzi koalíciou a opozíciou. Tá sa často obávala, že odklad volieb využije vládna moc na ďalšie upevnenie svojej, podľa nich už často nelegitímnej moci. V opačnom prípade mohla vládna moc tlačiť na konanie volieb v riadnom termíne aj napriek rizikám, pretože očakávala, že znížená účasť im pomôže zostať pri moci. Aj absencia alebo zníženie počtu medzinárodných pozorovateľských misií vytvárala veľký tlak na domácich pozorovateľov a v krajnom prípade sa vlády mohli dokonca pokúsiť využiť pandémiu na obmedzenie nezávislého dohľadu nad svojimi volebnými procesmi. V každom prípade sa však rozšírilo využívanie alternatívnych spôsobov hlasovania, napríklad voľba poštou, voľba vo volebnej miestnosti vopred, hlasovanie prostredníctvom splnomocnenca alebo špeciálny spôsob hlasovania vo vlastnom dome alebo zariadení v prípade karantény. Zavádzanie alternatívnych spôsobov hlasovania bolo nevyhnutné otvorene a transparentne komunikovať pred voľbami. Nesprávny alebo neskorý spôsob komunikácie vládnucej moci s voličmi zvyšoval ich obavu o demokratickosť volieb (Quarcoo, 2020). Ak sa už voľby konali osobne, boli prijímané viaceré opatrenia na zníženie rizika pre životy a zdravie hlasujúcich. Hlavným opatrením sa stalo nosenie rúšok, resp. respirátorov, keďže bolo preukázané, že ich používanie výrazne znižuje možnosť infekcie, rovnako bola dôležitá dezinfekcia miestností a všetkých využívaných pomôcok, dezinfekcia rúk pred aj po hlasovaní, dodržiavanie odstupov a vetranie priestorov. Niektoré štáty taktiež používali meranie teploty, predĺženie času otvorenia volebných miestností aby sa predišlo koncentrácii voličov, apel na voličov aby si priniesli vlastné perá, voľby z auta alebo v špeciálnych stanoch pre tých, ktorí boli nakazení alebo museli dodržiavať karanténu. Všetky opatrenia vyžadovali zvýšené finančné prostriedky venované na tento účel. Ďalším problémom spojeným s voľbami v tomto období bolo šírenie dezinformácií o koronavíruse, a ich zneužívanie istou časťou politickej reprezentácie (Maizland, 2020). V priebehu rokov 2020 – 2022 bolo približne 80 volieb odložených z dôvodu pandémie koronavírusu, z toho polovica boli celonárodné voľby alebo referendá, približne 160 druhov volieb sa konalo v naplánovaných termínoch. Medzi najvýznamnejšie voľby, pri ktorých došlo k posunu plánovaného termínu patria: primárne voľby pred prezidentskými voľbami v USA v niekoľkých štátoch, druhé kolo miestnych volieb vo Francúzsku, prezidentské voľby v Poľsku, parlamentné v Severnom Macedónsku, Srbsku, a mnohé ďalšie najmä miestne voľby a referendá. Podľa plánu sa konali napríklad parlamentné voľby v Južnej Kórei, Izraeli, Benine a ďalšie, ich konanie záviselo najmä od sily pandémie v danom okamihu (Global overview of COVID-19). Vzorom pre ostatné štáty ako bezpečne usporiadať voľby počas pandémie sa stala Južná Kórea, kde sa voľby do zákonodarného zboru konali podľa pôvodného

plánu 15. apríla 2020. Vláda rozšírila možnosti hlasovať vopred, prostredníctvom pošty alebo v zdravotníckych zariadeniach a na osobné hlasovanie prijala také bezpečnostné opatrenia, ktoré znamenali, že ani po voľbách sa nezvýšil nárast počtu nakazených. V čase konania volieb bol počet nových prípadov v štáte nízky a vláda otvorene a transparentne komunikovala jednotlivé opatrenia, čo spolu s dôverou občanov v postup vlády prispelo k tomu, že občania sa cítili bezpečne a volebná účasť bola najvyššia za posledné tri desaťročia. Na druhej strane poľská vládna strana reagovala unáhľene a možnosti hlasovania poštou rozšírila bez širšej diskusie a konsenzu. Viacerí voliči uviedli, že ich hlasovacie lístky neboli doručené včas a napriek odkladu volieb o niekoľko týždňov a relatívne slušnej volebnej účasti šlo o netransparentný, chaotický a sporný proces, ktorý nezvyšoval legitimitu volebného procesu. Voľby v Dominikánskej republike, Francúzsku, či Iráne bojovali s nízkou volebnou účasťou. Mnohé štáty zaviedli pre nakazených voličov aj možnosť voliť z domu alebo karanténneho zariadenia, z auta, v špeciálnych stanoch alebo vo volebných miestnostiach iba pre nakazených alebo aj v štandardnej volebnej miestnosti v presne vymedzenom čase. Nie všade však nakazení občania mali prístup k výkonu aktívneho volebného práva. Ľudia s COVID-19 vôbec nemohli odovzdať svoj hlas vo voľbách v Belize, Singapure, Taiwane a Čile. Takýto zákaz plánovali zaviesť aj v Chorvátsku, ústavný súd však rozhodnutie zrušil a umožnil pozitívnym voličom hlasovať prostredníctvom splnomocnenca (Asplund E.; Stevense, B.; James, T.; Clark, A., 2020).

Voľby v akejkoľvek mimoriadnej situácii je potrebné plánovať čo najviac dopredu. Urýchlené zavádzanie nových opatrení môže spôsobiť technické problémy, zmätok u voličov a obavy z manipulácie procesu. Rozhodnutia týkajúce sa volieb musia byť prijímané na základe celospoločenského konsenzu, nevyhnutná je správna a včasná komunikácia opatrení a čo najväčšia transparentnosť procesu, vyčlenenie mimoriadnych finančných prostriedkov, či vyškolenie miestnych pozorovateľov, aby boli schopní poskytnúť nestranné hodnotenie legitimity volieb. Nedá sa automaticky predpokladať, že voľby konané počas pandémie budú mať nižšiu účasť ako bola priemerná účasť počas predošlého obdobia. Závisí to od spoločensko-politickej atmosféry, spokojnosti s aktuálnou vládou, dôvery v zvládanie pandémie a ďalších okolností. Dáta medzinárodného inštitútu pre demokraciu a volebnú pomoc dokazujú, že volebná účasť v približne tretine volieb konaných počas pandémie bola vyššia ako priemerná účasť v predchádzajúcich rokoch. Konanie volieb počas pandémie automaticky neznamená ani nárast počtu prípadov. Poznáme štáty, ktoré dokázali, že bezpečnostné opatrenia a rozšírenie alternatívnych spôsobov hlasovania môžu byť dostatočné. Aj v štátoch, kde po voľbách došlo k prudkému nárastu počtu prípadov, to môže mať aj iné dôvody, ako napríklad zrušenie dovtedy platných opatrení, predchádzajúce podhodnocovanie počtu prípadov, či protesty a iné hromadné udalosti. Zatiaľ čo v úvode pandémie bolo odkladanie volieb do veľkej miery legitímne, v budúcnosti by už v rovnakej situácii mali voľby prebehnúť podľa plánu. Z už konaných volieb by štáty mali mať dostatočné množstvo skúseností, ako je možné uskutočniť voľby bezpečne a efektívne (Global elections and Covid-19: Lessons learned and the way forward, 2021).

## Výkon aktívneho volebného práva počas pandémie Covidu-19 na Slovensku

Pandémia na Slovensku priamo nezasiahla žiadne celoštátne voľby, parlamentné v závere februára 2020 sa konali iba niekoľko dní pred zistením prvého prípadu. V právnom poriadku Slovenskej republiky je ohrozenie z dôvodu šírenia nákazlivej choroby považované za odôvodnenú prekážku výkonu volebného práva. K pandémie takéto rozsahu a závažnosti však v posledných desaťročiach nedošlo, preto právna úprava povinností úradov verejného zdravotníctva informovať obce o infekčnom ochorení voliča nebola dostatočná, rovnako neboli dostatočné ani pokyny pre volebné komisie ako v takomto prípade postupovať. Predpokladáme, že ak by boli parlamentné voľby na Slovensku plánované o niečo neskôr, ich reálne vykonanie by prinieslo množstvo problémov, keďže na takúto situáciu štát nebol pripravený. Pandémia koronavírusu predstavovala pre našu spoločnosť krízovú situáciu. Ústavný zákon o bezpečnosti štátu krízovú situáciu charakterizuje ako: „*obdobie, počas ktorého je bezprostredne ohrozená alebo narušená bezpečnosť štátu*“ a ústavné orgány môžu po splnení podmienok ustanovených v tomto ústavnom zákone na jej riešenie vypovedať vojnu, vyhlásiť vojnový stav, výnimočný stav alebo núdzový stav. Vyhlásením jedného z týchto štyroch

uvedených stavov dochádza k zmene štandardného ústavného režimu za účelom čo najefektívnejšieho výkonu štátnej moci aj v čase, kedy štát bezprostredne čelí bezpečnostnému riziku. Najzásadnejšie obmedzenie, ktoré štát v prípade mimoriadnej situácie v súvislosti s výkonom volebného práva pripúšťa, je nevyhlásenie a nekonanie volieb v pravidelných volebných obdobiach (Domin, 2021). Nevyhlásiť voľby je však podľa ústavného zákona o bezpečnosti štátu možné len v čase vojny alebo vojnového stavu, a len počas nevyhnutného obdobia. Počas pandémie bol na celom území Slovenska vyhlásený núdzový stav. Počas neho ústavný zákon o bezpečnosti štátu neuvádza možnosť nekonania volieb v pravidelných intervaloch, z čoho vyplýva, že v čase núdzového stavu sa voľby konať musia. Celosvetová pandémia (prípadne aj iné dôvody vyhlásenia núdzového či výnimočného stavu) je však natoľko závažným faktorom, ktorý by mohol praktické konanie volieb nielen ohroziť, ale aj úplne znemožniť. Konanie volieb so štandardným spôsobom hlasovania môže predstavovať závažné riziko ohrozenia života a zdravia obyvateľov. Z tohto dôvodu by bolo potrebné ústavný zákon o bezpečnosti novelizovať spôsobom, ktorý by nevyhlásenie a nekonanie volieb umožňoval aj v čase výnimočného a núdzového stavu. Odklad volieb v takomto prípade by bol odôvodnený, Národná rada aj vláda by bez výraznejších problémov mohli pracovať v dovtedajšom zložení aj po uplynutí štyroch rokov. Nové voľby by sa však mali konať hneď, ako by to okolnosti umožnili, aby neklesala legitimita oboch uvedených orgánov. Alternatívou k novelizácii ústavného zákona o bezpečnosti štátu v predstihu, by bolo predĺženie volebného obdobia parlamentu vo výnimočnej situácii ad hoc ústavným zákonom, aj keď vzhľadom na úlohu ústavy v spoločnosti takéto zákony na jedno použitie nie sú najšťastnejším riešením (Domin, 2020, Voľby v čase pandémie). V súčasnom globalizovanom svete nemôžeme vylúčiť, že obdobná situácia celosvetovej pandémie sa vyskytne opäť, preto je potrebné legislatívne sa na jej riešenie pripraviť. Ďalšou z možností je hlasovanie prostredníctvom alternatívnych spôsobov, ktoré sme predstavili a ktoré by znižovali ohrozenie života a zdravia obyvateľstva na prijateľné minimum.

Kombináciu uvedených spôsobov sme na Slovensku už dokonca zažili. Aj keď sa počas najzávažnejšej pandemickej situácie voľby nekonali, na 4. apríla 2020 boli plánované doplňovacie orgány do samosprávy obcí, ktoré predseda parlamentu presunul na október. Dôvody, ktoré k posunutiu termínu viedli, konkrétne ochrana života a zdravia obyvateľov, boli akceptovateľné a neodporovali ústavnému princípu periodického opakovania volieb. A to aj z dôvodu, že doplňovacie voľby sa z logiky vecí konajú v priebehu plynúceho volebného obdobia, posunutie termínu tak nespôsobí nekonanie volieb v pravidelných intervaloch (Domin, 2020, Možno posunúť termín doplňovacích komunálnych volieb?). Doplňovacie voľby sa konali v októbri podľa plánu, osobám s nariadenou izoláciou však nebolo umožnené hlasovať. Ďalšie plánované voľby, konkrétne voľby do orgánov samosprávy obcí a orgánov samosprávnych krajov sa konali v novembri 2022, kedy už boli opatrenia na ochranu pred koronavírusom postupne rušené. Napriek tomu bol ešte v máji daného roku prijatý Zákon č. 185/2022 Z. z. o špeciálnom spôsobe hlasovania, ktorý upravoval spôsob voľby pre občanov s nariadenou izoláciou alebo karanténou. Pre týchto voličov boli vytvorené špeciálne volebné obvody, kde zabezpečovala hlasovanie špeciálna volebná komisia s najmenej ôsmymi členmi. Voliči žiadali o takýto spôsob hlasovania vopred, telefonicky alebo prostredníctvom inej osoby zapisovateľa obce svojho trvalého pobytu. Ten následne zabezpečil vyčiarknutie voliča zo zoznamu voličov v obci. Hlasovať bolo možné iba osobne, zastúpenie sa nepripúšťalo a nebolo možné hlasovať v zdravotníckom zariadení. V deň hlasovania boli na určené adresy vyslaní dvaja členovia špeciálnej volebnej komisie. Volič preukázal svoju totožnosť, podpisom potvrdil prevzatie hlasovacích lístkov a upravené hlasovacie lístky vložil do špeciálnej hlasovacej schránky. Členovia špeciálnej volebnej komisie mali vyššiu odmenu a boli vybavení špeciálnymi ochrannými prostriedkami (Zákon č. 185/2022 Z. z.).

## Záver

Volebné právo je nevyhnutnou súčasťou plnohodnotného života jednotlivca v občianskej spoločnosti. Podľa nášho názoru je zo štyroch zásad volebného práva najdôležitejšia všeobecnosť, teda prístup k volebnému právu pre všetkých dospelých jednotlivcov a rovnosť, teda fakt, že hlas každého voliča musí mať rovnakú váhu. Za účelom prístupu čo najväčšieho počtu ľudí k volebnému právu, je podľa



nás prípustná aj určitá miera rizika, že nedôjde k úplnému naplneniu tajnosti a priamosti. Z tohto dôvodu by bolo žiadúce rozširovať alternatívne spôsoby výkonu volebného práva. Ďalej je potrebné upraviť právne predpisy tak, aby sa v prípade ďalšej celosvetovej pandémie alebo iných mimoriadnych okolností voľby konali v pravidelnom termíne s využitím alternatívnych spôsobov hlasovania za čo najmenšieho rizika pre životy a zdravie obyvateľov. Ak nastane situácia, kedy by aj alternatívne spôsoby hlasovania predstavovali neprípustné riziko, vtedy je akceptovateľné nedovoliť jednotlivcom vykonávať volebné právo, prípadne v extrémnom prípade nevyhlásiť a nevykonať voľby ako celok. Preto je potrebné otvoriť celospoločenskú diskusiu o novelizácii ústavného zákona o bezpečnosti štátu, ktorá by umožňovala nekonanie volieb aj v prípade núdzového či výnimočného stavu. Šírenie nákazlivej choroby ako prekážka volebného práva síce zatiaľ nebola pred ústavným súdom napadnutá, otázne je, či by v konaní obstála. Ako sme už totiž uviedli vyššie, v súčasnosti existuje pomerne veľké množstvo alternatívnych spôsobov výkonu volebného práva, ktoré by verejné zdravie ohrozovali iba v akceptovateľnej miere. Prípady z iných štátov, rovnako aj konané voľby do orgánov samosprávy miest a orgánov samosprávnych krajov nám dokázali, že je to možné, platná právna úprava je však na Slovensku naďalej nedostatočná a prijímať ad hoc zákony len na jeden prípad mimoriadnej situácie nie je ústavne konformné.

## Literatúra

Ako voliť zo zahraničia v parlamentných voľbách 2023? [online], [cit. 2024.03.07]. Dostupné na: <https://volby.sme.sk/parlamentne-volby/i/ako-volit-zo-zahranicia>

ASPLUND, Erik; STEVENSE, Bor; JAMES Toby; CLARK, Alistair, 2020. People with COVID-19 and those self-isolated must not be denied the vote. [online], [cit. 2024.03.21]. Dostupné na: <https://blogs.lse.ac.uk/covid19/2020/10/23/people-with-covid-19-and-those-self-isolating-must-not-be-denied-the-vote/>

DOMIN, Marek, 2020. Izolácia v domácom prostredí a výkon volebného práva. In: Comenius odborný blog [online]. [cit. 2024.03.15]. Dostupné na: <https://comeniusblog.flaw.uniba.sk/2020/07/28/izolacia-v-domacom-prostredii-a-vykon-volebneho-prava/>

DOMIN, Marek, 2020. Možno posunúť termín doplňovacích komunálnych volieb (napríklad z dôvodu pandémie) ? In: Comenius odborný blog [online]. [cit. 2024.03.15]. Dostupné na: [https://comeniusblog.flaw.uniba.sk/2020/03/30/mozno-posunut-termin-doplnovacich-komunalnych-volieb-naprklad-z-dovodu-pandemie/#\\_ftn1](https://comeniusblog.flaw.uniba.sk/2020/03/30/mozno-posunut-termin-doplnovacich-komunalnych-volieb-naprklad-z-dovodu-pandemie/#_ftn1)

DOMIN, Marek, 2021. Volebné právo a volebné systémy. Druhé, aktualizované a prepracované vydanie. Bratislava: Wolters Kluwer. ISBN 978-80-571-0369-1.

DOMIN, Marek, 2020. Voľby v čase pandémie (ústavnoprávny prehľad) In: Comenius odborný blog [online]. [cit. 2024.03.15]. Dostupné na: <https://comeniusblog.flaw.uniba.sk/2020/03/18/volby-v-case-pandemie-ustavnopravny-pohlad/>

Global elections and Covid-19: Lessons learned and the way forward, 2021, [online]. McCain Institute. [cit.2024.03.19]. Dostupné na: <https://www.mccaininstitute.org/resources/reports/global-elections-and-covid-19-lessons-learned-and-the-way-forward/>

Global overview of COVID-19: Impact on elections, 2022, [online]. International idea: supporting democracy worldwide. [cit. 2024.03.19]. Dostupné na: <https://www.idea.int/news-media/multimedia-reports/global-overview-covid-19-impact-elections>

HUDÁČKOVÁ, Silvia, 2020. Žiadne internetové voľby nebudú. [online], [cit. 2024.03.07]. Dostupné na: <https://dennikn.sk/blog/1860919/ziadne-internetove-hlasovanie-zavedene-nebude/>

LIPTÁK, Jakub, 2023. Voľba poštou/Voličov zo zahraničia pribúda, hlasovanie poštou však má aj nedostatky. [online]. Denník Postoj [cit. 2024.03.13]. Dostupné na: <https://www.postoj.sk/136088/volicov-zo-zahranicia-pribuda-hlasovanie-postou-vsak-ma-aj-nejedostatky>

MAIZLAND, Lindsay, 2020. How Countries Are Holding Elections During the COVID-19 Pandemic [online]. Council on Foreign Relations. [cit. 2024.03.18]. Dostupné na: <https://www.cfr.org/backgrounder/how-countries-are-holding-elections-during-covid-19-pandemic>

Odstráňme prekážky. Osoby so zdravotným postihnutím a ich právo voliť vo voľbách do Európskeho parlamentu [online]. Európsky hospodársky a sociálny výbor [cit. 2024.03.15]. Dostupné na: <https://www.eesc.europa.eu/sites/default/files/files/qe-03-19-084-sk-n.pdf>

JANOVIČ, Lukáš, 2020. Online voľby na Slovensku: nádeje, sľuby a realita. [online], [cit. 2024.03.07]. Dostupné na: <https://cybersec.sk/analyzy-a-komentare/kyberneticka-bezpecnost/online-volby-na-slovensku-nadeje-deklaracie-a-realita/>

QUARCOO, Ashley, 2020. Can Elections Be Credible During a Pandemic? [online]. Carnegie endowment for international peace. [cit. 2024.03.18] Dostupné na: <https://carnegieendowment.org/2020/07/29/can-elections-be-credible-during-pandemic-pub-82380>

V Česku sa debatuje o voľbe poštou. Bývalá vládna strana ju v minulosti sama navrhovala, teraz zmenila názor. [online], [cit. 2024.03.07]. Dostupné na: <https://spravy.rtv.slovakia.sk/2024/01/v-cesku-sa-debatuje-o-volbe-postou-byvala-vladna-strana-ju-v-minulosti-sama-navrhovala-teraz-zmenila-nazor/>

Voting by proxy [online]. The electoral Commission [cit. 2024.03.06]. Dostupné na: <https://www.electoralcommission.org.uk/resources/resources-young-people/your-vote/ways-vote/voting-proxy>

Zákon č. 185/2022 Z. z. o špeciálnom spôsobe hlasovania vo voľbách do orgánov samosprávy obcí a vo voľbách do orgánov samosprávnych krajov. [online], [cit. 2024.03.15]. Dostupné na: [https://www.slov-lex.sk/pravne-predpisy/SK/ZZ/2022/185/vyhlasene\\_znenie.html](https://www.slov-lex.sk/pravne-predpisy/SK/ZZ/2022/185/vyhlasene_znenie.html)

Zákon č. 180/2014 Z. z. o podmienkach výkonu volebného práva. [online], [cit. 2024.03.07]. Dostupné na: <https://www.slov-lex.sk/pravne-predpisy/SK/ZZ/2014/180/#>

# NEPLATNOSŤ SKONČENIA PRACOVNÉHO POMERU AKO NÁSLEDOK VADY PRÁVNEHO ÚKONU

*Invalidity of termination of employment as a consequence of a legal defect*

Natália Kalinák

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta*

**Abstrakt:** Podmienky platnosti právnych úkonov v pracovnoprávných vzťahoch nachádzame v dvoch samostatných a právne významných kódexoch súkromného práva. Ich vzájomný vzťah a aplikácia jednotlivých ustanovení môže byť pre účastníkov pracovnoprávných vzťahov mátača a náročná, čoho dôkazom je v mnohých prípadoch nesúladná rozhodovacia prax (i) najvyšších súdnych autorít. Autorka sa v prvej kapitole príspevku zameriava na popis právnej úpravy a poukázanie aplikačných problémov v súvislosti s neplatnosťou skončenia pracovného pomeru v dôsledku vady právneho úkonu. Druhá kapitola upravuje podmienky platného skončenia pracovného pomeru. Problematika neplatnosti skončenia pracovného pomeru predstavuje procesnoprávnu garanciu záruk práv zamestnancov, a preto jej venujeme osobitnú pozornosť.

**KLúčové slová:** *pracovný pomer, neplatnosť právneho úkonu, neplatnosť skončenia pracovného pomeru*

**Abstract:** The conditions for the validity of legal acts in employment relationships are found in two separate and legally significant private law codes. Their interrelation and the application of their individual provisions can be confusing and challenging for parties to employment relationships, as evidenced in many cases by the inconsistent decision-making practice of (i) the highest judicial authorities. In the first chapter of the paper, the author focuses on describing the legal regulation and highlighting the application problems in connection with the invalidity of termination of employment due to a legal defect. The second chapter regulates the conditions for a valid termination of employment. The issue of invalidity of termination of employment constitutes a procedural guarantee of employees' rights, and is therefore given special attention.

**Keywords:** *employment relationship, invalidity of legal act, invalidity of termination of employment*

## Neplatnosť skončenia pracovného pomeru ako následok vady právneho úkonu

Problematika platnosti, resp. neplatnosti právnych úkonov tvorí v odvetviach súkromného práva otázku základnej – všeobecnej povahy. Pojem, obsah a ďalšie podmienky posudzovania právnych úkonov presahuje rámec jedného právneho odvetvia.

Neplatnosť môžeme definovať ako stav, v kt. právny úkon vznikol, existuje, resp. sa považuje za existujúci avšak následky, ktoré sú inak spojené s bezvadným právnym úkonom z titulu prítomnosti väd právneho úkonu nenastanú (FIALA, 1992). Problematike právnych úkonov venuje pozornosť najmä veda občianskeho práva. Zákon č. 40/1964 Zb. Občiansky zákonník v znení neskorších predpisov (ďalej aj ako „Občiansky zákonník“) predstavuje všeobecný kódex súkromného práva.

S ohľadom na jeho subsidiaritu k zákonu č. 311/2001 Z.z. Zákonník práce v znení neskorších predpisov (ďalej aj ako „Zákonník práce“) je všeobecná právna úprava právnych úkonov Občianskeho zákonníka predmetom pozornosti aj vo vede pracovného práva napriek existencii ustanovení upravujúcich problematiku neplatnosti právnych úkonov (BARANCOVÁ, SCHRONK, 2012).

Platnosť právnych úkonov v pracovnoprávných vzťahoch štandardne posudzujeme optikou dvoch právnych predpisov. Rešpektujúc zásadu *lex specialis derogat legi generali* sa na právne úkony v pracovnoprávných vzťahoch uplatnia ustanovenia Zákonníka práce, i z časti Občianskeho zákonníka, a to v závislosti od existencie úpravy konkrétnej podmienky a jej rozsahu. V Zákonníku práce neplatnosť právnych úkonov všeobecne upravuje §17, nachádzame v ňom i ďalšie ustanovenia, ktoré upravujú neplatnosť už konkrétnych právnych úkonov v osobitných situáciách prostredníctvom tzv. doložky neplatnosti (KUNDRÁT, 2015).

Skončenie pracovného pomeru upravuje Zákonník práce v §59 a nasl.. Skončiť pracovný pomer môže zamestnanec i zamestnávateľ, a to spôsobmi, ktoré Zákonník práce taxatívne vypočítava. Právny úkon, ktorý jedna zo strán (v prípade skončenia pracovného pomeru dohodou obe strany) urobí s cieľom skončenia pracovného pomeru musí spĺňať podmienky stanovené konkrétnymi ustanoveniami Zákonníka práce i tie podmienky platnosti vyplývajúce z Občianskeho zákonníka, ktoré Zákonník práce sám neupravuje (DOLOBÁČ, KUNDRÁT, 2021).

Zákonník práce zavádza právo zamestnanca a právo zamestnávateľa uplatniť na súde neplatnosť skončenia pracovného pomeru (ak bolo skončenie pracovného pomeru ukončené právnym úkonom – dohodou, výpoveďou, okamžitým skončením alebo skončením v skúšobnej dobe).

Pokiaľ nebola splnená niektorá z podmienok pre platné skončenie pracovného pomeru, pracovný pomer skončil neplatne. Uplatnenie neplatnosti skončenia pracovného pomeru sa viaže na splnenie podmienok:

- a. Dotknutá osoba svoje práva uplatnila na súde – napriek nedostatkom právneho úkonu skončenia pracovného pomeru, ktorých následkom je jeho neplatnosť, bude právny úkon považovaný za platný, pokiaľ sa dotknutá osoba nebude na súde domáhať neplatnosti. Svojevoľné tvrdenie subjektov, že skončenie pracovného pomeru je neplatné bez právoplatného rozhodnutia súdu nemá relevantný charakter. Napriek tomu však je postoj a konanie dotknutej osoby (i mimo súdneho konania) dôležitý, a to najmä pri posudzovaní nárokov z neplatného skončenia pracovného pomeru. Dotknutá osoba má tzv. oznamovaciu povinnosť, ktorej vysvetleniu sa venujeme nižšie.
- b. Dotknutá osoba svoje práva uplatnila na súde včas, pred uplynutím prekluzívnej lehoty – Neplatnosť skončenia pracovného pomeru môže dotknutá osoba na súde napadnúť v lehote 2 mesiacov odo dňa, keď sa mal pracovný pomer skončiť. V §36 Zákonníka práce je výpočet prípadov, v ktorých neuplatnením práva dochádza k jeho zániku, t.j. ak sa právo uplatnilo po uplynutí stanovenej lehoty, súd je povinný prihliadnuť na zánik práva bez ohľadu na to, či to účastník namietne alebo nie. Ustanovenie § 77 Zákonníka práce definujúce lehotu na uplatnenie neplatnosti skončenia pracovného pomeru je súčasťou spomínaného výpočtu. S počiatočným dňom rátania 2 mesačnej prekluzívnej lehoty vznikali aplikačné problémy najmä v situáciách, kedy pracovný pomer končil skončením ochranného doby, t.j. v prípadoch uplatnenia ustanovenia §64 ods. 2 Zákonníka práce. V zmysle §64 ods. 2 Zákonníka práce pracovný pomer zamestnanca, ktorému je daná výpoveď pred začiatkom ochranného doby tak, že by výpovedná doba mala uplynúť v ochranného doby, skončí až uplynutím posledného dňa ochranného doby.

Novelou Zákonníka práce došlo k doplneniu §77, ktorý mal zamedziť práve týmto otázkam. Na účely uplatnenia neplatnosti skončenia pracovného pomeru sa na predĺženie pracovného pomeru v rámci ochranného doby podľa §64 ods. 2 Zákonníka práce neprihliadne. Zamestnancovi, ktorý nenapadne platnosť výpovede na súde v lehote 2 mesiacov odo dňa, kedy pracovný pomer mal skončiť, keby nedošlo plynutiu ochranného doby i po tomto termíne, právo na uplatnenie neplatnosti zanikne. Výnimku tvoria prípady zamestnancov, ktorí sú/boli v ochranného doby z dôvodu uvedenom v §64 ods. 1 písm. a), t.j. zamestnanci uznaní za dočasne práceneschopných pre chorobu alebo úraz . Počiatočný deň prekluzívnej lehoty bude posledný deň ochranného doby, a to však len v prípade, ak celková lehota odo dňa, keď sa mal pracovný pomer skončiť, ak by zamestnanec nebol v ochranného doby neprekročí 6 mesiacov.

Zákonník práce uvádza, že pokiaľ so zamestnancom bol neplatne ukončený pracovný pomer okamžite, v skúšobnej dobe alebo výpoveďou a tento zamestnanec oznámil zamestnávateľovi, že trvá na tom, aby ho naďalej zamestnával, jeho pracovný pomer nekončí (tzv. oznamovacia povinnosť). I v tomto prípade platí výnimka, a to ak súd rozhodne, že nemožno od zamestnávateľa spravodlivo požadovať, aby zamestnanca naďalej zamestnával. V prípade splnenia oznamovacej povinnosti zamestnanca voči zamestnávateľovi je zamestnávateľ naďalej povinný zamestnancovi pridelovať

prácu a platiť mu mzdu, a to až do doby, kedy s ním neukončí pracovný pomer platne alebo do doby, kedy príslušný súd určí skončenie pracovného pomeru za platné.

Oznámenie zamestnanca, že trvá na ďalšom zamestnávaní (ďalej aj ako „oznámenie zamestnanca“) je vo svojej podstate jednostranný prejav vôle adresovaný zamestnávateľovi, ktorého formálne náležitosti Zákonník práce explicitne nedefinuje. V prípade oznámenia zamestnanca Zákonník práce výslovne neustanovuje ani povinnosť zamestnanca urobiť toto oznámenie voči zamestnávateľovi písomne, pod následkom neplatnosti tohto právneho úkonu, preto oznámenie môže zamestnanec uskutočniť tak písomne, ako aj ústne, konaním, či opomenutím, prípadne iným spôsobom nevzbudzujúcim pochybnosti o tom, čo chcel takýmto právnym úkonom zamestnanec vyjadriť. Český Zákonník práce napr. v § 69 ods. 1 ustanovuje písomnú formu oznámenia, nedostatok písomnej formy však nespôsobuje jeho neplatnosť.

Postoj súdnych autorít voči oznámeniu zamestnanca je v značnej miere extenzívny, umožňujúci fikciu existencie oznámenia zamestnanca v prípade podania žaloby o určenie neplatnosti skončenia pracovného pomeru a náhrady mzdy bez predchádzajúceho oznámenia zamestnanca (Najvyšší súd, sp. zn. 2 Cdo 81/2010), resp. ak bola podaná žaloba len o neplatnosť skončenia pracovného pomeru, tak aj zmenou žalobného petitu, ktorou si zamestnanec uplatní aj nárok na náhradu mzdy v priebehu konania vo veci samej. V takýchto prípadoch pri nepreukázaní kvalifikovaného oznámenia, žaloba o neplatnosť skončenia pracovného pomeru podaná na súde nahrádza oznámenie zamestnanca, avšak z hľadiska nároku na náhradu mzdy (najmä doby od kedy zamestnancovi prináleží náhrada mzdy z neplatne skončeného pracovného pomeru) nie je rozhodujúcim dátum podania žaloby na súde, ale dátum doručenia žaloby žalovanému – zamestnávateľovi, pretože oznámenie zamestnanca môže nadobudnúť účinnosť len vtedy, ak bolo uskutočnené voči zamestnávateľovi (Najvyšší súd, sp. zn. 2 Cdo 81/2010).

Je všeobecne známe, že vzhľadom na postavenie zamestnanca ako slabšej strany sa súde prikláňajú k ochrane zamestnanca ako priority, je však možné interpretovať ustanovenie zákona, ktoré stanovuje povinnosť zamestnanca oznámiť zamestnávateľovi, že trvá na ďalšom jeho zamestnávaní tak extenzívne, až stotožnením podania žaloby o určenie neplatnosti skončenia pracovného pomeru s oznámením zamestnanca zamestnávateľovi o trvaní na ďalšom zamestnávaní? V tomto prípade je hranica medzi nesplnením podmienky naplnenia oznamovacej povinnosti a jej splnením prostredníctvom podania žaloby, resp. zmenou petitu žaloby, veľmi tenká a rozporuplná.

Téma oznámenia zamestnanca a oznámenia zamestnávateľa a ich účinkov má v posudzovaní neplatnosti skončenia pracovného pomeru a následkov neplatnosti veľký význam. Na výklad jednotlivých ustanovení má významný vplyv judikatúra, nie všetky rozhodnutia Najvyššieho súdu SR však prinášajú svetlo do aplikácie predmetných ustanovení. Ako príklad uvádzame kontroverzné a kritizované uznesenie Najvyššieho súdu SR sp. zn. 9 Cdo 196/2020 z 30.6.2022 vo vzťahu k účinkom oznámenia zamestnávateľa voči okamžitému skončeniu pracovného pomeru zo strany zamestnanca konštatuje vznik fikcie existencie dohody o skončení pracovného pomeru v prípade oznámenia zamestnávateľa, že na ďalšom zamestnávaní netrvá (DOLOBÁČ, KUNDRÁT, 2023). V zmysle uvedeného rozhodnutia príslušný súd neskúma podmienky platného skončenia pracovného pomeru, žalobu zamietá z dôvodu vzniku právnej fikcie existencie dohody o skončení pracovného pomeru *ex lege*. Pokiaľ si súde osvoja tento právny názor, zamestnávatelia budú čeliť nárokom zamestnancov pri okamžitom skončení pracovného pomeru bez možnosti brániť sa na súde neplatnosťou skončenia pracovného pomeru v prípadoch, kedy zamestnanca ďalej zamestnávať nechcú, napriek tomu, že dôvody okamžitého skončenia pracovného pomeru zo strany zamestnanca nespôsobili.

V praxi sa mnohokrát vyskytujú otázky súvisiace s právnym stavom, ktorý nastáva po doručení oznámenia zamestnávateľa, že trvá na ďalšom výkone práce zamestnanca (alebo naopak) z dôvodu neplatnosti skončenia pracovného pomeru zo strany zamestnanca (alebo naopak). V tomto prípade existujú dva názory na skončenie pracovného pomeru. Jedna strana považuje skončenie pracovného pomeru zo svojej strany za platné a nemá záujem prácu ďalej vykonávať, druhá strana považuje skončenie pracovného pomeru za neplatné a očakáva výkon závislej práce. Ako má postupovať

zamestnávateľ, ktorý očakáva od zamestnanca výkon práce, pretože považuje jeho napr. okamžité skončenie pracovného pomeru za neplatné? Odhlásiť zamestnanca z jednotlivých poisťovní alebo jeho neprítomnosť v práci vyhodnotiť ako absenciu? Ako postupovať v prípade, ak zamestnanec doručí zamestnávateľovi v priebehu určitého obdobia niekoľko právnych úkonov – jednostranných skončení pracovného pomeru, vždy z iného dôvodu? Odpovede i na tieto otázky sú predmetom autorkinho výskumu.

Vyššie boli uvedené a stručne popísané podmienky pre vyhlásenie neplatnosti skončenia pracovného pomeru. Popri všeobecných podmienkach pre vyhlásenie neplatnosti skončenia pracovného pomeru je nevyhnutné naplniť podmienku existencie určitej vady skončenia pracovného pomeru, ktorej následkom je neplatnosť tohto úkonu.

V nasledujúcej časti je venovaná pozornosť vybraným právnym nedostatkom právnych úkonov ukončenia pracovného pomeru so zamestnancom, vyplývajúce z analýzy rozhodnutí súdnych autorít za posledné roky.

### **Podmienka: Právny úkon realizovaný kompetentnou osobou**

Otázka kompetencie na ukončenie pracovného pomeru so zamestnancom môže byť absolútne nesporná a nepochybná, nie je tomu vždy tak (OLŠOVSKÁ, 2012). V tejto oblasti dochádza práve vďaka nálezu Ústavného súdu Slovenskej republiky a rozhodnutiam Najvyššieho súdu Slovenskej republiky k posunu a „doplneniu“ zákonných úprav. Otázku kompetencie na ukončenie pracovného pomeru získame v § 9 Zákonníka práce (JURČOVÁ a spol., 2021). V súvislosti s konaním zamestnávateľa však dochádza k sporným situáciám v prípade, ak právny úkon vykoná v mene zamestnávateľa iný subjekt, než niektorý z vymenovaných v § 9 Zákonníka práce, a to konkrétne prokurista alebo osoba splnomocnená (splnomocnenc).

Všeobecné súdy nejednotne a pravidelne zastávali názor, že § 9 Zákonníka práce je uzatvorené kogentné ustanovenie, z ktorého vyplýva, že nie je možné rozšíriť výpočet osôb konajúcich za a v mene zamestnávateľa o ďalšie subjekty na základe inštitútov občianskeho alebo obchodného práva, a to i napriek subsidiarite Občianskeho zákonníka.

Kľúčovým bolo rozhodnutie Najvyššieho súdu SR, sp. zn. 4 Cdo 4/2012. Podľa súdu konať v pracovnoprávných veciach v mene zamestnávateľa môžu len jeho zamestnanci. Uvedené rozhodnutie v aplikačnej praxi spôsobilo právnú neistotu, keďže inštitút zastúpenia sa v pracovnoprávných veciach v praxi bežne využíva a využíval.

Názory o nemožnosti použitia inštitútu zastúpenia v oblasti pracovného práva boli argumentačne podložené najmä tým, že zamestnávateľ môže poveriť na právne úkony len svojich zamestnancov, prípadne právne úkony v mene zamestnávateľa môžu vykonávať vedúci zamestnanci, ktorým toto oprávnenie vyplýva z ich statusu. Súdna prax v niektorých svojich rozhodnutiach aj nerozlišovala medzi zastúpením a poverením, dokonca aj terminologicky sa uvádzal pojem „splnomocnenie zamestnanca“. Nálezom Ústavného súdu Slovenskej republiky I.ÚS 155/2017-75 boli jednotlivé domnienky a nesprávne interpretácie § 9 Zákonníka práce odstránené. Ústavný súd Slovenskej republiky dôkladne argumentoval možnosť uplatnenia zastúpenia na základe plnej moci v pracovnoprávných vzťahoch opierajúc sa o základné piliere jednotlivých zastupiteľských inštitútov – poverenia na základe ZP a plnej moci na základe OZ. Na podporu tvrdení použil Ústavný súd i historický výklad, na základe ktorého poukázal na predchádzajúce znenie pracovnoprávneho kódexu, ktorý obsahoval obe formy zastúpenia zamestnávateľa, ako i na dôvody odstránenia zastúpenia na základe plnej moci zo Zákonníka práce. Ústavný súd Slovenskej republiky na základe i vyššie uvedených argumentov uvádza právne relevantný názor, ktorým vyvracia akékoľvek právne úvahy o domnelej ucelenosti a „uzamknutosti“ §9 Zákonníka práce a nemožnosti aplikovania inštitútu zastúpenia do pracovnoprávných vzťahov. Zastúpenie na základe plnej moci podľa Občianskeho zákonníka, tak ako uvádza Ústavný súd SR v spomínanom náleze, dopĺňa chýbajúcu úpravu Zákonníka práce a dotvára celkový a komplexný právny rámec konania za zamestnávateľa. Použitie ustanovenia § 33 Občianskeho zákonníka nie je teda v pracovnoprávných vzťahoch vylúčené.

Napriek tomu, že je možné udeliť plnú moc na skončenie pracovného pomeru so zamestnancom (ako i na iné právne úkony) podľa Občianskeho zákonníka, v zmysle rozhodnutia Najvyššieho súdu Slovenskej republiky Sp. zn.: 6Cdo/12/2019 sa právny úkon, ktorým zamestnávateľ skončí pracovný pomer so zamestnancom uskutočnený prostredníctvom prokuristu považuje za neplatný, a to z dôvodu, že oprávnenie prokuristu z §14 Obchodného zákonníka nemožno vyvodit'.

### **Podmienka (?): Absencia omylu**

Výnimku z použiteľnosti ustanovení Občianskeho zákonníka o neplatnosti právnych úkonov tvorí neplatnosť právneho úkonu (relatívna - §40a Občiansky zákonník) z dôvodu omylu nachádzajúca sa v § 49a Občianskeho zákonníka. Právna úprava kódexov sa odlišuje najmä následkom, ktorý omyl vyvoláva. Zákonník práce odlišne od Občianskeho zákonníka zavádza ako následok omylu právo odstúpiť od zmluvy, pričom Občiansky zákonník sankcionuje omyl právneho úkonu neplatnosťou. V roku 1991 bol Občiansky zákonník novelizovaný, na základe čoho došlo k zmene následku omylu a k vzniku odlišnej právnej úpravy oproti Zákonníku práce. Z dôvodovej správy k návrhu zákona č. 509/1991 Zb., ktorým sa mení, dopĺňa a upravuje Občiansky zákonník vyplýva, že k zmene došlo s ohľadom na potreby obchodnoprávných vzťahov. Vývoj právnej úpravy nasvedčuje tomu, že právo odstúpiť od zmluvy a právo dovolať sa relatívnej neplatnosti právneho úkonu si konkurujú, a preto má v súčasnom právom stave prednosť špeciálna právna úprava (DOLOBÁČ a kol., 2023).

Uvedené dáva logiku, zmysel. Špeciálna právna úprava v Zákonníku práce bráni aplikácii všeobecného ustanovenia § 49a Občianskeho zákonníka na pracovnoprávne vzťahy. Napriek tomu existuje nepopulárne a sporné rozhodnutie Najvyššieho súdu Slovenskej republiky, ktoré omyl právneho úkonu v pracovnoprávnom vzťahu spája s jeho neplatnosťou a nariaďuje aplikáciu Občianskeho zákonníka (Uznesenie Najvyššieho súdu Slovenskej republiky sp.zn.: 1Cdo/123/2011, zo dňa 30. 1. 2013).

Pri skončení pracovného pomeru sa omyl, ako dôvod domáhajúcej sa neplatnosti skončenia pracovného pomeru a ako mylne označená vada právneho úkonu, spája s dohodou o skončení pracovného pomeru uzatvorenou v zmysle § 60 Zákonníka práce. Väčšina situácií je skutkovo totožná – Ak zamestnávateľ oznámi zamestnancovi, že sa stáva na základe prijatej organizačnej zmeny nadbytočný, zamestnanec na základe tohto oznámenia pristúpi k uzatvoreniu dohody o skončení pracovného pomeru, avšak zamestnávateľ už prijal alebo prijíma na dané miesto niekoho iného. Zamestnávateľ zamestnanca uviedol do omylu. Uvedenú situáciu rovnako hodnotil i Najvyšší súd Slovenskej republiky v už spomenutom spornom rozhodnutí. Následne však uvádza: „...zamestnávateľ pri uzatváraní dohody o skončení pracovného pomeru uviedol daného zamestnanca do omylu, ktorý má za následok jej neplatnosť v súlade s ustanovením § 49a Občianskeho zákonníka.“

V načrtnutom prípade je možné aplikovať § 19 ods. 1 Zákonníka práce, ktorý okrem podmienky konania v omyle podmieňuje právo odstúpiť účastníkovi od zmluvy, ktorý bol zavedený do omylu len v prípade, ak bol omyl druhému účastníkovi známy (alebo musel byť známy) a ak sa omyl týkal takej okolnosti, žeby bez neho (omylu) k zmluve nedošlo. Zamestnanec má právo odstúpiť od uzatvorenej dohody, účinky dohody v prípade absencie odstúpenia zamestnanca od dohody by nastali, pretože právny úkon v pracovnoprávných vzťahoch uzatvorený v omyle je v zmysle Zákonníka práce platným právnym úkonom.

### **Ďalšie podmienky platnosti skončenia pracovného pomeru v zmysle Zákonníka práce**

V záverečnej časti tohto príspevku uvádzame demonštratívny výpočet podmienok platnosti skončenia pracovného pomeru:

- 1) Právny úkon musí byť riadne doručený podľa § 38 ZP;
- 2) Podmienky dodržania predpísanej formy s následkom neplatnosti právneho úkonu;
- 3) Výpoveď daná mimo ochrannej doby;
- 4) Existencia dôvodu výpovede alebo okamžitého skončenia pracovného pomeru;

- 5) Skutkové odôvodnenie výpovede alebo okamžitého skončenia pracovného pomeru;
- 6) Súhlas alebo prerokovanie skončenia pracovného pomeru so zástupcami zamestnancov;
- 7) Absencia vady podmienok uplatnenia uvedeného výpovedného dôvodu (napr. vady pri plnení ponukovej povinnosti; Vady pri posúdení, kto je oprávnený rozhodnúť o organizačnej zmene; Vady pri „fiktívnej“ organizačnej zmene a i.).

## Záver

V pracovnom práve sú právne úkony významným predpokladom vzniku, zmeny alebo zániku právnych vzťahov, resp. práv alebo povinností. Miesto právnych úkonov v pracovnom práve sa opiera o súkromnoprávnu podstatu tohto právneho odvetvia, ktorá je vyjadrená v jednej z jeho základných zásad – zásada zmluvnej slobody. Aby bolo možné právny úkon v pracovnoprávnom vzťahu považovať za platný, je nevyhnutné, aby nemal vady v naplnení podmienok, ktoré kódexy upravujúce a modifikujúce pracovnoprávne vzťahy vyžadujú. Z výsledkov analýz tejto práce vyplýva, že podmienky platnosti právnych úkonov sú stanovené vo všeobecnej rovine – nevyhnutné naplniť pre každý právny úkon bez ohľadu na jeho obsah, predmet a smerovanie a následne podmienky osobitné – nevyhnutné pre konkrétny právny úkon (napr. pre výpoveď z pracovného pomeru).

Každá z podmienok platnosti právneho úkonu má svoj význam a právnu silu, ako i s ňou spojené riziko vzniku aplikačných problémov, nesúladnej judikatúry alebo i odklonov od ustálenej rozhodovacej praxe. Je dôležité každej venovať náležitú pozornosť, čoho cieľom budú ďalšie práce k danej téme.

V záujme naplniť ciele stanovené pri príprave tejto práce sme načrtli jednotlivé osobitné podmienky platnosti právnych úkonov, najmä v spojitosti so skončením pracovného pomeru. Dôraz sme kládli na kritické miesta s možnosťou vzniku aplikačných problémov. Zastávame názor, že pri skončení pracovného pomeru existuje rad formálnych i hmotnoprávnych podmienok platnosti skončenia pracovného pomeru, vada ktorejkoľvek z nich môže spôsobiť neplatnosť pracovného pomeru. Aplikačné problémy, ktoré môžeme pozorovať i vysokým počtom súdnych konaní na prvom i druhom stupni, taktiež i vysoký počet konaní na Najvyššom súde SR. Predmetom týchto aplikačných problémov je problematický výklad jednotlivých podmienok, ako napr. otázka kompetencie osoby na skončenie pracovného pomeru, otázky súvisiace s naplnením ponukovej povinnosti, ako i samotné podmienky pre uplatnenie neplatnosti. V príspevku analyzujeme povinnosť zamestnanca, s ktorým bol ukončený pracovný pomer (a taktiež i povinnosť zamestnávateľa, v prípade, ak je situácia obrátená a pracovný pomer končí na základe prejavu vôle zamestnanca) oznámiť zamestnávateľovi svoj postoj ku skončeniu pracovného pomeru. Extenzívny výklad príslušných súdnych autorít oslabuje funkciu oznámenia a otvára možnosti zamestnancom podať žalobu bez naplnenia oznamovacej povinnosti. Absencia oznámenia podľa súčasnej judikatúry bude mať vplyv výlučne na vznik (počiatočný moment) nárokov spojených s neplatným skončením pracovného pomeru.

Pre právnu vedu, ako i pre prax zamestnávateľov je významné sledovať vývoj judikatúry v predmetnej oblasti, ktorej existencia je z hľadiska rigidnosti a všeobecnosti Zákonníka práce náramne významná.

## Literatúra

BARANCOVÁ, H. SCHRONK, 2012, R. Pracovné právo. Sprint 2 s.r.o., ISBN 978 - 80 - 89393 - 82 - 4

BARANCOVÁ, H., 2022, Zákonník práce, 3. vydanie, Bratislava: C.H.Beck, ISBN: 978-80-89603-31-2

DOLOBÁČ, M., 2017, Hranice zmluvnej slobody v pracovnom práve. Košice: Univerzita P.J. Šafárika v Košiciach, ISBN 978-80-8152-574-2



DOLOBÁČ, M. a kol., 2023, *Zákonník práce. Veľký komentár*. Žilina: EUROKÓDEX, s.r.o., ISBN: 9788081551185

DOLOBÁČ, M., KUNDRÁT I., 2023. *Uznesenie Najvyššieho súdu SR sp. zn. 9 Cdo 196/2020 z 30. 6. 2022 (nároky z neplatného skončenia pracovného pomeru)* In: *Súkromné právo: recenzovaný časopis zameraný na otázky aplikačnej praxe*. Roč. 9, č. 3 (2023), ISSN 1339-8652.

FIALA, Josef et al.: *Občianske právo 1*. Brno: Dopňek, 1992, ISBN 80-210-0367-7.

JURČOVÁ a spol, *Zastúpenie v súkromnom práve*, 2. vydanie, 2021, Bratislava: C.H.Beck. ISBN: 978-80-7400-836-8

KUNDRÁT, I., 2015, *Uplatňovanie režimu tzv. doložky neplatnosti v pracovnom práve (občianskoprávne aspekty)*, In: *Bulletin slovenskej advokácie*, ročník 21, č. 12, ISSN 1335-1079

OLŠOVSKÁ, A., 2012, *Zastúpenie v pracovnom práve*. In.: *Zastúpenie v súkromnom práve*. Beckova edícia právne inštitúty. Praha: C.H. Beck, ISBN: 978-80-8152-574-2

Nález Ústavného súdu Slovenskej republiky zo 1. apríla.2015, sp.zn.: I.ÚS 640/2014

Nález Ústavného súdu Slovenskej republiky I.ÚS 155/2017-75

Nález Ústavného súdu SR z 31. augusta 2017, sp. zn. I. ÚS 155/2017-75

Uznesenie Najvyššieho súdu Slovenskej republiky zo dňa 20.októbra 2010, sp.zn.: 4Cdo 136/2009

Uznesenie Najvyššieho súdu Slovenskej republiky sp.zn.: 1Cdo/123/2011, zo dňa 30.1.2013

Rozsudok Krajského súdu v Prešove v konaní sp.zn.: 13CoPr/1/2020

# KORENE PRORUSKÉHO SENTIMENTU V OBLASTI JUHOVÝCHODNEJ EURÓPY SO ZRETEĽOM NA OBDOBIE 19. STOROČIA – SONDA DO DIZERTAČNEJ PRÁCE

*The roots of pro-Russian sentiment in Southeastern Europe in the 19. century – a probe into the dissertation thesis*

**David Kontra Pal**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Príspevok slúži ako sonda do dizertačnej práce, ktorá nesie názov *Korene proruského sentimentu v Strednej a Juhovýchodnej Európe*. Cieľom príspevku je uviesť príklady rôznych prejavov panslavistických myšlienok so zreteľom na oblasť Balkánu a Ruska v 19. storočí. Časový horizont 19. storočia sme si zvolili z dôvodu, že ide o etapu kedy sú už myšlienky slovanskej jednoty a spolupráce jasne pozorovateľné. Príspevok interpretuje tieto myšlienky na príkladoch zo srbského, chorvátskeho, bulharského a ruského prostredia, pričom hnutie panslavizmu kladie do kontrastu s vlastnými mocenskými záujmami spomínaných štátov.

**Príučové slová:** *panslavizmus, slovanská jednota, juhovýchodná Európa, Rusko*

**Abstract:** The contribution serves as a probe for the dissertation, which is entitled *The Roots of Pro-Russian Sentiment in Central and South-Eastern Europe*. The aim of the paper is to present examples of various manifestation of pan-Slavistic ideas with regard to the Balkans and Russia in the 19th century. We chose the time horizon of the 19th century because it is a stage when the ideas of Slavic unity and cooperation are already clearly observable. The paper interprets these ideas using examples from the Serbian, Croatian, Bulgarian and Russian environments, contrasting the pan-Slavism movement with the power interests of the aforementioned states.

**Keywords:** *panslavism, Slavic unity, Southeastern Europe, Russia*

## Úvod

V nedávno vydanom článku od autorského kolektívu Đorđević-Suslov-Mocek-Hrabálek sa môžeme dočítať, že zmienení autori prirovnávajú panslavizmus k prežitku, respektíve zastaranej verzii nacionalizmu. Ďalej sa môžeme dočítať, že aj napriek tejto komparácii dochádza k oživeniu záujmu o niektoré myšlienky, ktoré sa pod pojmom panslavizmus skrývajú. Ide teda o aktivizujúcu sa vlnu nového panslavizmu, ktorá si z toho pôvodného vyberá napríklad politické aspekty slovanskej jednoty. (Đorđević a kol. 2023). V súčasnosti sa množstvo Slovákov mohlo s pojmom panslavizmus stretnúť počas ich štúdia. Panslavizmus sa spája učivom 8. ročníka základných škôl, ktoré sa venuje revolučným rokom 1848/1849, ďalej sa spája s Jánom Kollárom a jeho dielami, s Ľudovítom Štúrom a štúrovcami. Akonáhle sa učivo preberie, panslavizmus sa v štátnom vzdelávacom programe už nespomína. (štátny vzdelávací program ISCED 2.) Aj napriek tomu, je panslavizmus živou témou aj v 21. storočí a ovplyvňuje geopolitiku nie len Balkánu. V 21. storočí a ovplyvňuje geopolitiku nie len Balkánu. Panslavizmus sa vyvíjal, prispôboval svoju formu aktuálnym potrebám jeho priaznivcov. S Panslavizmom sa spájajú aj ďalšie pojmy, ktoré si v príspevku vysvetlíme. Jedným z nich je rusofilstvo, ktoré po udalostiach z februára 2022 dokazuje, že bolo a je v spoločnosti stále prítomné. Príspevok sa zaoberá panslavizmom na Balkánskom polostrove, ktorý sa v 19. storočí ocitol v transformačnom procese. Predstavitelia národov, ktoré dovtedy dekády a storočia žili pod osmanskou nadvládou začali hľadať cestu k autonómii. K dosiahnutiu svojho cieľa využívali svoju pozíciu nárazníkovej zóny mocenských ambícií Rakúska, Ruska a Osmanskej ríše, opierali sa o svoje mýty, dlhú históriu a o panslavistické myšlienky, ktoré podporovali ich národné práva a dodávali im legitimitu, či zmysel a podstatu. Pri písaní príspevku sme využili deskriptívnu metódu sekundárnych prameňov. Výsledkom je príspevok, ktorý slúži ako náhľad na vnímanie vybraných balkánskych štátov/národov na panslavizmus a rusofilstvo.

## Oblasť výskumu

Skúmanou oblasťou príspevku je Juhovýchodná Európa. Z geografického hľadiska ide o oblasť Balkánskeho polostrova, ktorý na severe od strednej a východnej Európy oddeľujú rieky Dunaj a Sáva. Hranicu oblasti tvorí na východe Čierne more, na juhovýchode Egejské more, na juhu Stredozemné more a na západe je jeho hranicou, ktorá ho oddeľuje od Apeninského polostrova, Jadranské more. (Hurbanovič, 2000) Keďže sú geomorfologické štruktúry v čase menej premenlivé, problém vytýčiť hranicu Balkánu z geografického hľadiska nie je problémom, ten nastáva až keď vezmeme do úvahy aspekty kultúrne, etnické, historické a politické. Tie presahujú rieky Sáva a Dunaj a okrem štátov ako sú Albánsko, Bulharsko, Srbsko, Bosna Hercegovina, Čierna hora a Macedónsko, ktoré tvoria základ pojmu Balkán, sem radíme aj štáty Bulharsko, Rumunsko, Chorvátsko a v tomto prípade sporné Slovinsko, ktoré sa mnohokrát priradzuje aj k strednej Európe. Samotné pomenovanie *Balkán* sa začalo používať niekedy v období 19. storočia a zastrešovalo všetky štáty juhovýchodnej Európy, ktoré spadali pod správu Osmanskej ríše. Ak vezmeme do úvahy okrem geografického hľadiska aj túto skutočnosť, tak sem môžeme zaradiť európsku časť Turecka. (Hurbanovič, 2000). Keďže sa slavistické myšlienky týkali celého slovanského areálu, je pre výskum nemenej dôležitou oblasťou región Strednej Európy v súčasnosti pozostávajúci z Poľska, Česka a Slovenska.

## Vybrané príklady panslavizmu v 19. storočí

Hlavnými skúmanými fenoménmi sú koncepcia všeslovanstvo, resp. panslavizmus. Pod pojmom všeslovanstvo rozumieme prepojenie slovanských národov a národností v oblasti kultúry, tradícií, literatúry, ďalej poukázanie na jazykové similarity, podobný vývoj a históriu. (Kollár) Zo všeslovanstva vychádza aj pojem panslavizmus, ktorý spomínanému dodáva politický ráz a kladie dôraz na vytvorenie spoločného štátneho útvaru všetkých Slovanov. (Suslov a kol., 2023) Prejavy panslavizmu neboli nikdy totožné, dokážeme pozorovať jeho základné črty, ktoré ho špecifikujú, avšak v dôsledku toho, že nešlo o organizované jednotné hnutie, smer, či ideológiu, dochádzalo pod vplyvom emócií, názorov, postojov k jeho rôznym interpretáciám s regionálnymi osobitosťami. (Sumner, 1935) Podobne ako panslavizmus operuje na politickej úrovni aj rusofilstvo. V prípade tohto pojmu ide o prehnanú adoráciu a glorifikáciu všetkého Ruského a spätého s Ruskom. (Suslov a kol., 2023) Cieľom je zistiť ako sa tieto myšlienky etablovali v priestore, ako si ich jednotlivé skupiny Slovanov prisvojili, interpretovali a upravili pre vlastné potreby a ako prúdy panslavizmu vplývali na národ formovacie hnutia. Náš výskum sa v jeho terajšej fáze zaoberal rusofilstvom na území dnešnej Slovenskej republiky v rozmedzí 19. storočia až po súčasnosť s dôrazom na jeho nositeľov, agendu a agitačné kampane. Aj z toho dôvodu sa v príspevku zaoberáme novej oblasti Balkánu a jeho špecifik.

Dlhé 19. storočie je obdobím veľkých spoločenských zmien, poznačila ho industrializácia, vojny, nové myšlienkové prúdy a hnutia za práva a lepšie postavenie utláčaných národov či národností. Slovania sa nachádzali na hranici kultúr, na hraniciach rozdielnych ideológií a filozofii. Chorvátsko spadalo pod Habsburskú monarchiu a bolo rozdelené na župy spravované Viedňou a Budapešťou. (Suslov a kol., 2023) Bulharsko a Srbsko spadali pod správu Osmanskej ríše. Napokon vo víre udalostí vzniklo aj samostatné Srbsko (Suslov a kol., 2023), Čierna Hora (Melichárek, 2020) a na konci 19. storočia aj Bulharské autonómne kniežactvo. (Suslov a kol., 2023) Na Rusko sa však nazeralo ako na storočia pretrvávajúci pilier slovanstva a ako na nositeľa slovanskej identity. V boji o národnú identitu stredoeurópskych a Južných Slovanov zohral dôležitú úlohu najmä panslavizmus, respektíve jeho predchodca, všeslovanské hnutie, ktoré prinášalo vidinu zmeny ich doterajšieho postavenia. (Weithmann, 1996) Všeslovanské myšlienky panslavizmu o objavovaní slovanskej identity pochádzali z európskych škôl, kde sa vyučovali teórie a diela nemeckých filozofov. (Suslov a kol., 2023) Ich domáci šíritelia vychádzali hlavne z diel Johanna Gottfrieda Herdera. Ústredným prvkom jeho učenia bolo myslenie ľudí vychádzajúce z vývoja ich jazyka. Herder o Slovanoch tvrdil, že majú úlohu uzdraviť Európu. (Ivantyšinová a kol., 2010) Pod chorobou, ktorá lomcuje Európu, myslel Západ a jeho liberalizmus, racionalizmus a demokraciu, ktorú považoval za predurčenú k zániku. (Weithmann, 1996) Ako protiváhu skazeného sveta uvádza práve cárské Rusko. Vo svojom

diele „*Ideen zur Philosophie der Geschte der Menschheit*“ opisuje Slovanov ako nadmieru dobročinných a pohostinných, poddajných a poslušných avšak aj napriek týmto vlastnostiam neuchránených od útlaku. Jeho odkaz utláčaným Slovanom vystihuje následný úryvok zo spomínaného diela: „*Slovania, konečne sa prebudte z dlhého nečinného spánku, zatrate svojimi otrockými reťazami, svoje krásne oblasti od Jadranského mora po Karpaty, od Donu po Vltavu, použite ako svoje vlastníctvo...*“ (Sydoruk, 1955) Herder poskytol Slovanom nový pohľad na ich miesto v Európskom kontexte a svojou tvorbou dodal potrebný impulz pre revolučné nacionalistické hnutia. Čerpali z neho aj Ján Kollár a Pavol Jozef Šafárik, (Ivantyšinová a kol., 2010) významní slavisti, ktorí sa zaslúžili o rozšírenie povedomia o prepojitelnosti slovanskej kultúry, histórie a jazyka. (Kollár) Na Balkáne Herderovo poňatie „kultúrneho národa“<sup>31</sup> otvára dvere panslavizmu ale aj nacionalizmu a vyvoláva zmeny vo vnímaní kultúrneho a politického života. (Weithmann, 1996) Predtým ako hnutie nabralo politické rozmery sa sústredilo na obnovenie kolektívnej pamäte, uvedomenie si vlastnej kultúry, folklóru a tradícií. (Weithmann, 1996) Jeho myšlienky sa šírili z prostredia Česka a Slovenska ďalej do juhovýchodnej Európy. Spomedzi významných národných buditeľov vyberáme mnícha Paisija pôsobiaceho v Bulharsku a srbských osvietencov po Herderovom vzore, Jovana Rajića, Vuka Karadžića a Chorváta Ljudevita Gaja. Poslední menovaní sa stretli a boli učenci Kollára a Štúra v Bratislave a učenie Pavla Jozefa Šafárika ich prilákalo do Nového Sadu. (Suslov a kol., 2023) Bulharská literatúra, cirkev, mestá a obchod boli počas tureckej nadvlády v gréckych rukách, bulharčina sa vytrácala a tomu odpovedalo aj národné povedomie. (Weithmann, 1996) Cieľom Pasija z Hilendaru bolo pozdvihnúť percepciu Bulharov v ich vlastných očiach ako „*najslávnejšieho národa spomedzi Slovanov*“, „*tých čo prví korunovali svojich cárov*“ a „*ako prvých ktorí sa dali pokrstiť a dobyli rozsiahle zeme.*“ (Suslov a kol., 2023) S úmyslom zachovať si svoje národné bohatstvo a históriu sa Bulhari spojili s Ruskom a tento vzťah im po rusko-tureckej vojne zabezpečil vyslobodenie sa spod Osmanskej ríše. Zároveň však panslavistické hnutia zohrali dôležitú rolu pri formovaní obrazu Ruska ako osloboditeľa Bulharov. (Suslov a kol., 2023) Zatiaľ čo sa bulharské národné prúdy stavali do ofenzívy najmä voči Grékom a Turkom, tie srbské mali svojho nepriateľa všade naokolo. Ide o prototyp „*vyčleňujúceho sa nacionalizmu*“, v ktorom ide izoláciu národa a jeho oddelenie od ostatných. (Weithmann, 1996) V tomto duchu predstavil Jovan Rajić v roku 1795 svoje dielo „*Dejiny juhoslovanských národov*“, ktoré v zmysle panslavistických myšlienok požaduje politické zjednotenie všetkých Slovanov, avšak pod srbským vedením. V jednotu Slovanov veril aj Vuk Karadžić, ktorý sa o to pokúšal cez jazyk. Aj u neho pociťujeme nadradené postavenie Srbov a ich túžbu po „*veľkom Srbsku*“. V roku 1849 vydáva *Kovčević za istoriju, jezik i običaje Srba sva tri zakona*. (Melichárek, 2010) Ide o jeho pokus o jazykovú reformu, ktorej podstatu tvorila myšlienka, že Chorváti sú Srbi a teda aj jazyk, ktorým sa dorozumievajú, je variantom srbčiny. (Weithmann, 1996) Historik Maroš Melichárek v tom vidí snahu Srbska navýšiť reálny počet svojich obyvateľov, tým, že k sebe pridajú aj Chorvátov a okrem iného aj Bosniakov, ktorých považovali za moslimských Srbov, s cieľom pôsobiť silne a teda „*veľkosrbsky*“. (Melichárek, 2010) V jeho interpretácii pripúšťa aj vedomostné činitele, a teda, že tvrdenia Karadžića vychádzali zo slavizmu a vtedajších znalostí o jazykoch a dialektoch. (Melichárek, 2010) Postavenie Srbska sa už v prvej polovici 19. storočia v porovnaní s ostatnými Slovanmi Balkánskeho polostrova zlepšilo. Po úspešných pokusoch o povstanie získalo takmer úplnú nezávislosť. Chorváti sa začali ostro vyhradzovať voči téze Vuka Karadžića. Referovanie všeobecnej idey existencie kultúrnej, lingvistickej a historickej podobnosti Slovanov, či zdieľané bratské puto medzi národmi zanechalo medzi Chorvátmi malú odozvu. Vzťah k podobným myšlienkam sa u Chorvátov ujal, ale skôr v súvislosti s juhoslovanstvom a s vlastným lingvistickým a literárnym vyčlenením. Medzi chorvátskymi národnými buditeľmi mal väčší ohlas ilyrismus.<sup>32</sup> Niekdajšie Ilýrske provincie zriadené za vlády Napoleona zahŕňali Slovinsko, Chorvátsko a Dalmáciu a zjednotenie týchto častí

<sup>31</sup> Kultúrny národ kladie dôraz na spoločné črty a znaky, ako sú kultúra, história a pod., viacerých rôznych národnostných spoločenstiev.

<sup>32</sup> Ilyristické hnutie malo za cieľ kultúrne, jazykové a politické prepojenie medzi juhoslovanskými národmi.

bolo nosnou témou hnutia. (Weithmann, 1996) Reprezentantom ilyrizmu bol Ľudovít Gaj ovplyvnený Herderovými a Kollárovými tézami. Gaj sa snažil kodifikovať chorvátsky jazyk na základe najviac používaného Štokavianskeho dialektu. (Suslov a kol., 2023) Ilyrske hnutie sa držalo v jazykovo-literárnych a kultúrnych rovinách, no v 40. rokoch 19. storočia sa hnutie spolitizovalo a v roku 1843 vystupujú s požiadavkami na unifikáciu Habsburských južných Slovanov, s cieľom zastaviť silnejúcu dominanciu Maďarska. (Suslov a kol., 2023) Panslavizmus a nacionalizmus ako zjednocujúci element mnohokrát na Balkáne zlyhával aj kvôli chápaniu „kultúrneho národa“, voči ktorému sa národy vyhradili a ktorý v tomto prípade segreguje mnoho premiešaných národností, náboženstiev a kultúr na jednotlivé izolované vlastné národy. (Weithmann, 1996)

## Rusko, panslavizmus a Balkán

Jeden z ruských konzervatívnych intelektuálov, Sergei Syromiatnikov, sa na tému balkánskych Slovanov vyjadril následne: „*Je nepredstaviteľné odtrhnúť kúsok chleba zo zbedačeného obyvateľstva Ruska a dať ho Slovanom, ktorí by ho aj tak nedocenili.*“ Vo voľnom preklade táto metafora hovorí jasne; nikto nenakrími svojho brata na úkor svojho vlastného dieťaťa. (Suslov a kol., 2023)

Cárske Rusko sa k myšlienkam panslavizmu spočiatku stavalo s rezervou. Dôvodov prečo panslavistické myšlienky v kruhoch ruskej politiky rezonovali málo bolo niekoľko. V priebehu 19. storočia sa cieľom ruskej geopolitiky stáva ďaleký východ a oblasť slovanských národov v Európe južne od hraníc impéria jednoducho nenapĺňala ambície globálnej veľmoci, za ktorú sa Rusko považovalo. (Suslov a kol., 2023) Podľa Mikhaila Suslova bol ruský pohľad na panslavistické myšlienky dvojaký. Keďže sa v prvej polovici 19. storočia panslavizmus zviezol na pleciah revolucionárov a národných buditeľov volajúcich po zmenách štátneho usporiadania, vyvolával v očiach mnohých skepsu a obavy z možnej demokratizácie vtedajšej absolutistickej ruskej spoločnosti. (Suslov a kol., 2023) Zároveň sa začala rozmáhať predstava o Západnej civilizácii ako subjektu, ktorý utláča a využíva postavenie Slovanov. V dobových novinách *Svet* píše ich hlavný editor Vissarion Komarov o „westernizácii“ Slovanov a represiách voči nim s ňou súvisiacimi. Poukazuje na to, že všetky snahy Slovanov v Strednej a Juhovýchodnej Európe o osamostatnenie vedú práve k pripojeniu sa k Západu a teda vedú k odluke s Ruskom. (Suslov a kol., 2023) Potenciálna možnosť takého scenára bola pre Rusko neprijateľná. Tým sa začína meniť pohľad na slavistické a panslavistické prúdy a Rusko sa samo stavia do polohy jediného slobodného Slovanského štátu. (Suslov a kol., 2023) Rusko túto prestížnu rolu odôvodnilo aj náboženskými aspektami. Ešte v roku 1774 garantovalo ochranu pravoslávneho obyvateľstva Osmanskej ríše, pod ktorú spadali aj pravoslávni Slovania na Balkáne. (Melichárek, 2015) V novom storočí sa dôležitým obrazom panovníka stala úloha ochrániť ale aj šíriť pravoslávie. Toto poslanie vyplývalo aj zo statusu Moskvy ako Tretieho Ríma a teda Moskovského štátu ako dediča starovekého Ríma a Konštantínopolu, jediného legitímneho ochrancu pravého kresťanstva. (Rojek, 2015) Pohľad Ruska na svoje vlastné postavenie, ako spasiteľa a nárokovateľa ostatných slovanských krajín, sa v priebehu nasledujúcich dekád veľmi nezmenil. Podobnú rétoriku, preformulovanú v nový koncept „ruského sveta“ (ruskij mir) využíva Kremľ aj v súčasnosti, kedy ním legitimizuje svoje zásahy do štátnej suverenity nielen Ukrajiny. (Šír a kol., 2017)

V 19. storočí sa Rusi snažili viesť svoju výbojnú zahraničnú politiku aj smerom do oblasti Balkánu, pričom môžeme vidieť, že ich ciele boli skrývané pod rozličné formy pomoci, či deklarovaného poslanca chrániť a oslobodiť územia obývané pravoslávny obyvateľstvom. Túto politiku môžeme vidieť na príklade snahy zlepšiť postavenie Bulharska. Navyše, Balkán ako oblasť s prevažne pravoslávny Slovanským obyvateľstvom, spadal do koncepcie možného ruského národa. (Rojek, 2015) Náboženská spojitosť nebola jediným prienikom. Jedným z hlavných reprezentantov panslavizmu a všeslovanstva sa stal profesor histórie na Moskovskej univerzite, Michail Petrovič Pogodin. (Sumner, 1935) So súhlasom cára Alexandra II. v roku 1858 zakladá „Slavic Benevolent Committee“, s cieľom pomáhať Južným Slovanom rozvinúť jednak ich náboženstvo, ale tieto „misie“ sa zamerali aj na vzdelávacie a inak národne orientované inštitúcie. Za cieľ si kládli aj edukáciu mladých Slovanov, ktorých z oblasti Balkánu privádzali do Moskvy. Výbory s rovnakým cieľom

vznikli aj v mestách Odesa a Kyjev. (Sumner, 1935) Podobné črty ako u Pogodina vidíme aj u ďalšieho významného ruského panslavistu Nikolaja Jakovlevicha Danilevskeho. Jeho publikácia *Russia and Europe*, prvýkrát vydaná v roku 1868-69, položila základy panslavistickým ideám a je považovaná za príručku o multicivilizačnom svetovom poriadku. (Diec, 2020) Na jej stranách odmieta ideu o ľudstve ako integrovanom celku. Ľudstvo je v jeho ponímaní skôr zložením koherentných „kultúrno-historických typov“, ktoré sa počas svojej existencie majú snažiť dosiahnuť vrchol v literatúre, umení, filozofii, priemysle a pod. Každý z týchto typov má vlastnú integrálnu históriu a kríženie vlastností medzi jednotlivými typmi je nevhodné s náležitými následkami pri ďalších generáciách. Preto národy Slovánskeho „kultúrno-historického typu“ nebudú prosperovať a nedosiahnu spomínaný vrchol, tým, že príjmu črty Rímsko-germánskeho typu. Jeho prístup k panslavizmu teda spočíval v podpore individualizmu a odlišnosti, najmä od západných kultúr, s dôrazom na spätosť so Slovánskym etnikom a jeho kultiváciu. (Diec, 2020)

Premenlivosť Balkánu sa opäť ukázala po rusko-tureckej vojne, odohrávajúcej sa v rokoch 1877-1878, (Suslov a kol., 2023) kedy sa územie Osmanskej ríše v Juhovýchodnej Európe začalo redukovať. Príčinou vypuknutia tejto vojny boli najmä straty, ktoré Rusko utrpelo v Krymskej vojne, ukončenej Parížskym mierom, ktorý okrem iného zahrňoval demilitarizáciu Čierneho mora, na základe čoho ostal južný breh Ruska bez námornej ochrany. Rusko po Krymskej vojne tiež prišlo o Besarábiu a ústie Dunaja. Aj preto sa Rusko snažilo získať späť všetko to, čo stratilo. (Vražicová, 2016)

Ak sa však vrátíme späť k výsledkom Rusko-tureckej vojny, tak jej ukončenie bolo potvrdené podpisom Sanstefanskej zmluvy, ktorá definitívne uznala osamostatnenie Srbska a Čiernej hory, ktoré svoju pozornosť a nároky okrem iného upriamili aj na Bosnu a Hercegovinu. (Melichárek, 2020) Zmluva deklarovala aj to, že Bulharsko sa stalo ruským vazalským štátom, čo malo byť pre Rusko istotou toho, že sa dostane k Carihradu. Napriek tomu však Rusko dovtedy verejne nehovorilo o svojom skutočnom ciele, Carihrade, ale túto vojnu ospravedľňovalo ako snahu pomôcť svojim „juhoslovanským bratom“. (Vražicová, 2016) Reakcia Európy na seba nenechala dlho čakať, pretože jej predstavitelia neboli spokojní s výsledkom tohto konfliktu a snažili sa o revidovanie Sanstefanskej mierovej zmluvy. Výsledkom bol Berlínsky kongres, ktorý sa uskutočnil v roku 1878 a pre Rusko znamenal ukončenie vplyvu na Balkáne. Totižto, Berlínskym kongresom sa spod jeho vplyvu úplne dostali Srbsko, Čierna Hora a Rumunsko, ktoré boli uznané ako nezávislé štáty. Bosna a Hercegovina sa dostali pod nadvládu Rakúska a Bulharsko sa dostalo pod patronát Osmanskej ríše. V dôsledku týchto udalostí a celkovej zmeny pozície Ruska panslavistické myšlienky slabli. (Vražicová, 2016)

## Záver

Cieľom príspevku bolo poukázať na panslavistické idey na pozadiach národ obrodzovacích hnutí Balkánskeho polostrova. V prvej časti príspevku sme poukázali na komplikované postavenie vybraných juhoslovanských národov. Tieto národy mali pred sebou dlhú cestu, ktorej cieľom bola buď čiastočná alebo úplná autonómia a vymanenie sa spod Osmanskej ríše a Rakúsko-Uhorskej monarchie. Pri tendenciách vyhlásenia samostatnosti sme zaznamenali podobnosti v spôsoboch ako túto autonómiu dosiahnuť. V príspevku spomínané národy preukázali schopnosť vytýčiť svoju identitu pomocou lingvistických kodifikačných snáh a pomocou spoločných respektíve rozdielnych kultúrnych, historických a náboženských zázemí. Panslavizmus v tomto priestore pôsobí ako katalyzátor zmien, ktorý do skúmaného prostredia priniesli učenci, historici a predstavitelia národnej inteligencie. Okrem spomínaného bol pre tieto ciele využitý aj panslavizmus, ktorý národom dodal potrebný impulz pre sebaurčenie. Druhá časť príspevku sa venuje Rusku a jeho imperiálnym cieľom na Balkánskom polostrove. Dáva do povedomia meniaci sa pohľad na panslavistické prúdy s meniacim sa ruským geopolitickým záujmom. Príspevok a dizertačná práca ponúka priestor pre možné doplnenie a prehĺbenie skúmanej oblasti. Téma dizertačnej práce je komplexná a náš výskum je v počiatočnej fáze. Venovali sme sa najmä agitačnej činnosti rusofilov na Slovensku počas obdobia 19. a 20. storočia a pri oblasti Juhovýchodnej Európy sme zatiaľ pracovali len so sekundárnymi prameňmi, a tak si Balkán stále vyžaduje hlbšiu analýzu pre vyvodenie jasnejších záverov.

## 1. Literatúra

DIEC, Joachim. 2020. Pan-slavism and its Concepts of Europe. [online]. [cit. 2024.04.05] Dostupné <https://ruj.uj.edu.pl/server/api/core/bitstreams/13d5e933-dfba-409f-982b-1df8bbe226d5/content>

ĐORĐEVIĆ, Vladimir et al. 2023. Revisiting Pan-Slavism in the contemporary perspective. In: Nationalities Papers. 51: 3 – 13.

HURBANIČ, Martin. 2000. Vybrané kapitoly z Balkánskych dejín. Bratislava: Metodické centrum Bratislava. ISBN 80-7164-284-3

IVANTYŠYNOVÁ, Tatiana et al. 2010. Východná dilema strednej Európy. Bratislava: Spoločnosť pre dejiny a kultúru strednej a východnej Európy. ISBN 978-80-970376-1-1

MELICHÁREK, Maroš. 2015. Medzinárodné vzťahy v 19. a 20. storočí I. Košice: UPJŠ v Košiciach. ISBN 978-80-8152-335-9

MELICHÁREK, Maroš. 2020. Národy Juhovýchodnej Európy. Košice: UPJŠ v Košiciach. ISBN 978-80-8152-842-2

ROJEK, Pawel. 2015. Rusko: prokletí impéria. Brno: Centrum pre štúdium demokracie a kultúry. ISBN 978-80-7325-373-8

SUSLOV, Mikhail, Marek ČEJKA a Vladimir ĐORĐEVIĆ, 2023. Pan-Slavism and Slavophilia in Contemporary Central and Eastern Europe. Berlin: Springer. ISBN 978-3-031-17874-0

ŠÍR, Ján et al. 2017. Ruská agrese proti Ukrajine. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-3711-2

WEITHMANN, Michael. 1996. Balkán – 2000 let mezi východem a západem. Praha: Vyšehrad. ISBN 80-7021-199-7

## 2. Časopis

SUMNER, Benedict Humphrey, 1935. Russia and Panslavism in the Eighteen-Seventies. In: Transactions of the Royal Historical Society. [online]. Vol. 18. [cit. 2024-04-08]. Dostupné [https://www.jstor.org/stable/3678602?read-now=1&seq=1#page\\_scan\\_tab\\_contents](https://www.jstor.org/stable/3678602?read-now=1&seq=1#page_scan_tab_contents)

SYDORUK, John P., 1955. Herder and the Slavs. In: AATSEEL Journal [online]. Vol. 13, no. 3 [cit. 2024-04-07]. Dostupné [https://www.jstor.org/stable/43678251?searchText=herder+slavs&searchUri=%2Faction%2FdoBasicSearch%3FQuery%3Dherder%2Bslavs%26so%3Drel&ab\\_segments=0%2Fbasic\\_search\\_gsv2%2Fcontrol&refreqid=fastly-default%3A88b6c49e51a4e7e66c8c75e2352cfd9c&seq=4](https://www.jstor.org/stable/43678251?searchText=herder+slavs&searchUri=%2Faction%2FdoBasicSearch%3FQuery%3Dherder%2Bslavs%26so%3Drel&ab_segments=0%2Fbasic_search_gsv2%2Fcontrol&refreqid=fastly-default%3A88b6c49e51a4e7e66c8c75e2352cfd9c&seq=4)

## 3. Záverečné práce

MELICHÁREK, Maroš, 2010. Problém nacionalizmu v Srbsku v 19. storočí: diplomová práca. Prešov: Prešovská Univerzita v Prešove.

VRAŽICOVÁ, Klaudia, 2016. Ruské slavianofilstvo, panslavizmus a rusko-turecké vojny: bakalárska práca. Brno: Masaryková univerzita v Brne.

#### 4. Ďalšie zdroje

KOLLÁR, Ján. O literárnej vzájomnosti. [online].[cit. 2024-04-09] Dostupné  
[https://zlatyfond.sme.sk/dielo/307/Kollar\\_O-literarnej-vzajomnosti/13](https://zlatyfond.sme.sk/dielo/307/Kollar_O-literarnej-vzajomnosti/13)

Štátny vzdelávací program ISCED 2. Dostupné  
[https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/dejepis\\_g\\_4\\_5\\_r.pdf](https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/dejepis_g_4_5_r.pdf)



# VODNÁ DIPLOMACIA AKO ROZVÍJAJÚCI SA NÁSTROJ ZAHRANIČNEJ POLITIKY 21. STOROČIA

*Water diplomacy as a developing foreign policy tool of the 21st century*

Jana Kseňák Gregová

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Zhoršujúce sa klimatické podmienky ovplyvňujú aj množstvo dostupnej vody a otvárajú tak nové otázky a problémy v medzinárodných vzťahoch. To si vyžaduje hľadanie nových prístupov k riešeniu tejto problematiky, jedným z takýchto relatívne nových prístupov je vodná diplomacia. Ide o nástroj štátov na dosahovanie svojich cieľov a zámerov v zahraničnej politike. Vodná diplomacia využíva nástroje tradičnej diplomacie na prehĺbenie vzťahov medzi štátmi zdieľajúcimi určité vodné zdroje, pričom prvoradým cieľom je udržanie mierového usporiadania medzi štátmi. Za týmto účelom si tieto štáty zriaďujú organizácie, prostredníctvom ktorých uplatňujú vodnú diplomáciu a zároveň im tieto organizácie pomáhajú pri udržiavaní symetrických vzťahov a rovnoprávnom prístupe k informáciám o danom zdroji.

**Kľúčové slová:** *vodná diplomacia, región, vodný zdroj, štát, organizácie.*

**Abstract:** Deteriorating climatic conditions also affect the amount of available water and thus open up new questions and problems in international relations. This requires the search for new approaches to solving this problem, one of such relatively new approaches is water diplomacy. It is a tool for states to achieve their goals and objectives in foreign policy. Water diplomacy uses the tools of traditional diplomacy to deepen relations between states sharing certain water resources, with the primary goal of maintaining a peaceful arrangement between states. For this purpose, these states establish organizations through which they apply water diplomacy and at the same time these organizations help them in maintaining symmetrical relations and equal access to information about the given resource.

**Keywords:** *water diplomacy, region, water resource, state, organizations.*

## Definičný rámec vodnej diplomacie

Termín vodná diplomacia nie je konvenčný, nepoužíva sa tak často, ako pojem diplomacia sama o sebe. Rovnako ako pôvodný význam slova diplomacia, sa aj vodná diplomacia využíva na prehĺbenie spolupráce a na udržanie mierových vzťahov s inými štátmi. Zásadný rozdiel je v škále štátov, s ktorými sú dané vzťahy budované. Vo vodnej diplomacii sa štáty sústreďujú na štáty, ktoré sú pre nich kľúčové, s ktorými spolu zdieľajú istý vodný zdroj. Tento druh diplomacie je využívaný ako nástroj zahraničnej politiky na upevnenie medzinárodnej spolupráce a riešenie problémov s vodnými zdrojmi. Aj z tohto dôvodu považujeme za relevantné charakterizovať túto sub - disciplínu diplomacie. Tento zámer rovnako definujeme ako cieľ tohto príspevku.

Vodná diplomacia je stále považovaná za nový koncept, ktorý nemá jednotnú, všeobecne platnú definíciu. Na čom sa však mnohé zdroje zhodujú je, že ide o mierové, politické riešenia cezhraničnej spolupráce súvisiacej s vodnou problematikou. Dôležité je brať do úvahy regionálny rozmer danej spolupráce, geopolitické faktory a zahranično-politickú orientáciu zapojených štátov. Na základe vyššie spomenutého môžeme za kľúčových aktérov vodnej diplomacie označiť práve štáty štátov, ktoré spolu zdieľajú istý vodný zdroj (v zastúpení ich vlád), medzinárodné organizácie, komisie povodí, ktorých problematika sa rieši, ale aj mnohí ďalší aktéri diplomacie zainteresovaných strán. Za aktérov v tejto oblasti môžeme označiť aj rôzne mimovládne organizácie, ktoré zastupujú či už záujmy obyvateľov danej oblasti alebo zastupujú hospodárske sektory daného štátu. Na rokovaníach sa môžu zúčastňovať aj iné štáty, ktoré nie sú problematikou daného vodného zdroja priamo ovplyvnené, ale pôsobia ako pozorovatelia danej oblasti, alebo aj organizácie, ktorých činnosť súvisí s podmienkami daného vodného zdroja alebo diplomacie v tejto oblasti. To znamená, že ide o zapojenie pomerne širokej oblasti štátnych aj neštátnych aktérov. (Milman and Gerlak, 2020) Títo aktéri sa medzi sebou snažia, v prvom rade, vybudovať dôveru, ktorá je kľúčová pre ďalšiu

spoluprácu, nakoľko ide o citlivú tému, poväčšine otázky dostupnosti a kvality vody. Práve nešťátni aktéri zohrávajú v procese budovania dôvery dôležitú úlohu prostredníctvom zlepšovania dialógu medzi hlavnými aktérmi, čím pomáhajú riešiť vzniknuté nedorozumenia, spory a napätia. Zároveň pomáhajú pri zdieľaní informácií a objasňovaní udalostí ako aj okolností okolo spoločného vodného zdroja. Nešťátni aktéri pomáhajú v tejto oblasti aj prispievaním svojich poznatkov a pomoci v sociálnej, ekonomickej, technickej, ale aj finančnej pomoci. Na národnej úrovni vyššia účasť štátnych aj neštátnych zainteresovaných strán na procesoch vodnej diplomacie zvyšuje politickú angažovanosť, ako aj zdieľanie údajov a informácií. (Klimes et al., 2019)

Nejednotnosť definície vodnej diplomacie sa odráža aj v rozmanitosti kontextov, do ktorých je túto koncepciu možné uložiť. Aj napriek tomu rastie tlak na štáty, aby sa tejto koncepcii vodnej diplomacie venovali intenzívnejšie a viac ju začleňovali v rámci svojich politík, najmä v rámci Európskej únie. Čo ale štáty brzdi v implementácii vodnej diplomacie je práve nejednotná definícia a prístup, ktorý by mali aplikovať. Európska únia preto nevie štáty efektívne motivovať k intenzívnejšiemu rozvoju vodnej diplomacie. (Pohl et al., 2014) Náročnosť celej situácie podčiarkuje fakt, že vodná diplomacia sa zameriava na spoluprácu v oblasti zdieľaných vôd, teda ide o cezhraničnú spoluprácu. V tomto bode sa môže celý aspekt tejto formy diplomacie ešte skomplikovať, nakoľko v niektorých prípadoch vodné zdroje, ktoré štáty zdieľajú, presahujú hranice Európskej únie. Nečlenské štáty nemôže EÚ zväzovať svojimi pravidlami a tým pádom vymožiteľnosť práva EÚ, jej regulácií a postupov je o to náročnejšia.

Keďže zdieľané vodné zdroje si vyžadujú spoločnú správu a riadenie vodných zdrojov, prv si musia národné štáty určiť tieto dané vodné zdroje ako jedny zo svojich politických priorít. V mnohých prípadoch tomu tak naozaj aj je, vzhľadom na to, že zdieľané vodné zdroje, či už rieky, jazerá alebo aj nádrže, sú často ekonomickým a hospodársky dôležitým aspektom fungovania daného štátu. (Yasuda et al., 2018) Preto narušenie vzťahov so druhým štátom, v tejto vodnej problematike, môže mať za následok narušenie dodávok vody, obmedzenie prítoku či zmenu kvality vody, ktorú štát dostáva. Aj na základe toho môžeme povedať, že správa a riadenie vody ako také majú prevažne kooperačný charakter a štáty sa prirodzene samy snažia o udržanie, resp. vytváranie, väzieb vedúcich k intenzívne a predovšetkým mierovej spolupráci.

## Správa vodných zdrojov

Aj napriek prvotnému mierovému charakteru tejto spolupráce môžu nastať situácie, kedy jednotliví aktéri pôsobiaci v danom povodí budú vystavení výzvam v správe zdieľaných vodných zdrojov. Niektorí aktéri, napr. štáty, sa môžu v rámci zdieľaného zdroja správať sebecky, môžu začať sledovať len vlastné záujmy bez ohľadu na možné dopady pre ostatných, ktorí s nimi daný zvodný zdroj spolu zdieľajú. Na národnej úrovni môžu národné vlády alebo iné ústredné orgány rozhodovať o plánoch na svojom štátnom území v rámci spoločného vodného zdroja v rámci ich právomocí a kompetencií, v kontexte správy vodných zdrojov. (Zeitoun et al., 2014) Rozhodujú o kompromisoch a presadzujú dohody medzi jednotlivými aktérmi vnútri štátov v otázkach daného vodného zdroja. Medzinárodné vodné právo obsahuje kľúčové zásady, ktorými sa riadia cezhraničné vody a ktoré sú platné pre všetky štáty rovnako. Slabou stránkou tohto procesu je, že dodnes v podstate neexistuje na medzinárodnej úrovni dostatok prostriedkov ako zakročiť proti aktérom, ktorí dané práva porušujú.

Práve z týchto dôvodov štáty vytvárajú medzinárodné organizácie, ktoré im pomáhajú riešiť spoločné problémy daného zdieľaného vodného zdroja. Tieto organizácie majú rôzne formy, organizačné štruktúry a rôzne kompetencie či úlohy, ktoré plnia. Môže ísť o medzinárodné organizácie povodí, výbory pre povodia, rôzne orgány či komisie uľahčujúce štátom vzájomnú spoluprácu. (Milman and Gerlak, 2020) Okrem toho je dôležitou úlohou týchto organizácií, v akejkoľvek forme, poradná funkcia pre štáty, ktoré spoločne spravujú istý vodný zdroj. Poskytujú štátom priestor pre rokovanie, vedenie fór a uzatváranie dohôd. Pre zvýšenie efektivity spolupráce, zavádzajú tieto inštitúcie spoločné postupy riešenia problémov, vykonávajú monitoring stavu vodných zdrojov, ale aj úrovne spolupráce či dodržiavanie spoločných záväzkov. Týmto úlohami sa snažia zmieriť napätie, ale aj riešiť vznikajúce spory, no zastávajú aj prevenčnú funkciu, kedy sa snažia eliminovať riziko

vypuknutia akékoľvek napätia. Kroky, ktoré vykonávajú tieto organizácie, vrátane zdieľania informácií a zvyšovania transparentnosti, v konečnom dôsledku vedú aj k znižovaniu asymetrie v postavení jednotlivých aktérov daného vodného zdroja. (Blumstein et al., 2016) Zvlášť dôraz je kladený práve na uzatváranie zmlúv medzi zainteresovanými stranami, nakoľko efektívne znižujú riziko vypuknutia konfliktu medzi štátmi spolu zdieľajúci vodné zdroje.

## Regionálna spolupráca

Spolupráca nad jednotlivými vodnými zdrojmi presahujúcimi hranice štátov sa nie len, že nachádza v určitých regiónoch, ale často sa týmto spôsobom vytvárajú mikroregióny daných vodných zdrojov. Nástroje vodnej diplomacie môžu prispieť k prehĺbeniu regionálnej spolupráce a integrácie. Na to je potrebné vytvorenie inštitucionálneho rámca, ktorý bude pomáhať štátom v udržiavaní vzájomných vzťahov a symetrického postavenia. Pre udržanie prosperujúceho prostredia je nutné, aby štáty zdieľajúce spoločný vodný zdroj hospodárili s týmto zdrojom rovnakým spôsobom. (Kittikhoun a Schmeier, 2021) Práve organizácie, ktoré sme spomenuli vyššie, slúžia ako platforma na zjednotenie postupov pri určovaní jednotného vodného hospodárstva vodného zdroja. Táto prepojenosť štátov je aj jedným z kľúčových národných záujmov, ktorý tvorí hnací motor spolupráce.

Upevňovanie regionálnej spolupráce štátov je dôležité aj kvôli klimatickým zmenám, ktoré vplývajú na množstvo dostupnej vody, nakoľko podstatná otázka v rámci tejto spolupráce sa týka otázky pridelovania vody. Štáty musia k tejto téme pristupovať citlivo a s maximálnou profesionalitou, keďže uzurpovanie si istej časti vody na úkor ostatných by mohlo viesť nie len k zhoršeniu vzájomných vzťahov, ale aj k narušeniu regionálnej stability. Voda sa týmto spôsobom stáva potenciálnym zdrojom konfliktu. (Barua, 2018) Preto sa štáty usilujú zotrvať v pozitívnych a kooperatívnych vzájomných vzťahoch. Štáty si uvedomujú, že vzájomná spolupráca im prináša predovšetkým mnohé výhody a možnosť spolupráce pri vzájomne prepojených problémoch. Preto sa štáty snažia v rámci spolupráce a usporiadania o spravodlivé podmienky pre všetkých v otázke pridelovania zdieľaných vodných zdrojov. (Phillips et al., 2006)

## Vodná diplomacia a zahraničná politika

Keďže vodná diplomacia v sebe nesie politické praktiky a procesy riešenia sporov a ich zmiernovania v otázke zdieľaných vodných zdrojov, je nutné povedať, že jej súčasťou je aplikovanie a uplatňovanie prostriedkov zahraničnej politiky. Tie sa odrážajú v uzatvorených zmluvách medzi týmito štátmi, bilaterálnymi aj multilaterálnymi, nie len výlučne v otázke vody. Vodná diplomacia je podoblasťou klasickej diplomacie, ako je konvenčne vnímaná, ale týka sa otázok a problematiky zdieľanej vody, prevažne v otázkach množstva a pridelovania zdieľanej vody. (Schmeier a Shubber, 2018)

Špecifickosť vodnej diplomacie spočíva aj v tom, že ide nad rámec konvenčných diplomatických interakcií, jej súčasťou sú okrem štátnych aj neštátni aktéri nachádzajúci sa na rôznych úrovniach. Preto je dôležité vnímať jednotlivé úrovne aktérov zapojených do vodnej diplomacie, s ohľadom na ich postavenie, kompetencie a moc. Jednou z hlavných nástrojov vodnej diplomacie sú rokovania medzi zainteresovanými stranami, pričom vo väčšine prípadov môžeme hovoriť, že výsledky vodnej diplomacie prinášajú pozitívne výsledky. (Keskinen et al., 2021) Čím nadväzujeme na text vyššie, v ktorom hovoríme o motivácii štátov spolupracovať z dôvodu prinášania vzájomných výhod a pozitívnych výsledkov a obojstranne výhodných riešení. V konečnom dôsledku vzhľadom na rozsah a citlivosť týkajúca sa otázky okolo vody, vodná diplomacia prispieva nie len k riešeniu problémov týkajúcich sa vodnej problematiky, ale prispieva aj k regionálnej spolupráci, rozvoju, mierovému spolunažívaniu a stabilite regiónov. Aj to je jeden z dôvodov prečo je vodná diplomacia považovaná za jednu z možných ciest na dosahovanie širších cieľov zahraničnej politiky.

Úlohou vodnej diplomacie je predchádzať vzniku konfliktov v otázke zdieľania vodných zdrojov, pričom podnecuje spoluprácu štátnych aj neštátnych aktérov na rôznych úrovniach. Štáty sa snažia prostredníctvom vodnej diplomacie dospieť k aplikovaniu efektívnej správy vodných zdrojov aj s pomocou vhodne nastaveného vodného hospodárstva, kde je potrebná súčinnosť všetkých zainteresovaných strán. Pre tento účel sa vytvárajú, už spomínané, vodné organizácie, ktoré štátom

v tejto správe pomáhajú a snažia sa zabezpečiť rovnosť všetkých štátov, ktorých sa daná problematika týka, prevažne vykonávaním analýz, monitorovacej, ale aj informačnej činnosti. (Bernauer a Böhmelt, 2020) Tieto aktivity a snahy vedú v konečnom dôsledku k posilneniu spolupráce, stabilnejším regiónom a zisku výhod pre všetkých zainteresovaných.

## Záver

Vodná diplomacia ako stále novo vytvárajúci sa koncept nemá jednotné definičné vymedzenie, no viaceré publikácie sa zhodujú na tom, že ide o podkategóriu tradičnej diplomacie, ktorú poznáme a v jej aktivitách sú zapojení rovnako štátni aj neštátni aktéri. Vzhľadom na to, že ide o podkategóriu diplomacie, tak vodná diplomacia používa rovnaké nástroje, v intenzívnejšom ponímaní ide prevažne o nástroj rokovania, prostredníctvom, ktorého zapojení aktéri prehlbujú vzájomnú spoluprácu a dôveru medzi nimi. Tento druh diplomacie sa zameriava, ako to vyplýva zo samotného pomenovania, predovšetkým na problematiku vody a zdieľaných vodných zdrojov, pričom sa snaží hľadať také riešenia, ktoré sú výhodné pre všetky zainteresované strany, aby bolo minimalizované riziko vzniku konfliktu, resp. vypuknutia akéhokoľvek sporu. Koncept vodnej diplomacie je stále v prevažnej miere vyvíjajúci sa, nakoľko stále čelíme dopadom klimatických zmien a stále nevidujeme všetky následky na vodu a vodné zdroje, pričom sa do budúca dá počítat' s intenzívnejším suchom, alebo naopak záplavami. Nakoľko v mnohých prípadoch ide o strategické záujmy štátov, ciele vodnej diplomacie sa častokrát prekrývajú so záujmami zahraničnej politiky štátov a preto môžeme sledovať trend používania a rozvíjania práve vodnej diplomacie ako nástroja na dosahovanie cieľov štátov za jeho hranicami.

## Literatúra

- BARUA, A., 2018. Water diplomacy as an approach to regional cooperation in South Asia: A case from the Brahmaputra basin. In: *Journal of Hydrology*. Vol. 567, p. 60-70.
- BERNAUER, T. a BÖHMELT, T., 2020. International conflict and cooperation over freshwater resources. In: *Nature Sustainability*. Vol. 3, no. 5, p. 350-356.
- BLUMSTEIN, S. et al., 2016. *Water And Climate Diplomacy: Integrative Approaches for Adaptive Action in Transboundary River Basins*. Berlin: adelphi.
- KESKINEN, M. et al., 2021. Water diplomacy paths – An approach to recognise water diplomacy actions in shared waters. In: *Journal of Hydrology*. Vol. 602, p. 2-6.
- KITTIKHOUN, A. A SCHMEIER, S., 2021. *River Basin Organizations in Water Diplomacy*. London: Routledge. ISBN 9780367627317
- KLIMES, M. et al., 2019. Water diplomacy: The intersect of science, policy and practice. In: *Journal of Hydrology*. Vol. 575, p. 1362–1370.
- MILMAN, A. a GERLAK, A. K., 2020. International river basin organizations, science, and hydrodiplomacy. In: *Environmental Science Policy*. Vol. 107, p. 137–149.
- PHILLIPS, D, et al., 2006. *Transboundary Water Cooperation as a Tool for Conflict Prevention and Broader Benefit Sharing*. Stockholm: Ministry of Foreign Affairs Sweden.
- POHL, B. et al., 2014. *The rise of hydro-diplomacy: Strengthening foreign policy for transboundary waters*. Berlin: adelphi.
- SCHMEIER, S. A SHUBBER, Z., 2018. Anchoring water diplomacy – The legal nature of international river basin organizations. In: *Journal of Hydrology*. Vol. 567.

YASUDA, Y. et al., 2018. Multi-track water diplomacy: current and potential future cooperation over the Brahmaputra River Basin. In: *Water International*. Vol. 43, no. 5, p. 642–664.

ZEITOUN, M. et al., 2014. Transboundary water justice: A combined reading of literature on critical transboundary water interaction and 'justice', for analysis and diplomacy. In: *Water Policy*. Vol. 16, p. 174-193.

# MASARYKOVA KOLÓNIA BANKOVÝCH ÚRADNÍKOV V MEDZIVOJNOVÝCH KOŠICIACH SO ZRETEĽOM NA RIEŠENIE BYTOVEJ OTÁZKY JEDNOTLIVÝCH SOCIÁLNYCH VRSTIEV

*Masaryk Colony of Bank Officials in interwar Košice with a view to solving the housing issue of individual social strata*

**Helena Kuncová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Cieľom príspevku je priblíženie výstavby Masarykovej kolónie bankových úradníkov v Košiciach na pozadí bytovej krízy a jej legislatívnych riešení v medzivojnovom Československu. Zreteľ je kladený na nižšie ale aj rozrastajúce sa stredné vrstvy obyvateľstva. Problematika je spracovaná v troch samostatných kapitolách, pričom prvá kapitola zachytáva základné faktory ovplyvňujúce bytovú krízu v medzivojnovom Československu spolu so stručným prehľadom legislatívnych krokov, ktorých cieľom bolo túto krízu riešiť. Druhá časť je zameraná na Masarykov kult osobnosti, ktorý vo výraznej miere vplýval nielen na život v spoločnosti ale aj na československú architektúru a verejný priestor. Záverečná časť príspevku je venovaná samotnej Masarykovej kolónii bankových úradníkov, ktorá reprezentovala funkcionalistickú jednoduchosť, účelovosť a praktickosť. V závere príspevku je načrtnutý aj ďalší výskumný potenciál tejto témy.

**KLúčové slová:** 1. ČSR, Tomáš Garrigue Masaryk, Masarykov kult, Masarykova kolónia, Košice

**Abstract:** The aim of the contribution is to approach to the construction of Masaryk's colony of bank officials in Košice against the background of the housing crisis and its legislative solutions in interwar Czechoslovakia. The focus is on the lower but also the growing middle classes of the population. The issue is treated in three separate chapters, while the first chapter captures the basic factors affecting the housing crisis in interwar Czechoslovakia together with a brief overview of legislative steps aimed at solving this crisis. The second part is focused on Masaryk's cult of personality, which significantly influenced not only life in society but also Czechoslovak architecture and public space. The final part of the contribution is dedicated to Masaryk's colony of bank officials, which represented functionalist simplicity, expediency and practicality. At the end of the paper, further research potential of this topic is outlined.

**Key words:** 1. ČSR, Tomáš Garrigue Masaryk, Masaryk's cult, Masaryk colony, Košice

## Úvod

Situácia po prvej svetovej vojne a po rozpade Rakúsko-Uhorska so sebou priniesla významné zmeny, a to nielen v politickej a hospodársko-spoločenskej oblasti, ale aj v oblasti (verejného) priestoru miest nástupníckych štátov. V novovzniknutej Československej republike to nebolo inak a prudký demografický nárast obyvateľstva si vyžadoval nielen zabezpečenie nových obytných priestorov, ale aj rekonštrukciu už postavených bytov, ktoré častokrát nespĺňali ani základné životné štandardy. Obyvatelia vidieka sa väčšinou za účelom práce sťahovali do miest, čo túto krízu ešte prehĺbilo. Ďalším problémom bolo aj to, že Slovensko v rámci novej krajiny disponovalo nedostatkom kvalifikovaných pracovníkov, ktorí by mohli zastávať pracovné pozície na úradoch, či učiť na školách. V dôsledku toho k nám prichádzali úradníci a učitelia z českých krajín, ktorí však tiež mali problém s ubytovaním. Cieľom predkladaného príspevku je priblíženie výstavby Masarykovej kolónie bankových úradníkov v Košiciach na pozadí bytovej krízy a jej legislatívnych riešení v medzivojnovom Československu, so zreteľom na nižšie ale aj rozrastajúce sa stredné vrstvy obyvateľstva. Uvedenú problematiku prepojíme aj s rodiacim sa Masarykovým kultom osobnosti a jedným z čiastkových cieľov bude aj skúmanie jeho vplyvu na formovanie verejného priestoru a architektúry v medzivojnovom Československu. Konkrétne sa zameriame na mesto Košice, a to aj z toho dôvodu že je našim primárnym predmetom výskumu v dizertačnej práci na tému *Vplyv modernizácie na trávenie voľného času mestského obyvateľstva. Komparatívna štúdia*

*medzivojnových Košíc a Brna.* Keďže sa v súčasnosti nachádzame iba v počiatkovej fáze výskumu, pôjde skôr o teoretickú sondu do problematiky, z čoho vyplýva, že v príspevku budeme pracovať najmä so sekundárnymi prameňmi. Následne v závere príspevku ponúkneme aj návrhy ďalšieho výskumného potenciálu témy, ktoré by už zahŕňali aj prácu s primárnymi prameňmi.

## **Nový štát, nové mestá, nové byty – stručný náčrt legislatívnych rámcov týkajúcich sa riešenia bytovej otázky v medzivojnovom Československu**

Ako už bolo naznačené v úvode príspevku, situácia v Československu po prvej svetovej vojne so sebou priniesla množstvo problémov, na ktoré museli predstavitelia nového štátu promptne reagovať a riešiť ich. Jedným z takýchto problémov bola aj bytová kríza, ktorá sa týkala najmä nižších sociálnych vrstiev obyvateľstva, pričom zároveň išlo aj o najpočetnejšiu skupinu obyvateľstva. I keď je pravdou, že predstavitelia tejto vrstvy bývali v nevhodných podmienkach už pred rokom 1914, tento problém sa vystupňoval práve po roku 1918, keď niektoré skupiny obyvateľstva nielenže bývali v katastrofálnych podmienkach, ale niektorí z nich dokonca nemali žiadnu strechu nad hlavou. Medzi základné faktory, ktoré spôsobili výrazné zhoršenie tejto situácie patrilo v prvom rade prudký priemyselný rozvoj, ktorý zapríčinil masové sťahovanie obyvateľov vidieka do miest. Významným problémom bolo aj veľmi nízke finančné ohodnotenie pracujúcich ľudí, čo zapríčinilo, že ľudia si častokrát mohli dovoliť len veľmi skromné bývanie, ba dokonca žiadne. (Osýková, 2015) Ďalšou príčinou demografického nárastu obyvateľstva a nedostatku obytných priestorov bolo aj prisťahovalectvo českých občanov, pričom zväčša išlo o úradníkov, učiteľov a iných kvalifikovaných odborníkov rozrastajúcej sa strednej vrstvy, ktorých bolo na Slovensku po vzniku nového štátu nedostatok. Pre presnejšie vyjadrenie tohto nárastu sa možno oprieť aj o výsledky sčítania obyvateľov z roku 1921, pričom v kontexte nášho skúmania spomenieme údaje týkajúce sa priamo mesta Košice. Podľa dostupných údajov dosahoval v roku 1919 počet prítomného obyvateľstva v tomto meste číslo 46 826. Následne na to sa tento počet navýšil a údaje zo sčítania v roku 1921 dokazujú, že sa v Košiciach nachádzalo až 52 898 obyvateľov. Za obdobie troch rokov teda tento počet stúpol až o 6 072 obyvateľov. (Sáposová a Regináčová, 2014) Čo sa však týka vtedajšieho rozloženia sociálnych vrstiev v novej demokratickej spoločnosti, tak zárukou stability v krajine predstavovala stredná vrstva. V rámci nej bola veľmi vyhľadávaná práca v štátnej službe, ktorá bola zárukou viacerých výhod či neskoršej penzie. Najhoršie na tom boli robotníci, ktorí boli častokrát na pokraji chudoby a biedy a ich životná úroveň vo veľkej miere závisela od hospodárskeho stavu v krajine. Tiež nedisponovali sociálnymi istotami tak ako spomenuté stredné vrstvy, a preto žiadali právo na primerané bývanie či zabezpečenie v starobe, chorobe a v nezamestnanosti. (Falisová, 2012) Čo sa týka rozloženia obyvateľstva v samotných Košiciach, výsledky sčítania ľudu z roku 1921 ukázali, že najpočetnejšiu skupinu obyvateľstva tvorili obyvatelia, ktorí boli činní v priemysle a vo výrobných živnostiach. Druhá najpočetnejšia skupina zastrešovala obyvateľov pracujúcich v oblasti obchodu, obchodných živností a peňažníctva a v oblasti dopravy. Najmenej početnú skupinu tvorili roľníci. Za zmienku však stojí aj pracovná činnosť žien, ktorá bola v Košiciach oproti celému územia Slovenska vyššia až o približne 13%. (Hromuláková, 2021)

Realita spredmetnená v číslach vyzerala tak, že sčítanie obyvateľov z roku 1921 tiež ukázalo aj výrazné nedostatky v rozlohe, ale aj v samotnom vybavení bytov. V mestách, v ktorých bol počet obyvateľov nad 20 000, nemalo až 86% bytov potrebné príslušenstvo, pričom vo väčšine prípadov išlo len o jednoizbové byty alebo bytové jednotky, na ktoré sa najmä v robotníckych triedach delili väčšie byty. Na území Slovenska sa z 113 494 bytov nachádzala kúpeľňa len v 18 106 bytoch a väčšina z nich nedisponovala ani vodovodom či ústredným kúrením. Situácia sa nijako prevratne nezlepšila ani o pár rokov neskôr, keďže sčítanie obyvateľstva z roku 1930 ukázalo, že ešte stále nemalo až 75% bytov potrebné príslušenstvo. Častým riešením bolo tiež aj to, že nájomné domy mali často spoločné sociálne zariadenie spolu so spoločným vodovodom, ktorý bol umiestnený na chodbe, alebo vo dvore či na pavlačí. (Osýková, 2015) Čo sa týka financovania výstavby bytov, tak napríklad veľké závody si ich pomocou štátneho príspevku finančne zabezpečovali samostatne. Výstavba bytov sa v takom prípade delila na tri základné kategórie, pričom byty vyššej kategórie boli stavané pre vyšších úradníkov. Pre nižších úradníkov sa najčastejšie stavali dvojizbové byty, ktoré disponovali aj

príslušenstvom. Tretiu skupinu tvorili robotníci, v prípade ktorých išlo o skupinu s najnižším sociálnym statusom. Pre nich boli stavané byty s jednou izbou a kuchyňou, no častokrát až 60% z ich mzdy smerovalo na zaplatenie nájmu, v dôsledku čoho im už potom ostali nízke finančné prostriedky na stravu. (Osyková, 2015) Aj preto bol štát nútený prijať legislatívne opatrenia, ktoré by túto situáciu dokázali vyriešiť.

Ako prvý možno spomenúť zákon č. 211/1919 Zb. o stavebných úľavách, ktorý „povoľoval počas trvania vtedajšej bytovej núdze stavby obytných domov vykonávané obcami alebo všeobecne prospešnými stavebnými združeniami. Tieto zmeny platili aj pre stavby obytných domov, ktoré postavili iné fyzické alebo právnické osoby, ale len v takom prípade, že sa zaručili právoplatným reverzom, predloženým stavebnému úradu súčasne so žiadosťou o stavebné povolenie, a ministerstvo sociálnej starostlivosti si vyhradilo právo stanoviť nájomné v dotýčajúcich domoch. Obidva druhy obytných domov sa považovali v zmysle tohto zákona za všeobecne prospešné.“ (Osyková, 2015) Vo všeobecne prospešných obytných domoch zákon stanovoval povolenú výšku miestností, či počet povolených poschodí, ktorý sa okrem prízemia vyšplhal na číslo 5. Zároveň sa zákon vzťahoval na malé byty, do ktorých by mala byť zavedená voda, pričom v nich bolo povolené vybudovať aj toaletu spojenú s kúpeľňou, no bolo v nej potrebné zabezpečiť osvetlenie a vetranie. Vo všeobecnosti možno teda zhodnotiť, že štátnym úradom išlo o zabezpečenie hygienicky vhodných priestorov pre sociálne slabšie vrstvy obyvateľstva. Viditeľný tlak, ktorý bol na akútnu výstavbu a zabezpečenie bytov vyvíjaný, bol prítomný aj v lehote na podanie prípadných sťažností proti takýmto výstavbám, ktorá sa znížila len na 8 dní. (Osyková, 2015) Ak sa ešte pristavíme pri slabších vrstvách obyvateľstva, tak nemožno opomenúť veľmi dôležitý faktor, ktorý ešte vyostril nemožnosť dovoliť si slušné a primerané bývanie, a to nezamestnanosť. Vláda prijala zákon o podporách len veľmi krátko po vzniku Československej republiky, ktorý zabezpečoval občanom nárok na podporu v nezamestnanosti, pričom sa to vzťahovalo aj na občanov, ktorí podliehali nemocenskému či penzijnému poisteniu. Táto pomoc však bola nedostačujúca, pretože predstavovala čiastku od 0,6 do 5 korún na jedného člena rodiny na deň. „Vyššie podpory parlament zamietol s odôvodnením, aby nezávázali nezamestnaných k záhaľčivému spôsobu života.“ (Falisová, 2012)

V kontexte riešenia bytovej krízy bol ďalším kľúčovým zákonom zákon č. 100/1921 Zb. o stavebnom ruchu, ktorý prijalo Národné zhromaždenie. Tento zákon spočíval v tom, že „nezastavané i zastavané pozemky mohli byť v čase bytovej núdze vyvlastnené na stavbu obytných domov alebo na stavbu verejno-prospešných budov (predovšetkým na stavbu liečebných ústavov, na ich hospodárske budovy a záhrady) a na komunikácie k nim potrebné. Strany ukrátené na základe tohto zákona mali prednostné právo na byt v domoch postavených podľa tohto zákona, a to vybudovaných verejnými spoločnosťami alebo v starých budovách, uvoľnených vystáňovaním vojenských a občianskych úradov“. (Osyková, 2015) Na základe tohto zákona sa obytné stavby stavali primárne na štátnych pozemkoch, no v dôsledku tzv. vyvlastňovacieho konania sa mohlo stavať aj na súkromných pozemkoch. Vlastníci takýchto pozemkov však museli byť odškodnení, najčastejšie tým, že automaticky mohli bývať v jednom z novopostavených bytoch. „Ak sa v obci nachádzali už vhodné parcelované pozemky, vyvlastnili sa ako prvé v poradí. Na dom s jedným malým bytom išlo o plochu od 300 do 400 metrov štvorcových, na dom s dvomi bytmi do 500 metrov štvorcových. Zákonodarcovia mysleli aj na výnimky z vyvlastňovania, nesmeli sa vyvlastniť vyrastené sady a nehnuteľnosti, ktoré vlastník nevyhnutne potreboval na svoju obživu (hospodárstvo, dom alebo domácnosť)“. (Osyková, 2015) Uvedený zákon bol rozšírený v roku 1927, keď bol prijatý zákon č. 44/1927 Zb. o stavebnom ruchu. Tento zákon bol pomerne rozsiahly a skladal sa až z 80 hláv. Za zmienku stojí napríklad 30. hlava, podľa ktorej mohla byť štátom udelená podpora na stavbu obytných budov v tých obciach, ktoré disponujú nedostatkom malých bytov pre menej zámožné vrstvy obyvateľstva. Rozhodovanie o žiadosti na udelenie takejto podpory malo na starosti ministerstvo sociálnej starostlivosti v spolupráci s ministerstvom financií a s ministerstvom verejných prác. (Zákon č. 44/1927 Zb.) Od predošlého zákona sa odlišoval napr. tým, že „... umožňoval tiež podporu stavieb potrebných hospodárskych budov pre drobných poľnohospodárov, stavieb potrebných malých prevádzok drobných živnostníkov, stavieb potrebných menších prevádzok výrobného, konzumného alebo skladiskového družstva ...“. (Osyková, 2015)



Zákony o stavebnom ruchu boli rozšírené a prijaté ešte aj v roku 1930 a 1936 (Osýková, 2015), no ich bližšia analýza by si vyžadovala samostatný výskum, ktorý kapacitne nemožno v tomto príspevku obsiahnuť. Zo spomenutých náležitostí však vyplýva, že nižšie vrstvy obyvateľstva čelili po vzniku nového štátu ťažkým sociálnym podmienkam, ktoré sa najčastejšie odzrkadlili v zlej finančnej situácii, v nezamestnanosti a v bytovej kríze. Zároveň mali tieto skupiny problém s platením nájomov. V celoštátnom meradle Nasledujúca časť príspevku bude venovaná kultu „prezidenta osloboditeľa“ a jeho odkazu v československej architektúre a vo verejnom priestore.

## Masarykov kult osobnosti a jeho vplyv na československú architektúru a verejný priestor

V úvode tejto časti príspevku považujeme za potrebné vysvetliť, čo možno vo všeobecnosti chápať pod pojmom „kult osobnosti“ a prečo, resp. za akých okolností, sa tento kult na území Československa vôbec zrodil. V tomto prípade považujeme za vhodné začať citáciou zo štúdie na tému týkajúcu sa prítomnosti Masarykovho kultu na Slovensku, ktorej autorom je slovenský historik a etnológ, Jakub Štofanič. „*Pokiaľ by sme definovali kult ako uznanie výnimočnosti a prevahy nejakej osoby sprevádzané prejavovaním úcty a obdivu, pripomínaním výročia narodenia alebo smrti, či žiadosťami o príhovor a pomoc – osoba prvého československého prezidenta by tieto kritéria napĺňala do úplnosti.*“ (Štofanič, 2020) Aj ostatné nástupnícke štáty museli po rozpade Rakúsko-Uhorska čeliť novému režimu a prispôbiť sa novému lídrovi v ich štáte, ktorý už nebol monarchom. Keďže sa samotný kult osobnosti častokrát spája aj s posvätnými či náboženskými atribútmi, tak v prípade osoby T. G. Masaryka išlo skôr o kult občiansky. Bolo to tak aj z dôvodu snáh o vytvorenie akéhosi emocionálneho puta medzi obyvateľstvom Československa, ktoré bolo rôznorodé a to celé sa odohrávalo na pozadí novej politiky, nových inštitúcií ale aj nového prezidenta. (Štofanič, 2020) V prípade rodiaceho sa nového kultu osobnosti je badateľná akási kontinuita s predchádzajúcim režimom, pretože Masarykovi boli pripisované atribúty podobné tým, ktoré boli ešte donedávna pripisované monarchovi - „*otec národa a vlasti, zakladateľ a udržiavateľ štátu či záchranca a osloboditeľ*“. V prípade Masaryka však išlo o novú demokratickú hlavu štátu, a tak aj samotný kult sa stal „demokratickým“. (Karpáty, 2018) Napriek tomu však nasiakol výrazné podobnosti s predchádzajúcim kultom monarchu, pričom okrem vyššie spomenutých atribútov sa obaja vyznačovali asketickým spôsobom života, oddanosťou pre prácu, strohým štýlom obliekania a fyzickou zdatnosťou či jazdou na koni. Tiež možno spomenúť aj Masarykovu návštevu v Bratislave, kedy zazvonil zvon na radničnej veži, čo bolo dovtedy vykonávané len v prítomnosti uhorských kráľov. (Štofanič, 2020) Významným dňom v spojitosti s T. G. Masarykom bol aj 7. marec, kedy prezident oslavoval svoje narodeniny. Aj keď tento deň nebol štátnym sviatkom, išlo o pamätný deň, ktorý si pripomínala celá republika. Kľúčový bol najmä rok 1920, pretože vtedy prezident oslavoval svoje 70. narodeniny. Pri tejto príležitosti bolo vydaných aj množstvo príručiek zahrňujúcich rady a odporúčania, ako by sa mali oslavovať Masarykove narodeniny. Oslavy sa okrem verejných oficiálnych niesli aj v znamení školských slávností, čo potvrdzuje aj vydanie metodického brožúry Ministerstvom školstva a národnej osvety. Na školských slávnostiach sa tiež recitovali aj básne československých významných literátov, pričom v kontexte Slovenska možno jednoznačne spomenúť Pavla Országha Hviezdoslava a jeho básneň *Masarykovi ku dňu sedemdesiatych narodenín*, v ktorej Masaryka nazval „*titánom, osloboditeľom a milým, dobrým, zlatým tatíčkom.*“ (Hájková a Horák, 2018) Do osláv sa aktívnou tvorbou zapájali aj samotní žiaci, pričom možno spomenúť aj prianie prezidentovi k narodeninám od vtedajšej žiačky piatej triedy, Maškovej: „*Osvoboditeli náš! Jest den Vašich sedmdesátých narodenin a my děti rády bychom jej oslavili. Jsme však ještě malé, nemůžeme mnoho dělati, ale přislubujeme Vám, že naši radostí bude pracovati, učiti se a že se staneme zdárnými dětmi naší republiky československé. Tatíčku Masaryku! Všechny ze srdce přejeme Vám dlouhého žití a stálého zdraví, byste mohl i nadále starati se a pečovati o náš drahou, milovanou vlast.*“ (Hájková a Horák, 2018)

Ako však na to reagoval samotný prezident? Odpoveď na túto otázku nie je úplne jednoznačná, pretože na jednej strane sa Masarykovi prílišné oslavovanie jeho osoby zdalo neprimerané, no na strane druhej si veľmi dobre uvedomoval, že to prináša aj výhody vo vytváraní a udržiavaní

republikánskeho ducha v krajine. Osobný tajomník prezidenta, Antonín Schenk, povedal, že Masarykovi sa nepáči pomenovanie „tatíčok“ a tiež sa nestotožňuje s tým, že sú na jeho počesť stavané pomníky či pomenovávané ulice – „*odmítal zkrátka veškeré pochlebování, nepotřeboval je.*“ (Štofánik, 2020)

Masarykov odkaz v podobe pomníkov, búst, sôch či pamätných tabúl postupne začal zdobiť aj verejný priestor medzivojnového Československa, pričom jeho odkaz vo verejnom priestore možno rozdeliť do troch základných skupín. Prvú skupinu tvorili pomníky vojnových obetí z prvej svetovej vojny, ku ktorým bola pridaná busta, resp. reliéfná plastika, T. G. Masaryka. Mal to byť odkaz na to, že tieto obeť vybudovali slobodu pre vznik demokratického Československa na čele s prezidentom, ktorý tieto hodnoty spredmetňuje. (Štofánik, 2020) Druhá skupina pomníkov sa už priamo spája s Masarykovým kultom osobnosti a republikánskym odkazom v krajine. Ich autormi boli vtedajší poprední umelci a sochári, ako napríklad Vincenc Makovský, Otakar Španiel či Otto Gutfreund a iniciátorom výstavby týchto veľkých pomníkov bola najmä vtedajšia elita, vrátane legionárskych spolkov a sokolských jednôt. Tieto pomníky a ich okolie sa stali aj centrom rôznych verejných osláv a ich odhalenie po dostavaní zväčša pripadlo na výročie vzniku Československej republiky, alebo na 7. marec, keď prezident oslavoval narodeniny. (Štofánik, 2020) Tretou skupinou Masarykovho odkazu sú pamätné dosky, ktoré sa dávali na miesta priamo spojené s prezidentovými služobnými cestami alebo životom, či už to boli domy, v ktorých býval alebo školy, ktoré navštevoval. V uvedených odkazoch je však opäť prítomný nepomer medzi Českými krajinami a Slovenskom. Kým na českej strane sa jeho pomník či busta nachádzali skoro v každom okresnom meste, tak na Slovensku to bolo len v Nitre, v Prešove a v Košiciach. (Štofánik, 2020) V prípade skúmaného mesta Košice ale aj celej Abovsko-turnianskej župy, to súviselo hlavne s tým, že prevahu tu mala maďarská národnostná menšina, ktorá vo veľkej miere nesúhlasila so vznikom nového spoločného štátu Čechov a Slovákov, o čom svedčí aj to, že na rozdiel od iných regiónov vtedajšieho územia Slovenska sa tu „*nestretávame so žiadnym občianskym aktivizmom, žiadajúcim rozluku s Uhorskom a podporujúcim vznik Československa.*“ (Ficeri, 2020) Ako sme už tiež uviedli, do Košíc sa sťahovalo množstvo obyvateľov českých krajín, ktorí mali zastávať prevažne úradnícke a iné štátne pozície. Títo prisťahovalci mali častokrát problém zohnať si prenájom, pretože majitelia nehnuteľností v Košiciach, prevažne maďarského a židovského pôvodu, ich odmietli ubytovať už len preto, pretože boli štátnymi zamestnancami. Iný postoj nemali ani miestni Slováci, väčšinou podporovatelia Andreja Hlinku, ktorí dokonca vo verejných vystúpeniach sympatizovali s Maďarskom a dokonca spievali aj maďarskú hymnu, pričom sa tiež sťažovali aj na arogantné správanie českých úradníkov a vojakov. (Ficeri, 2020) Tento konflikt sa následne pretavil aj do formovania verejného priestoru Košíc. Ako príklad možno uviesť sporné názory týkajúce sa odhalenia sochy M. R. Štefánika v roku 1929, ktorý v sledovanom období spredmetňoval jeden z hlavných objektov československej kultúry. Na to reagovala ľudácka tlač, ktorá hlásala, že „*Štefánik bol v prvom rade Slovák, až potom predstaviteľ Československa.*“ (Ficeri, 2020)

Napriek tomu však v celoštátnom meradle prezident, ako kľúčový predstaviteľ nového demokratického Československa, pre väčšinu Slovákov predstavoval osobnosť zhmotňujúcu oslobodenie a ochranu slovenských práv. „*Oslavy jeho osobnosti i jeho cesty po republike presvedčovali občanov o význame jednotného štátu, demokratického zriadenia a spolunažívania rôznych národnostných skupín v jednej republike.*“ (Štofánik, 2020)

Za vyššie uvedeným prerozdelením Masarykovho odkazu vo verejnom priestore primárne stojí projekt s názvom *Po stopách TGM*, ktorý bol realizovaný pod záštitou spolupráce viacerých inštitúcií, no hlavnými aktérmi bol Masarykov ústav a Archív akadémie vied Českej republiky. Spoluriešiteľom tohto projektu bol aj už spomenutý autor, Jakub Štofánik, ktorý tieto poznatky preniesol aj do štúdie o Masarykovom kulte na Slovensku, z ktorej sme v tejto časti príspevku čerpali. Výsledkom tohto projektu je online interaktívny portál, ktorý okrem e-publikácií ponúka najmä interaktívnu mapu Európy so zreteľom na Českú a Slovenskú republiku, na ktorej sú vyznačené mestá, ktoré Masaryk navštívil a kde sa nachádza jeho odkaz v podobe sôch, búst, pamätných tabúl či iných monumentov a stavieb. Po zakliknutí na ľubovoľné miesto sa návštevník portálu dozvie detailnejšie informácie. (Po stopách TGM) Súčasťou portálu je aj spracovanie mesta Košice, ktoré prezident počas svojho

života navštívil len raz, a to v septembri v roku 1921. Na stanici ho privítal vtedajší župan, Ján Rumann. Neskôr nasledoval prezidentov príhovor, v ktorom upozornil na výzvy v oblasti hospodárstva a školstva, ktorým musel čeliť celý východoslovenský región. Spomienka tejto návštevy bola neskôr spredmetnená aj do architektonického počínu. Jeho busta bola umiestnená medzi Letnou, Jarnou a Jesennou ulicou, pričom práve tu bola v rokoch 1930 až 1931 vystavaná Masarykova kolónia bankových úradníkov v Košiciach (Príloha č. 1). Busta bola pod vplyvom politických udalostí z tohto miesta odstránená v roku 1938. (Po stopách TGM) Možno teda konštatovať, že Masarykov odkaz a celospoločenský zreteľ na jeho osobnosť sa do verejného priestoru pretavil nielen jeho podobizňou, ale aj názvami, ktorými boli pomenované ulice a rôzne iné stavby. Jednou z takýchto stavieb bola aj Masarykova kolónia bankových úradníkov v Košiciach, ktorej sa bližšie venujeme v nasledujúcej časti príspevku.

## **Masarykova kolónia bankových úradníkov v Košiciach – projekt architekta Josefa Poláška**

Mesto Košice prešlo počas obdobia trvania prvej Československej republiky v oblasti architektúry a urbanizmu výrazným transformačným procesom, čo okrem iného súviselo najmä s už spomenutým problémom, ktorým bola bytová kríza. Keďže Košice boli v tomto období veľmi významnou vojensko-administratívnou metropolou, sídlili tu okrem mestských úradov aj úrady štátnej správy a mestskej samosprávy. Ako sme už načrtli v prvej časti príspevku, táto situácia si vyžadovala navýšenie počtu administratívnych pracovníkov, úradníkov, štátnych zamestnancov a iných príslušníkov rozrastajúcej sa strednej vrstvy, ktorí do miest prichádzali s celou svojou rodinou. V samotných Košiciach bolo do roku 1928 odovzdaných až 1 400 nájomných a služobných bytov, no výstavba bytových komplexov a radových domových zástavieb trvala až do roku 1938. V kontexte mesta Košice patrili medzi najznámejšie projekty napríklad štátne bytové domy pre vojenských gážistov, Poštová kolónia, Masarykova kolónia peňažných, resp. bankových, úradníkov, no tiež možno spomenúť aj bytové domy „Poštovej rodiny“ v Košiciach. (Karpáty, 2018) Za zmienku stojí aj bytový komplex Malá Praha, ktorý bol primárne určený železničným zamestnancom a vyznačoval sa prvkami rondokubizmu. (Priatková, Sekan a Tamáška, 2020) Každý z týchto projektov disponoval vlastnými charakteristickými vlastnosťami a prvkami rodiaceho sa moderného spôsobu života, pričom v tejto časti príspevku bližšie predstavíme jeden z nich, a to Masarykovu kolóniu bankových úradníkov.

Na konci 20. rokov sa v Československu, vrátane Košíc, začal šíriť nový architektonický smer – funkcionalizmus. Podmienili to najmä zahraničné vplyvy, ako napríklad cyklus medzinárodných prednášok „Nová architektúra“, ktoré sa v rokoch 1924 a 1925 uskutočnili v Brne a v Prahe. Významnou udalosťou bol aj Medzinárodný kongres modernej architektúry, ktorý sa konal na švajčiarskom zámku La Sarraz. V rámci tohto kongresu boli prediskutované nové riešenia modernej architektúry, akútny nedostatok bytov ale aj vynájdenie nových moderných materiálov a technológií, ktoré prispeli k štrukturálnym riešeniam architektonických nedostatkov. Funkcionalizmus v praxi predstavoval návrh budov a domov v tzv. tvare kocky, ktoré nemali žiadne dekorácie a predstavovali jednoduchosť, ktorá by mala plniť každodenné požiadavky ich obyvateľov. V Košiciach tento smer vyvrcholil až v 30. rokoch 20. storočia, pričom tu možno vyzdvihnúť „majstrovské dielo“, Masarykovu kolóniu obytných domov pre bankových úradníkov, ktorého autorom bol Josef Polášek – jeden z kľúčových predstaviteľov funkcionalizmu v Brne. (Erney a Priatková, 2013)

Architekt Jozef Polášek, rodák z Brna a absolvent Umeleckopriemyselnej školy v Prahe, pochádzal zo skromných pomerov čo sa odzrkadlilo aj na jeho návrhoch. Typologický druh stavieb so sociálnym poslaním v podobe školských budov a mestských obytných súborov založených na princípoch kolektívneho bývania boli v tom čase veľmi populárnymi architektonickými počínmi, a to nielen v Československu, ale aj v iných krajinách Európy. V roku 1930 k tomu v Československu dopomohla aj novela zákona, ktorá mala podporovať výstavbu domov s lacnými bytmi. (Priatková, 2009) Za relevantné považujeme spomenúť napríklad zákon č. 45/1930 Zb. z. a n. o štátnom stavebnom príspevku a štátnej záruke, ktorý okrem zvýšenia dostupnosti bytov pre nemajetné vrstvy

obyvateľstva zabezpečoval aj rôzne daňové úľavy. Ako príklad možno uviesť oslobodenie od platenia domovej dane na 15 až 20 rokov či oslobodenie od dlžobných úpisov a iné. (Miháliková, 2019) Znenie tohto zákona bolo neskôr v praxi spredmetnené aj v prípade výstavby Masarykovej kolónie, o čom svedčí aj dobový článok z roku 1930, uverejnený v *Slovenskom východe*: „Kolónii bola ministerstvom sociálnej pečlivosti v dohode s ministerstvom verejných prác a financií, priznaná povaha jedného obytného domu a v dôsledku toho 25 ročné daňové oslobodenie.“ (Slovenský východ, 7. 12. 1930)

V prípade Poláškovskej architektúry je tiež prítomná aj spojitosť Brna a Košíc v podobe prenikania architektonických prvkov, keďže v nich prebiehali na začiatku 30. rokoch výstavby paralelne – v Brne to bolo sídlisko vo funkcionalistickom štýle pri Vranovskej a Skácelovej ulici a v Košiciach už spomenutá kolónia obytných domov pre bankových úradníkov, ktorej výstavba trvala v rokoch 1930 až 1931. (Priatková, 2009) Polášek bol v tom čase vo veľkej miere ľavicovo a pro-sociálne orientovaný a pri svojich návrhoch sa inšpiroval riešením bytovej otázky v Holandsku, v Nemecku a v ZSSR, kde sa budovali celé obytné komplexy a štvrte. Týmito názormi v roku 1932 prispel aj do časopisu *Stavitel*, pričom dodal, že bytová situácia si vyžaduje početné reformy a výstavba rodinných domov by to nevyriešila. Pôdorys tohto bloku v Košiciach (Príloha č. 2) dokazuje, že komplex kolónie sa skladal z ôsmich domov, ktoré mali samostatné vchody a byty, a dokopy v ňom bývalo 48 rodín úradníkov. (Bednářová, 2005) Pri výstavbe tohto obytného bloku sa bralo do úvahy, že v nej bude bývať rovnorodá sociálna skupina, ktorú okrem iného spájalo aj rovnaké zamestnanie. V okolí kolónie sa nachádzal veľký dvor s ihriskom a bazénom, ktorý mohli využívať spoločne všetci obyvatelia kolónie. Všetky byty mali rovnaké príslušenstvo, vrátane rovnakých typov dvier a okien. (Foltyn, 1993) V prípade okien išlo o sériovú výrobu zo Spojených umeleckopriemyslových závodov v Brne, pretože o Poláškovovi bolo známe, že továrenskú sériovú výrobu považoval za veľmi dôležitú. Celá stavba bola detailne navrhnutá a Polášek myslel nielen na praktické záležitosti slúžiace na bežné užívanie, ale aj na voľnočasové aktivity: „Ke každému bytu je pridelen sklep i samostatná púda v nástavku. Jsou tu dva obchody zásobující kolonii čerstvými potravinami z nedalekého velkostatku, praní obstarávají dvě centrální prádelny se sušárnou a žehlírnou obsluhované personálem a plochých střech je využíváno k odpočinku a slunění - jsou vybaveny sprchami a osázeny květinami. ...U topiče soustřeďuje se také telefon pro městské rozhovory...“ (Bednářová, 2005) Masarykova kolónia tiež disponovala ústredným kúrením a splnené boli aj hygienické štandardy v podobe teplej a studenej vody či splachovacieho WC s hygienickým filtrom. Čo sa týka základného stavebného materiálu, tak základná nosná konštrukcia sa skladá z murovaného dvojtraktu a stropnú konštrukciu tvorí železobetón. (Priatková, 2009) Už spomenutý pôdorys dokazuje, že išlo o veľmi praktickú stavbu v tvare písmena U a zdanlivo jednoduchá architektúra bola doplnená o zútulňujúce prvky, ako napríklad vysadenie zelene na strešných terasách. Táto stavba bola v tom čase natoľko žiadanou a úspešnou, že ďalších 60 úradníckych rodín malo záujem o podobnú výstavbu. (Register modernej architektúry oA HÚ SAV) Ako už bolo spomenuté, Masarykovej kolónii bol v decembri 1930 v periodiku *Slovenský východ* venovaný aj článok, ktorý okrem finančnej stránky projektu obsahoval aj informácie o pokračovaní stavby a o predpokladanom dátume jej dokončenia, spolu s informáciami pre potenciálnych záujemcov o bývanie v tejto kolónii: „Stavba obytného domu Masarykovej kolónie peňažných úradníkov na Letnej ulici v Košiciach, dosiahla v týchto dňoch dohotovenia strechy a je dôkazom technickej vyspelosti podnikateľskej firmy Ing. Alojza Nováka z Košíc. S výstavbou sa začalo 10. septembra tohto roku a denne si tu našlo zamestnanie až 220 robotníkov. ... Pred Vianocami budú práce na kolónii zastavené a začiatkom januára sa začne s inštaláciou kanalizácie, vodovodu, plynovodu a ústredného kúrenia. Podľa predbežných predpokladov je dohotovenie kolónie možné v stanovenej lehote do 1. augusta 1931. Veľká stavba najväčšieho košického obytného domu je pozorne sledovaná obecnstvom a bude iste ozdobou mesta, hlavne keď mesto upraví pred dohotovením kolónie Letnú a Jesennú ulicu, ktoré boli povozmi tak rozjazdené, že dnes sú morom blata a za sucha budú morom prachu. Bude preto nutné, aby sa obyvatelia železničnej kolónie spoločne s vedením kolónie obrátili na mestskú radu, aby úpravu týchto ulíc dala na jarný program. V kolónii následkom preloženia účastníkov sa uprázdnilo 2 byty, jeden dvojizbový na prízemí a jeden

*trojizbový na II. poschodí. Prihlášky písomne prijíma správa družstva.*“ (Slovenský východ, 7.12.1930)

Z uvedených náležitostí vyplýva, že Masarykova kolónia bankových úradníkov v Košiciach bola v sledovanom období modernou a progresívnou stavbou, ktorá sledovala zahraničné trendy a jej architekt sa snažil logickým a úsporným spôsobom vyriešiť vtedajšiu bytovú krízu. Ide o stavbu, ktorej moderné a nadčasové prvky bývania sú v architektúre prítomné aj do dnešných čias.

V súčasnosti je táto stavba (Príloha č. 3) národnou kultúrnou pamiatkou a tiež sa nachádza aj na zozname medzinárodnej organizácie na ochranu modernej architektúry DOCOMOMO. (Priatková, 2009)

## Záver

Prvá Československá republika musela hneď po svojom vzniku zápasit' s množstvom problémov, medzi ktoré patrila aj hospodárska nerovnováha medzi Českými krajinami a Slovenskom. Zároveň tu bolo prítomné aj výrazné zaostávanie vidieka za mestom, čo si vyžiadalo sťahovanie obyvateľstva do miest. Do miest však prichádzali aj úradníci, učitelia či iní predstavitelia štátnej sféry z Českých krajín, ktorých bol na Slovensku nedostatok. Situácia v medzivojnovom Československu však bola naozaj kritická a vyžadovala si legislatívne opatrenia, ktoré by krízu riešili. Tie umožnili, že sa postupne začali stavať obytné priestory, a to nielen na štátnych pozemkoch, ale na základe tzv. vyvlastňovacieho práva aj na súkromných. Tiež to však neriešilo danú situáciu úplne, pretože krajina sa musela vyrovnávať aj s ďalším problémom, ktorým bola nezamestnanosť ale aj hospodárska kríza, a tak niektorí ľudia neboli schopní platiť nájmy.

V druhej časti príspevku sme sa zamerali na Masarykov kult osobnosti, ktorý v spoločnosti vyvolával pocit istoty, slobody a demokracie, spolu s nádejou na lepšie časy. To sa následne pretavilo aj do verejného priestoru Československa, keď na rôznych miestach postupne začali stáť Masarykove busty a pamätné tabule. Po prezidentovi boli pomenované aj ulice, ale aj rôzne stavby ako napríklad Masarykova kolónia bankových úradníkov v Košiciach, ktorej sme sa bližšie venovali v záverečnej časti príspevku. V prípade tejto kolónie išlo o funkcionalistický projekt Josefa Poláška, primárne určený pre stredné úradnícke triedy obyvateľstva, ktorý mal bytovú krízu vyriešiť tak, že v jednom obytnom bloku v úspornom tvare písmena U mali bývať rodiny rovnakého povolania a sociálnej vrstvy.

Spracovaná téma ponúka široký potenciál možností ďalšieho skúmania. Aj keď pri písaní tohto príspevku mala prevahu deskriptívna metóda, tak zaujímavým by bolo aj využitie komparatívnej metódy, prostredníctvom ktorej by sa dala porovnať legislatívna a bytová situácia v českých krajinách a na Slovensku, a to na konkrétnom príklade, ktorým by bolo stavenie obytných domov v medzivojnovom Brne a v Košiciach. Považujeme to za relevantné aj z toho hľadiska, že aj výstavba obytných domov, ktoré navrhol Josef Polášek, prebiehali simultánne v oboch spomenutých mestách. Zaujímavou a relevantnou by bola jednoznačne aj práca s dobovou tlačou, či už na celoštátnej alebo regionálnej úrovni, pomocou ktorej by sa dala skúmať verejná mienka a celková reakcia na riešenie bytovej otázky či výstavby nových obytných priestorov a iných budov. Zaujímavou by bola aj sonda do života skutočných osôb, ktoré na základe vyvlastňovacieho práva museli odovzdať svoj pozemok na výstavbu obytných domov či života bankových úradníkov, ktorí zdieľali spoločný život v Masarykovej kolónii. Na záver teda môžeme konštatovať, že ide o tému, ktorá ponúka široký diapazón možností ďalšieho výskumu a interdisciplinárnych presahov, a to najmä v spolupráci so sociológiou.

## Literatúra

### Knižné publikácie

ERNEY, Gyula a PRIATKOVÁ, Adriana, 2013. Architektúra. In: LEŠKOVÁ, Lena, NĚMCOVÁ, Helena a KISS-SZEMÁN, Zsófia (eds.). Košická moderna. Umenie Košíc v dvadsiatych rokoch 20. storočia. Košice: Východoslovenská galéria košice, 413 s. ISBN 978-80-85745-65-8.

FALISOVÁ, Anna, 2012. Sféra sociálnej starostlivosti. In: FERENČUHOVÁ, Bohumila, ZEMKO, Milan a kol. V medzivojnovom Československu 1918 – 1939. Bratislava: VEDA : Historický ústav SAV, s. 114-125. ISBN 978-80-224-1199-8.

FOLTYN, Ladislav, 1993. Slovenská architektúra a česká avantgarda 1918 – 1939. Bratislava: Spolok architektov Slovenska, 238 s. ISBN 80-900483-6-6.

HÁJKOVÁ, Dagmar a HORÁK, Pavel, 2018. Narodeniny prezidenta republiky. In: HÁJKOVÁ, Dagmar, HORÁK, Pavel, KESSLER, Vojtěch a MICHELA, Miroslav (eds.). Sláva republice! Oficiální svátky a oslavy v meziválečném Československu. Praha: Academia a Masarykův ústav, s. 137-182. ISBN 978-80-200-2870-9.

KARPÁTÝ, Vojtech, 2018. Architektonický rozvoj. In: JARINKOVIČ, Martin, KÁRPÁTÝ, Vojtech a DULOVIČ, Erik, 2018. Košice 1918 – 1938. Zrod metropoly východného Slovenska. Košice: Ministerstvo vnútra SR - Štátny archív v Košiciach v spolupráci s Východoslovenským múzeom v Košiciach, s. 118-127. ISBN 978-80-973178-0-5.

KARPÁTÝ, Vojtech, 2018. Kult prezidenta osloboditeľa. In: JARINKOVIČ, Martin, KÁRPÁTÝ, Vojtech a DULOVIČ, Erik, 2018. Košice 1918 – 1938. Zrod metropoly východného Slovenska. Košice: Ministerstvo vnútra SR - Štátny archív v Košiciach v spolupráci s Východoslovenským múzeom v Košiciach, s. 158-165. ISBN 978-80-973178-0-5.

SÁPOSOVÁ, Zlatica a REGINÁČOVÁ, Nikola, 2014. Historicko-demografický vývoj populácie Košíc v 19. a 20. storočí. In: ŠUTAJ, Štefan a DZURIKANINOVÁ, Nikola (eds.). Štruktúry a fragmenty historického vývoja Košíc. Košice: UPJŠ v Košiciach, s. 75-103. ISBN 978-80-8152-205-5.

### Štúdie

FICERI, Ondrej, 2020. Českoslovakizmus v mentalitách obyvateľov Košíc a jeho implementácia vo verejnom priestore mesta v medzivojnovom období. In: HOLEC, Roman a GONĚC, Vladimír (eds.). Česko-slovenská historická ročenka 2019 – 2020. Bratislava: VEDA, s. 151-168. ISBN 978-80-224-1878-2.

### Články v časopisoch

Dôkaz technickej vyspelosti v Košiciach. In: Slovenský východ, 7.12.1930. Dostupné online: <<https://kosice.korzar.sme.sk/c/20404980/novinove-criepky-z-medzivojnovych-kosic.html>>.

OSYKOVÁ, Linda, 2015. Legislatívne riešenia bytovej krízy počas 1. ČSR a realizácia zákonov v praxi na príklade Bratislavy. In: Forum Historiae. Časopis a portál pre históriu a príbuzné spoločenské vedy. Vol. 9, no. 2, s. 152-165. ISSN 1337-6861. Dostupné online: <<https://www.ceeol.com/search/viewpdf?id=560021>>.

PRIATKOVÁ, Adriana, 2009. Masarykova kolónia obytných domov pre bankových úradníkov v Košiciach. In: ASB [online]. No. 6, s. 74-75 [cit. 2024-04-03]. Dostupné online: <<https://www.asb.sk/architektura/masarykova-kolonia-obytnych-domov-prebankovych-uradnikov-vkosiciach>>.

PRIATKOVÁ, Adriana, SEKAN, Ján a TAMÁSKA, Máté, 2020. Mestské plánovanie v Košiciach a vývoj mestskej triedy 20. storočia. In: Architektúra & urbanizmus. Časopis pre teóriu architektúry a urbanizmu. Vol. LIV, no. 1 – 2, s. 71-87. Dostupné online: <[https://www.architektura-urbanizmus.sk/wp-content/uploads/A\\_U\\_1-2\\_2020\\_Priatkova\\_Sekan\\_Tamaska.pdf](https://www.architektura-urbanizmus.sk/wp-content/uploads/A_U_1-2_2020_Priatkova_Sekan_Tamaska.pdf)>.

ŠTOFANÍK, Jakub, 2020. Masarykov kult na Slovensku? Vznik Československa a formovanie republikánskeho naratívu vo verejnom priestore. In: Kultúrne dejiny. Vol. 10, no. 1, s. 280-293. ISSN 2989-3313. Dostupné online: <<https://www.ceeol.com/search/article-detail?id=916693>>.

## Záverečné práce

BEDNÁŘOVÁ, Anna, 2005. Malobytové kolonie a Domy pro chudé města Brna architekta Josefa Poláška. Brno: Filosofická fakulta Masarykovy univerzity v Brně, 58 s. [Diplomová práca]. Dostupné online: <<https://is.muni.cz/th/itnfs/text.pdf>>.

HROMULÁKOVÁ, Katarína, 2021. Analýza hospodárskej aktivity obyvateľstva Košíc v sčítaniach 1921 – 1950. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, 203 s. [Dizertačná práca]. Dostupné online: <<https://opac.crzp.sk/?fn=detailBiblioFormChildI353DM&sid=38F43C5054BC4F7F2EB9C1F31F28&seo=CRZP-detail-kniha>>.

MIHÁLIKOVÁ, Soňa, 2019. Bytová kríza na príklade medzivojnových Košíc. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, 78 s. [Diplomová práca]. Dostupné online: <<https://opac.crzp.sk/?fn=detailBiblioFormChildEPTQ2&sid=AE9ECE62FB99CFC2C6DCE09C925D&seo=CRZP-detail-kniha>>.

## Internetové zdroje

Masarykova kolónia bankových úradníkov. In: Register modernej architektúry oA HÚ SAV [online].[cit. 2024-04-03]. Dostupné online: <<https://www.register-architektury.sk/objekt/52-masarykova-kolonia-bankovych-uradnikov>>.

Po stopách TGM. [online].[cit. 2024-04-02]. Dostupné online: <<http://tg-masaryk.cz/kontakt/>>.

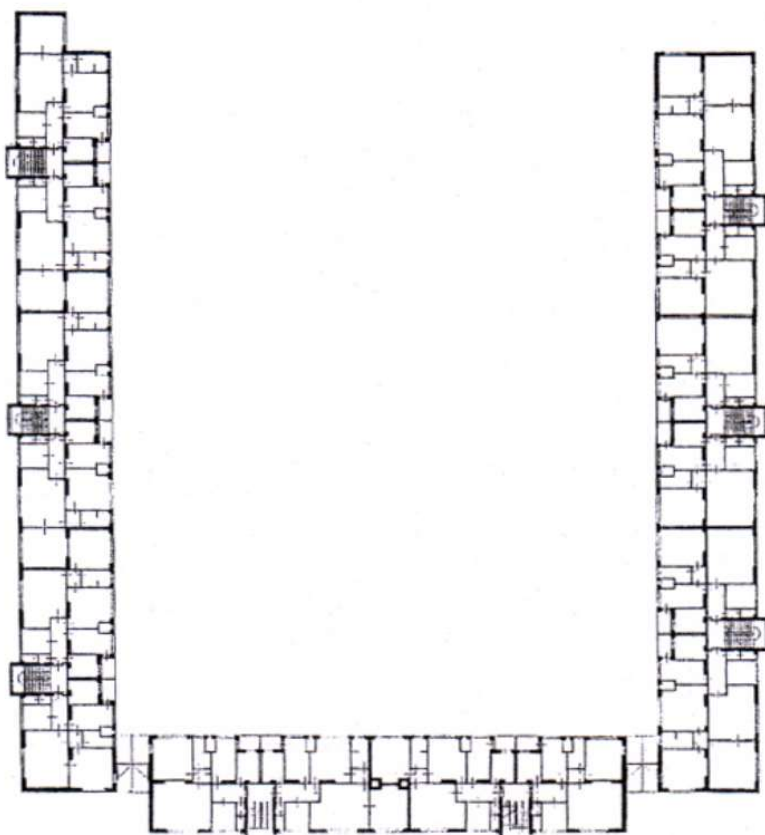
## Zákony

Zákon č. 44/1927 Zb. o stavebnom ruchu. Dostupné online: <<https://www.epravo.cz/vyhledavani-asp/?Id=4377&Section=1&IdPara=1&ParaC=2>>.

## Prílohy



**Príloha č. 1:** Masarykova kolónia bankových úradníkov v Košiciach (dobový záber). Zdroj: <https://www.register-architektury.sk/objekt/52-masarykova-kolonia-bankovych-uradnikov>



**Príloha č. 2:** Pôdorys Masarykovej kolónie bankových úradníkov v Košiciach z návrhu. Zdroj: [https://sk.wikipedia.org/wiki/Masarykova\\_kol%C3%B3nia\\_bankov%C3%BDch\\_%C3%BAradn%C3%ADkov](https://sk.wikipedia.org/wiki/Masarykova_kol%C3%B3nia_bankov%C3%BDch_%C3%BAradn%C3%ADkov)





**Príloha č. 3:** Súčasná fotografia Masarykovej kolónie bankových úradníkov v Košiciach. Zdroj: [https://sk.wikipedia.org/wiki/Masarykova\\_kol%C3%B3nia\\_bankov%C3%BDch\\_%C3%BAradn%C3%ADkov](https://sk.wikipedia.org/wiki/Masarykova_kol%C3%B3nia_bankov%C3%BDch_%C3%BAradn%C3%ADkov)

# POROVNANIE STRATÉGIÍ KONCEPTU INTELIGENTNÝCH MIEST V PODMIENKACH SLOVENSKEJ REPUBLIKY

## *Comparison of strategies of the smart city concept in the Slovak Republic*

Michaela Lukačínová

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Fakulta verejnej správy*

**Abstrakt:** Príspevok je venovaný integrácii riešení spadajúcich pod koncept inteligentných miest v rámci strategických a rozvojových plánov vybraných miest v Slovenskej republike. Pozornosť je zameraná na ich obsah a nato, či a ako slovenské mestá plánujú implementovať komponenty konceptu inteligentných miest do svojich rozvojových a strategických plánov. Prostredníctvom dôkladného preskúmania oficiálnych dokumentov je cieľom príspevku vyhodnotiť, či sú inteligentné princípy súčasťou budúcich plánov vybraných miest a analyzovať, na ktoré z jednotlivých komponentov tieto mestá zameriavajú svoju pozornosť. Na základe identifikácie spomínaných dimenzií je následne zámerom výskumu objasniť, či je súčasťou prístupov slovenských miest využívanie inteligentných riešení na rozvoj mestských oblastí do budúcnosti.

**Kľúčové slová:** *Inteligentné mestá, mestský rozvoj, Slovenská republika, strategické plány, digitalizácia.*

**Abstract:** The contribution is dedicated to the integration of solutions encompassed by the concept of smart cities within the framework of strategic and development plans of selected cities in the Slovak Republic. Attention is focused on their content and on whether and how Slovak cities plan to implement components of the smart city concept into their development and strategic plans. Through a thorough examination of official documents, the aim of the contribution is to evaluate whether smart principles are part of the future plans of selected cities and to analyse which specific components these cities are focusing their attention on. Based on the identification of the mentioned dimensions, the subsequent aim of the research is to clarify whether the use of intelligent solutions for the development urban areas in the future is part of the approaches of Slovak cities.

**Keywords:** *Smart cities, urban development, Slovak Republic, strategic plans, digitalization.*

## Komponenty konceptu inteligentných miest

Koncept inteligentných miest získal významnú pozornosť ako zo strany vedcov, tak aj zo strany manažmentu miest po celom svete. Implementácia týchto inovatívnych riešení vznikla aj ako odozva na trend spojený s rýchlou urbanizáciou, v ktorom Svetová banka do roku 2050 predpokladá nárast mestskej populácie o dvojnásobok oproti súčasnému stavu, ktorý predstavuje viac ako štyri miliardy ľudí žijúcich v mestách. Potreba efektívneho manažmentu miest a voľba adekvátnych stratégií pri procese dosahovania udržateľného rastu je potvrdená aj na základe celosvetového HDP, ktorého významnú časť vo výške 80 % vytvárajú práve mestá (The World Bank 2023).

V súčasnosti majú mestá k dispozícii mnoho inovatívnych nástrojov, ktoré ponúka aktuálny trend v oblasti mestského rozvoja, v podobe konceptu inteligentných miest. Giffinger a jeho kolegovia inteligentné mesto definuje ako priestor, v ktorom súčasne dochádza k efektívnemu fungovaniu v oblasti ekonomiky, mobility, životného prostredia a v oblasti spolupráce s ľuďmi a ich kvality života za prítomnosti využívania inteligentných riešení. Spomínanú rovnováhu možno vysvetliť aj prostredníctvom základných komponentov alebo dimenzií, ktoré spadajú pod koncept inteligentných miest (Fernandez-Anez, Fernández-Güell, Giffinger 2018).

Washburn a Sindha tvrdia, že pod koncept inteligentných miest spadá predovšetkým využívanie inteligentných a moderných technológií s cieľom zefektívniť funkčnosť a vzájomné prepojenie viacerých kritických komponentov mestskej infraštruktúry a služieb. Takéto komponenty zahŕňajú viaceré oblasti ako vzdelávanie, mestský manažment, zdravotníctvo, dopravu, budovy, bezpečnosť, či verejné služby. Implementáciou inteligentných riešení tak vzniká mestám možnosť zmodernizovať svoju infraštruktúru v podobe dynamických systémov, ktoré budú efektívnejšie, inteligentnejšie a

vzájomne prepojené. Integrácia tohto holistického prístupu v rámci miest cieľi na optimalizáciu alokácie dostupných zdrojov, zlepšenie dodávky služieb a zjednodušenie procesov, čo v má konečnom dôsledku potenciál zlepšiť kvalitu života mestských obyvateľov (Washburn, Sindhu 2010).

Giffinger a jeho kolegovia taktiež definujú komponenty inteligentných miest, ktoré následne klasifikujú na inteligentnú ekonomiku, inteligentnú vládu, inteligentné životné prostredie, inteligentnú mobilitu, inteligentných ľudí a inteligentné bývanie (OTB 2018). Dimenzia inteligentnej ekonomiky spočíva vo využívaní inovatívnych prístupov v oblasti podpory podnikania, produktivity, flexibility trhu práce, schopnosti adaptácie a transformácie, medzinárodnej kooperácie a ekonomického imidžu. Komponent inteligentnej vlády je tvorený najmä posilnením participácie v rozhodovacích procesoch, podporovaním transparentnosti a otvorenosti, poskytovaním kvalitných vládnych a sociálnych služieb a vytváraním efektívnych strategických plánov v oblasti politiky. Inteligentné životné prostredie zameriava svoju pozornosť na zvýšenie atraktivity prírody a jej ochrany, zníženie znečistenia a emisií, či praktizovanie trvalo udržateľného riadenia dostupných zdrojov. Dimenzia inteligentnej mobility pozostáva z budovania infraštruktúry založenej na využívaní informačných a komunikačných technológií alebo vytvárania inovatívnych a udržateľných dopravných systémov, ktoré zároveň spĺňajú požiadavku bezpečnosti pre mestských obyvateľov. Inteligentné bývanie je následne komponentom, ktorý je zložený z vysokej kvality v oblasti bývania, zdravia, kultúry, vzdelávania, sociálnej súdržnosti a z turistickej atraktivity. Posledná dimenzia, inteligentní ľudia, pozostáva z úrovne kvalifikácie, podpory kreativity a celoživotného vzdelávania, flexibility a otvorenosti obyvateľstva, či ich aktívnej účasti na verejnom živote (Ručinská 2015).

## **Integrácia riešení konceptu inteligentných miest v podmienkach Slovenskej republiky**

V súčasnosti slovenské mestá čelia rôznorodým výzvam urbanizácie a preto získal koncept inteligentných miest značnú pozornosť aj v rámci Slovenskej republiky. S cieľom budovať kvalitné, udržateľné a odolné mestské prostredie, ktoré podporuje ekonomický rast a zároveň zvyšuje kvalitu života jeho obyvateľov, mestá aktuálne implementujú a zároveň plánujú integráciu inteligentných riešení aj v rámci ich strategických plánov do budúcnosti (Ručinská, Fečko 2018). Kapitola preto skúma obsah jednotlivých strategických a rozvojových plánov vybraných miest v Slovenskej republike s cieľom zistiť, či vybrané slovenské mestá plánujú implementovať komponenty konceptu inteligentných miest do svojich budúcich plánov, a na aké komponenty je zameraná ich pozornosť.

Metodológia, ktorá bola v rámci príspevku použitá, pozostáva z analýzy oficiálnych dokumentov strategických plánov vybraných slovenských miest. Územie Slovenskej republiky je podľa NUTS 2 klasifikované do štyroch regiónov. Výberové kritériá sa zameriavajú na najväčšie mesto v každom regióne, primárne určené počtom obyvateľov. Tento prístup umožňuje prezentovať rôznorodé odlišnosti, ktoré odrážajú jedinečné vlastnosti a výzvy urbanizácie v rámci každého regiónu krajiny. Ide konkrétne o samostatnú entitu hlavného mesta Bratislava, následne Západné Slovensko, Stredné Slovensko a Východné Slovensko (Slovenská republika 2024). Na základe kritéria výberu vzorky podľa počtu obyvateľov boli do výskumu vybrané štyri najväčšie mestá reprezentujúce každý z regiónov Slovenskej republiky. Podľa sumárnych štatistík Slovenskej republiky z roku 2021 bolo následne do výskumu vybrané hlavné mesto Bratislava s počtom obyvateľov 475 503. Následne Východné Slovensko reprezentuje mesto Košice s 229 040 obyvateľmi, Stredné Slovensko reprezentuje mesto Žilina s 82 824 obyvateľmi a Západné Slovensko reprezentuje mesto Nitra s 78 489 obyvateľmi (Slovenská republika 2021).

Hlavné mesto Bratislava vo svojom dokumente s názvom Plán hospodárskeho a sociálneho rozvoja na roky 2022-2030 s víziou do roku 2050 zahrnuje aktivity spadajúce pod všetky komponenty konceptu inteligentných miest. V oblasti inteligentného životného prostredia sa zameriava na udržateľnosť zdrojov, podporu zelene, rozvoj živých obytných susedstiev, budovanie klimaticky odolného mesta s modernou infraštruktúrou, ktorá efektívne zbiera informácie a dopomáha monitorovať a hodnotiť stav životného prostredia. Súčasťou sú aj adaptačné opatrenia, zodpovedné

hospodárenie s vodnými zdrojmi a dostupná voda, energetické zhodnocovanie odpadov, či inteligentné služby spracovania odpadovej vody a zmena energetického mixu v prospech obnoviteľných zdrojov energie (OZE), ktoré prispieva k znižovaniu emisií alebo k posilneniu odolnosti voči environmentálnym hrozbám. Plán zameriava svoju pozornosť aj na inteligentnú ekonomiku, napríklad vo forme transparentného a efektívneho hospodárenia, či spolupráci so súkromným, verejným a akademickým sektorom pri získavaní informácií. Mesto Bratislava má zároveň ambíciu byť konkurencieschopným zamestnávateľom, ktorý vytvára kvalitné pracovné podmienky, podporuje vzdelanosť a v konečnom dôsledku spokojnosť jeho zamestnancov. Komponent inteligentnej vlády je súčasťou dokumentu vo forme prehľadnosti volebného systému, zodpovednosti voči voličom, transparentného a efektívneho riadenia mesta a otvorených inštitúcií alebo rozhodnutí a tvorbe politik na základe dát. Cieľom je aj podpora komunikácie mesta s obyvateľmi, ich zapájanie do tvorby politik a rôznych projektov a celková podpora občianskej angažovanosti. Zámery spadajúce pod komponent inteligentných ľudí spočívajú v lepších pracovných príležitostiach, dostupných službách pre obyvateľov, rozvoji digitálnych služieb a vzdelanosti, podpore kultúrnej krajiny, rozvoji mesta sociálnym spôsobom, či prehlbovaní dôvery a spolupráce medzi mestom a obyvateľmi. Ciele v rámci inteligentného bývania sú rozoberané v podobe lepších životných podmienok, či energeticky efektívnych budovách a bývaní, ktoré bude dostupné pre širokú škálu populácie. V rámci inteligentnej dopravy mesto plánuje využívať trvalo udržateľné spôsoby dopravy, budovať kvalitnú a inteligentnú infraštruktúru, podporovať dostupnú a udržateľnú regionálnu a mestskú mobilitu, alternatívne spôsoby dopravy a rozvíjať inteligentné parkovanie vo verejných priestoroch (Magistrát hlavného mesta SR Bratislavy 2022).

Mesto Košice v dokumente s názvom Program hospodárskeho rozvoja a sociálneho rozvoja mesta Košice a jeho funkčnej oblasti 2022-2027, taktiež venovalo pozornosť všetkým z komponentov spadajúcich pod koncept inteligentných miest. Ciele spadajúce pod dimenziu inteligentného životného prostredia pozostávali najmä z budovania zelenej a modrej infraštruktúry, zabezpečenia čistého verejného priestoru, znižovania spotreby dostupných zdrojov, efektívneho hospodárenia s vodnými zdrojmi, prístupu k pitnej vode a postupného znižovania spotreby energií a prechodu k OZE. Inteligentná mobilita sa týkala predovšetkým vybudovania udržateľného dopravného systému, ktorého neoddeliteľnou súčasťou je využívanie inteligentných technológií a podpora alternatívnych spôsobov dopravy ako napríklad chôdza, cyklistika, zdieľaná mobilita alebo verejná hromadná doprava. Cieľ v rámci komponentu inteligentného bývania je zameraný na znižovanie energetickej spotreby budov, podporu využívania OZE, dostupnosť udržateľného bývania, ktoré zodpovedá jednotlivým potrebám všetkých skupín a rekonštrukciu verejných budov. Dimenzia inteligentných ľudí je v dokumente zahrnutá vo forme prirodzenej dostupnosti poskytovaných služieb bez ohľadu na obyvateľov vek, zdravotný, či rodinný stav. Pozornosť je zameraná na dostupnosť všeobecnej zdravotnej starostlivosti, vzdelávacie aktivity, podporu kultúry a zvyšovanie kvality života košických obyvateľov. V rámci inteligentnej ekonomiky mesto Košice kladie dôraz na podporu inovačného potenciálu prístupnému vedcom, lokálnym a zahraničným firmám, tvorbu ekonomických príležitostí pre dosahovanie udržateľného rastu, podporu podnikateľských inovatívnych aktivít, odstraňovanie existujúcich bariér a podporu cestovného ruchu. Komponent inteligentnej vlády je zahrnutý v cieľoch týkajúcich sa participatívneho plánovania a rozhodovania obyvateľov a samosprávnych zamestnancov, vytvárania aktivít a projektov za prítomnosti participácie, vytvorenia zdieľanej komunitnej mapy a zbere dát, otvorenej a férovej komunikácie mesta, či transparentnosti (Košice 2021).

Mesto Žilina v dokumente s názvom Program hospodárskeho a sociálneho rozvoja mesta Žilina na roky 2014 – 2020, s výhľadom do roku 2023 taktiež zameriava pozornosť na všetkých šesť komponentov konceptu inteligentných miest. V rámci dimenzie inteligentného životného prostredia charakterizuje prioritné ciele týkajúce sa skvalitnenia obehového hospodárstva, minimalizácie tvorby odpadov, recyklácie a opätovného využívania odpadov, energetického využívania odpadov, riešenia problému znečistenia ovzdušia, zvyšovania environmentálneho povedomia obyvateľov a vývoj adaptačných opatrení v súvislosti so zmenou klímy. Riešenia v inteligentnej doprave zahŕňali podporu udržateľnej a nízko emisnej mobility a sprístupnenie lokálnej a regionálnej infraštruktúry a

prípravu inteligentného dopravného systému. Zámery spadajúce pod inteligentnú ekonomiku sa venovali podpore podnikateľskej činnosti mladých ľudí a žien, veľkoobchodu, maloobchodu, inovatívnych projektov, akademického sektora, výskumných aktivít a zvýšenie zamestnanosti. Komponent inteligentnej vlády zahŕňal podporu participácie vo viacerých oblastiach a procesoch v rámci aktivít, projektov, správy a riadenia mesta, aj so zameraním na starších obyvateľov. Dôraz bol taktiež kladený na aktivity spadajúce pod komponent inteligentných ľudí v podobe podpory vzdelávania, participácie mladých ľudí na procesoch vzdelávania a implementácie inteligentných princípov v oblasti kultúry a v oblasti sociálnej starostlivosti. Do plánov spadajúcich pod komponent inteligentného bývania mesto zahrnulo plány ako zlepšenie dostupnosti bývania, otázky nájomného bývania, podporu zainteresovaných aktérov s cieľom sprístupniť kvalitné bývanie a otázky týkajúce sa dostupnosti pitnej vody a kanalizácie v oblasti bývania (Žilina 2016).

Mesto Nitra v dokumente s názvom Program hospodárskeho rozvoja a sociálneho rozvoja mesta Nitry 2015 -2023 taktiež plánuje realizovať aktivity zasahujúce do všetkých komponentov konceptu inteligentných miest. Pozornosť v rámci inteligentného životného prostredia zameriava na rozvoj prvkov modrej a zelenej infraštruktúry, tvorbu stratégie mesta venovanej adaptácii na zmenu klímy, budovanie parkov, či vývoj ekologického systému spracovania odpadu. V rámci inteligentnej ekonomiky cieľi na vytváranie vhodných podmienok a tvorbu nových pracovných miest, zhodnocovanie mestského majetku, podporu tvorby inovatívnych produktov a spoluprácu so zainteresovanými subjektmi. Komponent inteligentných ľudí mesto zahŕňa v aktivitách orientovaných na zavádzanie nových služieb so zámerom podporiť ľudí a mladé rodiny, budovanie verejnej infraštruktúry pre voľnočasové aktivity obyvateľov, obnovu verejných priestorov a modernizáciu infraštruktúry vzdelávania. Do plánu zahŕňa v rámci inteligentnej mobility zlepšenie dopravnej infraštruktúry, budovanie bezpečných cyklotrás s cieľom nárastu podielu nemotorovej dopravy, zvyšovanie bezpečnosti účastníkov dopravy a podporu udržateľnej dopravy v rámci mestskej mobility. V rámci inteligentnej vlády je pozornosť zameraná na podporu participatívnych spôsobov, vyššie zapájanie zamestnancov mestského úradu, verejnosti a externých odborníkov. Zároveň zahŕňa rozvoj partnerstiev, podporu efektívnej, transparentnej a udržateľnej správy, poskytovanie kvalitných verejných služieb, či rozšírenie aktívneho zapájania obyvateľov do rozhodovania o veciach verejných a o rozvoji mesta. Súčasťou inteligentného bývania bola v rámci programu podpora bývania pre všetky skupiny obyvateľov, vybudovanie sociálneho bývania a zefektívnenie energetickej náročnosti budov (Nitra 2016).

Nasledujúca tabuľka sumarizuje, či mestá Bratislava, Košice, Žilina a Nitra zahrnuli jednotlivé komponenty konceptu inteligentných miest do svojich strategických a rozvojových plánov, a na aké z nich zameriavali svoju pozornosť.

**Tab. 5:** Sumarizácia implementácie komponentov konceptu inteligentných miest do strategických plánov vybraných slovenských miest

	<b>Inteligentné životné prostredie</b>	<b>Inteligentná ekonomika</b>	<b>Inteligentná vláda</b>	<b>Inteligentní ľudia</b>	<b>Inteligentné bývanie</b>	<b>Inteligentná doprava</b>
<b>Bratislava</b>	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<b>Košice</b>	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<b>Žilina</b>	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<b>Nitra</b>	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Zdroj: Vlastné spracovanie na základe dát z Magistrát hlavného mesta SR Bratislavy 2022, Košice 2021, Žilina 2016, Nitra 2016

## Záver

Na základe analýzy oficiálnych dokumentov týkajúcich sa strategických a rozvojových plánov miest Bratislava, Košice, Žilina a Nitra, bolo cieľom príspevku vyhodnotiť, či sú inteligentné princípy súčasťou budúcich plánov týchto miest a analyzovať, na ktoré z jednotlivých komponentov tieto mestá zameriavajú svoju pozornosť. Na základe identifikácie spomínaných dimenzií bolo následne zámerom výskumu objasniť, či je súčasťou prístupov slovenských miest využívanie inteligentných

riešení na rozvoj mestských oblastí do budúcnosti. Prostredníctvom dôkladného preskúmania oficiálnych dokumentov bolo zistené, že inteligentné princípy sú súčasťou budúcich plánov všetkých vybraných miest. Zároveň výsledky analýzy ukázali, že každé z týchto miest implementuje inovatívne riešenia, ktoré spadajú pod každý z jednotlivých komponentov konceptu inteligentných miest. Na základe zistení je zrejmé, že vybrané slovenské mestá pristupujú zodpovedne k riešeniu výziev týkajúcich sa narastajúcej urbanizácie a vidia potenciál v adaptácii riešení spadajúcich pod koncept inteligentných miest s cieľom dosiahnuť udržateľný rozvoj a vybudovať odolné mestá, ktoré zároveň dosahujú ekonomický rast a cieľia na zvyšovanie kvality života ich mestských obyvateľov.

## Zoznam použitých zdrojov

FERNANDEZ-ANEZ, V.; FERNÁNDEZ-GÜELL, J. M.; GIFFINGER, R., 2018. *Smart City implementation and discourses: An integrated conceptual model. The case of Vienna*. [online]. 2018 [cit. 2024.03.16]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264275117306558>

KOŠICE, 2021. *Program hospodárskeho rozvoja a sociálneho rozvoja mesta Košice a jeho funkčnej oblasti 2022 – 2027*. [online]. 2022 [cit. 2024.03.27]. Dostupné na: [https://static.kosice.sk/files/manual/phsr/PHRSR\\_mesta\\_Kosice\\_a\\_jeho\\_funkcnej\\_oblasti\\_2022-2027.pdf](https://static.kosice.sk/files/manual/phsr/PHRSR_mesta_Kosice_a_jeho_funkcnej_oblasti_2022-2027.pdf)

MAGISTRÁT HLAVNÉHO MESTA SLOVENSKEJ REPUBLIKY BRATISLAVY, 2022. *Bratislava 2030 – Plán hospodárskeho a sociálneho rozvoja na roky 2022-2030 a s víziou do roku 2050*. [online]. 2022 [cit. 2024.03.27]. Dostupné na: <https://zastupitelstvo.bratislava.sk/data/att/60529.pdf>

NITRA, 2016. *Program hospodárskeho rozvoja a sociálneho rozvoja mesta Nitra 2015 -2023*. [online]. 2016 [cit. 2024.03.29]. Dostupné na: <https://nitra.sk/wp-content/uploads/2022/07/Program-hospodarskeho-rozvoja-a-socialneho-rozvoja-Mesta-Nitry-na-roky-2015-2023.pdf>

OTB, 2018. *Mobility Studies. Smart cities Ranking of European medium-sized cities*. [online]. 2018 [cit. 2024.03.16]. Dostupné na: [https://www.researchgate.net/profile/Benoit-Granier-4/publication/329480757\\_Smart\\_cities\\_et\\_gouvernementalisation\\_de\\_la\\_consommation\\_d'energie\\_domestique\\_au\\_Japon\\_Le\\_role\\_central\\_de\\_l'accident\\_de\\_Fukushima\\_et\\_des\\_pratiques\\_etasuniennes/links/63dc2dbac465a873a27d00c3/Smart-cities-et-gouvernementalisation-de-la-consommation-denergie-domestique-au-Japon-Le-role-central-de-laccident-de-Fukushima-et-des-pratiques-etasuniennes.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Benoit-Granier-4/publication/329480757_Smart_cities_et_gouvernementalisation_de_la_consommation_d'energie_domestique_au_Japon_Le_role_central_de_l'accident_de_Fukushima_et_des_pratiques_etasuniennes/links/63dc2dbac465a873a27d00c3/Smart-cities-et-gouvernementalisation-de-la-consommation-denergie-domestique-au-Japon-Le-role-central-de-laccident-de-Fukushima-et-des-pratiques-etasuniennes.pdf)

RUČINSKÁ, S. “Smart City” – *Conception for Local Development?* CEE e/Dem and e/Gov Days 2015: proceedings of the Central and Eastern European e/Dem and e/Gov Days 2015: May 7-8, 2015 Budapest. Wien: Austrian Computer Society, 2015. ISBN 9782854033080. pp. 191-205. 2015.

RUČINSKÁ, S.; FEČKO, M, 2018. *Využitie inovácií pre Smart Cities*. [online]. 2018 [cit. 2024.03.15]. Dostupné na: <http://www.sjf.tuke.sk/transferinovacii/pages/archiv/transfer/38-2018/pdf/081-084.pdf>

SLOVENSKÁ REPUBLIKA, 2024. *DELENIE ÚZEMIA NA REGIÓNY NUTS 2*. [online]. 2024 [cit. 2024.03.16]. Dostupné na: [http://www.sodbtn.sk/obce/obce\\_nuts\\_mapa.php](http://www.sodbtn.sk/obce/obce_nuts_mapa.php)

SLOVENSKÁ REPUBLIKA, 2021. *SLOVENSKÁ REPUBLIKA – SUMÁRNE ŠTATISTIKY*. [online]. 2021 [cit. 2024.03.16]. Dostupné na: [http://www.sodbtn.sk/obce/statistika\\_obce.php](http://www.sodbtn.sk/obce/statistika_obce.php)

THE WORLD BANK, 2023. *Urban Development* [online]. 2023. [cit. 2024.03.14]. Dostupné na: <https://www.worldbank.org/en/topic/urbandevelopment/overview>

WASHBURN, D.; SINDHU, U., 2010. *Helping CIOs understand “smart city” initiatives*. [online]. 2010 [cit. 2024.03.16]. Dostupné na: [https://s3-us-west-2.amazonaws.com/itworldcanada/archive/Themes/Hubs/Brainstorm/forrester\\_help\\_cios\\_smart\\_city.pdf](https://s3-us-west-2.amazonaws.com/itworldcanada/archive/Themes/Hubs/Brainstorm/forrester_help_cios_smart_city.pdf)

ŽILINA, 2016. *ANALYTICKÁ ČASŤ. Program hospodárskeho a sociálneho rozvoja mesta Žilina na roky 2014 – 2020, s výhľadom do roku 2023*. [online]. 2016 [cit. 2024.03.28]. Dostupné na: [https://www.zilina.sk/wp-content/uploads/2021/01/PHSR\\_Zilina\\_2-0.pdf](https://www.zilina.sk/wp-content/uploads/2021/01/PHSR_Zilina_2-0.pdf)

# LOGICKÝ PRIESTOR FAKTOV A JEHO ROZŠÍRENIE O ROZMER LÁSKY

*Logical Space of Facts and Its Expansion with the Dimension of Love*

Viktor Morháč

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta, Katedra Filozofie*

**Abstrakt:** V tejto práci načrtávam pojem lásky, človeka a logického priestoru v explikácii Wittgensteina, ale aj iných filozofov, ktorí sa k tejto téme buď viac alebo menej vyjadrovali. Najprv som definoval myšlienky ako Wittgensteinov stav vecí, čo je pojem z Traktátu, ktoré fungujú v logickom priestore nezávisle od nás. Ďalej potom som načrtnol myšlienku ontologických novotvarov vo svete, v koncepcii *otvoreného* logického priestoru – novotvarov, ktoré vznikajú a priestoru, ktorý sa otvára po vzniku intersubjektívnych vzťahov medzi ľuďmi, ktorých obsahom je vzťah lásky medzi ľuďmi. Týmto sa pomyselný priestor rozširuje o rozmer lásky. Tieto inovatívne myšlienky sú doplnené filozofickými ideami Bubera, Fromma, Jaspersa, či Platóna. Základná myšlienka je teda v tom, že pôsobením lásky vo svete sa nám odкрýva nové inodimenziálne bytie v rámci miliónov nových jestvujúcich, ktoré objavujeme, ľudí ako cestujúcich vesmírom, ako svojich bližných v rámci kolektívneho vedomia (kolektívneho myslenia). Týmto sa napĺňa etický rozmer analytickej filozofie, ktorá sa takto zlúčuje s filozofiou metafyziky týkajúcej sa lásky a človeka.

**Abstract:** In this work, I outline the concept of love, humanity, and the logical space of explication as depicted by Wittgenstein and other philosophers who have addressed this theme to varying extents. Initially, I defined Wittgenstein's concept of the state of affairs, as articulated in the Tractatus, which operates within a logical space independent of us. I then sketched the idea of ontological novelties in the world within the concept of an open logical space, arising from and expanding through intersubjective relationships between individuals, wherein the content involves the relational aspect of love among people. This notion effectively expands the imaginary space by adding the dimension of love. These innovative ideas are supplemented with philosophical notions from Buber, Fromm, Jaspers, and Plato. The fundamental notion is that the action of love in the world unveils a new dimension of being within millions of new existences we discover—people as travelers through the universe, as our kin within a collective consciousness (collective thought). This fulfills the ethical dimension of analytical philosophy, which thereby merges with the philosophy of metaphysics concerning love and humanity.

## Úvod

Podľa mojej interpretácie jestvujúceho jestvujúcna vo svete je svet ako celok zložený z faktov, objektov, a vzťahov medzi nimi – to píšem (vzhľadom na úvod) len stručne. Som ale presvedčený, že existuje svet známych faktov, a svet „temného“ logického priestoru, kde fakty ešte *nepoznáme*. Som presvedčený, že tento rozmer môžem nazvať *transcendentným*, presahujúcim prirodzené empirické poznanie. Nemusíme do toho zakomponovať len svet fyziky elementárnych častíc, ktoré sú povedzme ešte neznáme, stačí, ak spomenieme formy myslenia a správania sa človeka, ktoré vytvárajú schémy a štruktúry, ktoré ešte nepoznáme, vzhľadom na evolučnú úroveň vývoja človeka, ktorý neustále vytvára *nové* priestory a napĺňa ich novými faktami, novými prepojeniami medzi jednotlivými ľuďmi. Vzhľadom na to, že sa sústredím na *človeka*, poviem že je to antropologický rozmer, ktorý mám na mysli. Človek sa vyvíja nielen evolučne, čím neustále akceleruje na novej ceste poznávacích procesov, ale sa vyvíja aj vedecky, čím sa otvárajú nové vedecké prístupy, a čo je najdôležitejšie, človek sa vyvíja aj na *prirodzenej* úrovni poznania, čím „rozširuje“ seba, ale „rozširuje“ aj svet o „to nové“, čo o sebe a o svete spoznal. Najviac, podľa Bubera, spoznáваме niečo vďaka vzťahu medzi dvoma subjektmi „ja“ a „ty“. Je teda namieste povedať, že intersubjektívny vzťah je základom pre poznanie sveta, no najmä pre *rozšírenie* sveta poznania. Človek podľa Schelera je takto transcendujúca bytosť, vždy preniká do transcendentného neznáma, a následne sa navracia do *skutočnosti* sveta, do oveľa osvetlenejšej reality faktov, a to v rámci sveta, ale aj seba samého



(Scheler, 1968, s. 81). Je to spôsob, ktorým prirodzene hľadá odpovede na zmysel svojej existencie, a tiež tým stále nanovo osvetľuje väčšie a novšie dimenzie neznámeho transcendentna. V tejto práci chcem vysvetliť, načrtnúť, že tento *poznávací proces* smerom do transcendentna je spojený s láskou v našej individuálnej duši, rovnako aj s láskou, ktorú dávame iným bytostiam, ľuďom, čím ju kreatívne plodíme v Platónovom zmysle, súvzťahujeme ju medzi entitami jestvovania vo svete, čím obohacujeme nielen svet, ale tiež aj samotnú lásku, ako zatiaľ veľmi hmlistú, avšak skutočnú hodnotu.

## Logický priestor

Svet sa skladá z faktov, napísal kedysi vo svojom *Traktáte* Wittgenstein (Wittgenstein, 2003, § 1 a 1.1). Myslel tým *všetky* fakty sveta, pretože všetky tieto fakty tvoria celok sveta. Ak sa aj dívame na svet ako na súhrn objektov a subjektov a vzťahov medzi nimi, je nepochybné, že dospievame k záveru, že skutočné čiže pravdivé je *to, čo je* faktom – faktami je vlastne aj celá schéma či štruktúra prepojení medzi jednotlivými objektami a subjektami (čo tvorí plnú *skutočnosť sveta*), kam môžeme zarátať aj všetky charakteristiky a vlastnosti týchto entít atp. – ktoré dokopy vytvárajú logický priestor (Wittgenstein, 2003, § 1.13). Aj z tohto „epistemologického“ hľadiska vieme povedať, že *všetky* fakty sveta (z Wittgensteinového hľadiska) sú možno „rozširujúce sa“, a teda hranica sveta faktov je pohyblivá. Nižšie uvádzam, kde v *Traktáte* Wittgenstein aj „načrtáva“ myšlienku novotvarov faktov, alebo skôr ma dovádza k uvažovaniu o tejto koncepcii *otvoreného* logického priestoru.

Vlastne, úplne paradoxne, začínam Wittgensteinom, pretože som presvedčený, že všetko o čom (podľa jeho *Traktátovej* „verzie“) filozofujeme a čo akýmkoľvek spôsobom niekam zaradíme, začíname úplne prirodzene logickou štruktúrou, rigiditou, ktorá nepozná prekvapenia (Wittgenstein, 2003, § 6.1251), *apriórnu* formou dokázateľnej matematiky, kde nie je nutné overovať, teda fungujeme bez porovnávania s faktami (Wittgenstein, 2003, § 6.2321)<sup>33</sup>; na druhej strane fungujeme aj pozitívnou vedou, empiricky overujúcou *skutočnosť*, a na ďalšej strane dokonca „odhadujeme“ akési novtvary, fakty a z nich detekovateľné „obrysy“ štruktúr, či zjednodušene, nové fakty sveta (Wittgenstein, 2003, § 6.126). Je známe, že Wittgenstein sa na konci *Traktátu* však (tak trochu) „vzdal“ tejto „symetrickej“ logiky vo filozofii (Wittgenstein, 2003, § 6.54 a 7), precíznosti medzi mentálnymi stavmi, jazykovou štruktúrou a stavmi vecí sveta (mysel, jazyk, svet); a dostal sa tak bližšie k *pravde* – dalo by sa povedať, a to najmä vo *Filozofických skúmaniach*, v *Modrej a Hnedej* knihe, kde sa vyjadruje „voľnejšie“ a interpretatívnejšie, a pripúšťa relatívnu *nepresnosť* jazyka a jazykových „foriem“ v praxi, teda (spomeňme si, aký k tomu použil *vtedy* výrazový prostriedok?) – *jazykové hry* – majú tendenciu byť určitou „formou filozofického *chaosu*“ (Monk, 1996, s. 340–343). Ak chceme teda študovať skutočnosť sveta a zhodu viet jazyka s faktami sveta, všetky tvrdenia, predpoklady a otázky, je nutné sa venovať *primitívnym rečovým formám*, v ktorých tieto formy myslenia vystupujú bez mäťúceho pozadia komplikovaných myšlienkových procesov (Monk, 1996, s. 341). Týmto skúmaním jazykových foriem vymizne „duševná hmla“, ktorá (ako sa nám zdá) zahaľuje naše používanie jazyka (Monk, 1996, s. 341). Inými slovami, sledujúc svet a jeho „reč“, rôznorodé formy reči ľudí, vidíme, že všetko sa „zlieva“ do transparentného obrazu sveta, ktorému *zrazu* rozumieme. Teda čím menej špekulujeme, tým viac uvažujeme triezvo a jasne; navyše je nám jasnejšia aj naša mentálna koncepcia, aj (aspoň čiastočne, možno niekedy zdanlivo) zhoda slov a myšlienok na pozadí, so všetkými „kognitívnymi obrazmi“ v hlbokom nevedomí, ako elementárnymi prvkami domén konceptuálnych metafor. Tieto *metafory* sa napokon dostávajú na detekovateľnú úroveň výrazových prostriedkov komunikácie, čím sa aj „to“ umelecké, básnické, a teda aj intersubjektívna komunikácia prostredníctvom lásky, stávajú jasnejšími. Rôzne *jazykové hry* vykazujú náhle *rodové* podobnosti, ktoré sa (vďaka tomu, že ich spoznáваме) vzájomne a rôznorodo prekrývajú. Ako píše R. Monk: „Filozofi majú neustále pred očami prírodovednú metódu, prepádajú pokušeniu klásť otázky po spôsobe *prírodných* vied (...)“ (Monk, 1996, s. 342), čo sa však vo filozofii dá len veľmi ťažko, pretože svet je aj „inak“ racionálny, má štruktúry, ktoré vykazujú „odchýlky“, o čom som presvedčený. Umenie a láska prichádzajú aj z určitého bud' iracionalizmu, alebo minimálne

<sup>33</sup>.; tj. jedná sa o klasický prípad apriórneho poznávania, ktoré načrtol už Kant.

z takej roviny racionality, ktorá nie je tak ľahko detekovateľná v klasickej logike – z tohto dôvodu vznikajú vo „vzdialenom“ jazyku abstrakcie, aj v umení, rozličné teórie metafor. Som presvedčený, že napriek určitej logike a napriek niektorým racionalizovaným teóriam metafor, je *skutočný* svet akoby „bez podstaty“, bez zovšeobecnení<sup>34</sup>, inými slovami nám táto analytická teória odkazuje, že tendencia pozitívne chápať svet je najvlastnejším zdrojom (novým uhlom) metafyziky a navádza filozofiu do akejsi „novej temnoty“ – ak reflektujem Wittgensteina cez R. Monka. Teória „bezpodstatnosti“ sveta evokuje otvorenosť logického priestoru, otvorenosť jazykových hier, otvorenosť obsahu myšlienkových schém a náplň jazyka, ktorý vyslovuje predovšetkým lásku ako *novú ontickú vlnu*. Čím bližšie sa dostávame od logického analytického jazyka ku voľným metaforám *jazykových hier*, tým viac sa približujeme k novej „metafyzike“, metafyzike tých častí „kozmu“ (vše-bytia), kam patrí aj otázka lásky a dobra, teda k tomu, čo je etické a ľudské a možno aj *nevysloviteľné* (i.e. ťažko vysloviteľné), tj. ako píše Wittgenstein na konci *Traktátu* o rebríku, ktorý je treba pustiť, odhodiť, ak sme už raz po ňom vystúpili hore (Wittgenstein, 2003, § 6.54). Ako píše Wittgenstein, moderní ľudia lipnú na prírodných zákonoch rovnako, ako kedysi lipni ľudia na Bohu či Osude (Wittgenstein, 2003, § 6.372). Tak ako sme kedysi rojčili o Bohu a pokúšali sa odkrývať „jeho“ podstatu, tak dnes – hoci oveľa vyspelejšie – objavujeme svet v rámci prírodných zákonov. Jedno aj druhé zasahuje do neznáma, len v inej forme. Obe existujú v rámci *nevyhnutnej metafyzickej transcendencie* smerom do *temného neznáma*, ktoré sa ešte len „odhalí“ (v zmysle *odkrývania sa sveta*) a v ktorom sa nachádza *neustále* „vyššia a vyššia pravda“, a takto to ide zrejme do nekonečna. Pretože proces poznania je navskutku nekonečný<sup>35</sup>, tak je možno aj pravdou, že *nikdy*<sup>36</sup> nemáme dostatok vedomostí na to, aby sme naozaj mohli s *istotou* zaradiť niečo za „zákonité“, a to úplne bez výnimky. Až na relatívne „malé“ apriórne pravdy je to podľa mojej mienky nemožné. Jednou z tých „vyšších právd“, ktoré sa odhaľujú v ontologickej rovine metafyzickým spôsobom, je práve *láska*, a s ňou aj dobro, myslím ako doposiaľ neustále nie celkom prebádané hodnoty. Láska súvisí aj s určitými logickými, ba možno aj biologickými teóriami, ale predovšetkým ju explikujeme v rovine *jazykovej (básnickej) a umeleckej* všeobecne. (Hoci ju *pocitujeme* v kontexte psychologickom, tomu sa určite nevyhneme). Súčasťou *faktov sveta* (a ich dynamického „diania“) je aj prostredie etiky (a aj axiológie), mám tu na mysli tie *hodnoty*, ktoré sa týkajú človeka, lásky a intersubjektívneho, ktoré súvisia s „tým“ neuchopiteľným a nevysloviteľným, možno až *básnickým*... mám za to, že *práve v tomto* tkvie rozmer „novej metafyziky“, ktorá sa stále nachádza v neznámej, „*temnej hmote* faktov sveta“, kde zrní oblasť ľudského prekonania seba, osvojenie si cudzieho, a toto je fenoménom lásky. Možno práve preto je tento (diskutovaný) spor medzi logikou a metafyzikou, lebo logika sa nezlúči s tým čo je metafyzické, a metafyzika zas nedokáže ponúknuť ani deskripciu seba samej, a nezadá sa ani s tým, čo je logické. A to tvrdí aj Wittgenstein, keď si na konci *Traktátu* otvára (možno až nevedomky) voľný priestor pre *nové* chápanie svojej vlastnej teórie, ktorú sám sebe „nalomí“ vo *Filozofických skúmaniach*. Niektoré roviny stavia do extrakozmickej sféry, mimo možnosti chápania, na hranici bytia a diania, jednoducho *mimo* „všetkého“ a otvára priestor interpretatívne, voľnému či metaforickému, otvára priestor

<sup>34</sup> Som presvedčený, že neexistujú zovšeobecnenia, ak sú, sú len „umelé“ pre nutnosť vytvárania pravidiel, ktoré (samé osebe) sú tak či onak „umelé“. Nezovšeobecnenie evokuje ideu nekonečnej disperzie na elementy, ktoré sú vždy v rozličnej kombinácii, bez akejkoľvek identickej konštrukcie. Všetko je teda odlišné, a všetko vytvára všetky ďalšie možné kombinácie, čím sa svet faktov „rozširuje“ na elementárnej úrovni donekonečna. Takto aj láska, ako voľná štruktúra a slobodná forma, má nekonečné množstvo neidentických foriem, a je to práve láska, ktorá je metafyzickou časťou logickej štruktúry ontologickej roviny sveta, v ktorej sa fenomén lásky uskutočňuje.

<sup>35</sup> S tvrdením o nekonečnosti procesov poznania by som bol ale opatrný, pretože je možné, že je skutočne *možné* dosiahnuť všetky *fyzikálne* vedecké poznatky o svete v nekonečne. Otázne je pre mňa skôr to, či je možné spoznať všetky *ontologické* otázky.

<sup>36</sup> S slovami ako „vždy“ a „nikdy“ som pri používaní *veľmi* opatrný, ale pokiaľ ide o *nekonečný* proces poznávania sveta, je asi pravdou, že *nikdy* nemáme dostatok informácií na to, aby sme povedali, že svet v jeho plnej kapacite *už poznáme*.

človeku a jeho jazykovej voľnosti. Tam niekde v dial'ave týchto sfér sa nachádza aj jazyk lásky, etický kontext, ktorý by podľa mojej mienky Wittgenstein objavil, ak by žil a pátral vo filozofii aj ďalej.

## Transcendentálny rozmer

Píše (už v *Traktáte*), že sú určité veci, ktoré sú nevyjadriteľné a medzi ne patrí etika, ktorá má transcendentný charakter (Wittgenstein, 2003, § 6.421). Etika sa takto nachádza mimo sveta, mimo času a priestoru, podobne ako Boh (Wittgenstein, 2003, § 6.432), o ktorom sa nedajú povedať žiadne výpovede, podobne ako samotný pojem „boha“ nie je nič definovaného, je to len koncept subjektívnej *tragiky*, ktorú „mu“ pripisujú ľudia, pričom „on“ s *ich* trápením sa nemá *nič* spoločné, a možno o nás konkrétnych ani nevie, ani ľudí nesleduje. Samotný Boh je podľa Wittgensteina *mimo* sveta (t.j. mimo časopriestoru a teda aj mimo *bytia a diania*, a je preň to, čo sa deje vo svete a *ako je svet*, úplne nepodstatné, pretože Boh sa *nezjavuje* vo svete (Wittgenstein, 2003, § 6.432)); Ako pre Anaxagora je bytie a dianie *vo svete* determinované, pre Wittgensteina je „náhodné“, prosto *len JE*.<sup>37</sup> Inteligibilný zásah *Nús* je pre Anaxagora práve to, čo posúva výnimočný moment *prebudenia o slobode* ľudského myslenia „božským dotykom“. *To* prichádza z *mimo* nami chápaného *Bytia*, čiže bytuje v *nekonečnom* Rozume *Nús*, ktorý je indeteriministický, inteligentný, a je v tomto kontexte ako jediný *skutočne* slobodný – podobne je pre Wittgensteina Boh *mimo* všetkého bytia a diania (ak tento pojem „boha“ vôbec *môžeme* vysloviť, keďže na neho nevieme poskytnúť ani relevantnú otázku, nie to ešte odpoveď). Pretože tam, kde nie je ani otázka, nie je ani odpoveď, a tým sú skepticizmus, rovnako ako aj strohý realizmus, nie nepravdivé, ale absolútne nezmyselné.<sup>38</sup> Práve z toho dôvodu *dospel* Wittgenstein vo svojom pátraní cez logiku, následne cez jazykové hry, až po nezmyselnosť niektorých filozofických otázok, a práve z toho dôvodu podľa mojej mienky Wittgenstein opúšťa „to (prísne) logické“ a púšťa sa do voľných *rečových hier*, ktoré majú bližšie k „svetline“, k *odhaleniu* faktov sveta, k skutočnej *alétheia*, ktorá je priamo na hraniciach metafyzickej „štrbiny“ medzi veľkým *Bytím* a jestvujúciami. Totiž neupriamenosť na fakty sveta nám ich odhalí akoby viac, t.j. byť menej fixovaný na akúsi (možno len *zdanlivú*) „strnulosť“ logiky nám ukazuje viac *svetla* na *temnej* rovine *sveta* neistej, avšak *pôvabne* zahmlenej *tajomnej metafyziky*. Platón písal, že tak, ako sa má slnko k svetlu a to zas k osvetleným predmetom, tak sa má najvyššia idea dobra k dobru samotnému, a to ku eudaimonii, čiže k šťastnému životu individuálneho človeka. Cieľom je teda šťastný človek, a to nie len individuálne, ale v princípe kolektívne, t.j. šťastie pre každého človeka. *Láska a poznanie* u Platóna v jeho „jaskyni“ je koncipovaná práve v podobnom svetle. Slnko je príčinou *vedenia* (videnia), tým je u zmyslovo viditeľných predmetov jednoznačne *svetlo*. A svetlo má zase svoj „zdroj“ v Slnku (Platón, 2009, s. 269 (508A, B)). Dobro je práve analogicky to, čo umožňuje rozumovým ideám byť *videnými*: „čím je dobro v mysliteľnom svete vzhľadom na rozum a predmety rozumového vnímania, tým je slnko vo viditeľnom svete vzhľadom na zrak a videné predmety“ (Platón, 2009, s. 270, (508 C)). Dobro (a s tým ide ruka v ruke aj *láska*) prevyšujú rozum, respektíve ho naplňajú v rámci harmonickej jednoty lásky, dobra, aj (vyššieho) rozumu. Takto dobro a láska *prevyšujú* svet logiky, racionálnej strohosti, pretože ho aj *završujú*. Etické koncepty, akými sú láska či dobro, sú podľa Wittgensteina práve v rovine *transcendencie*, a práve preto je tu filozofická *polemická* otázka existencie či neexistencie etických hodnôt „vo“ svete (ako objektívna a nenapadnuteľná skutočnosť týchto hodnôt), v kontraste s možnosťou, že sú „mimo“ sveta (možno

<sup>37</sup> Táto kontradikcia je diskutabilná, pretože „náhodnosť“ je prepokladaná kvantovou teóriou založenou len na pravdepodobnostiach; ak sú stavy častíc len pravdepodobné, aj ich syntéza vo vyšších rádoch je teda len náhodná, či pravdepodobná. Determinovanosť je opačný proces, teda že prepokladáme správanie častíc a ich „ukotvenie“ správania v nekonečne. Ak je však nekonečno malé vecou kvantovej pravdepodobnosti energetických stavov, t.j. dokonca stavov „podstaty“ (vlna, častica... apod.), potom je svet nepredvídateľný a otvorený.

<sup>38</sup> Podľa Wittgensteina sú niektoré filozofické otázky nie pravdivé či nepravdivé, ale jednoducho *nezmyselné*. Preto navrhuje analytiku jazyka, aby sme sa čo najbližšie dostali k pravde, hoci nikde nie je „zaručené“, že pravdu sveta *postihneme* (definujeme) práve týmto spôsobom – najmä v explikácii neskorého Wittgensteina.

„v bohu“), či len v ľudskej mysli (ako relatívna a interpretovateľná hodnota). Vracajúc sa teda k etickému, je u Wittgensteina každá *etická hodnota* „mimo“ subjektívnej vôle (Wittgenstein, 2003, § 6.423), teda mimo subjektívneho rozhodnutia o nej, tým aj mimo všetkého osobného individuálneho relativizmu, pretože tento fenomén zaujíma len psychológiu, a tá je pre bytie a dianie irelevantná. Rovnako je každá etická hodnota aj *mimo* sveta *samého*, pretože ak by bola v ňom, bola by bezhodnotná, nemohla by existovať, nemá totiž *kde* existovať. Potom by mohla existovať *mimo bytia a diania*, tj. akosi v „Bohu“. No ak sa Boh zjavuje (jedine *ak vôbec* sa zjavuje), tak dozaista len *mimo* sveta, a preto o ňom človek ani nevie, ani nemôže vedieť nič, ako píše aj Kant. Týmto vetami práve Wittgenstein *nepriamo* naznačuje filozofickú *pochybnosť* ohľadne *zmysluplnosti* výrokov etiky, a otvára tak priestor transcencii a neznámemu, čím naznačuje, že niečo len *je*, a nie je možné to detegovať, analyzovať, či zistiť o tom akékoľvek definitívne pravdy. Etika je teda transcendentná, nie je ani imperatívna, a človek ju sám použije na svoj vlastný osobný rozvoj, na uvedomenie si „bezhraničnosti“ nekonečného logického otvoreného priestoru, v ktorom sa môže hýbať medzi nekonečne sa „rozširujúcimi“ faktami sveta, a tie sa skutočne prostredníctvom *lásky* rozširujú do nekonečna, detailizujú. Takže etika je zhrnutá do vety, že ak je niečo dobré, je to aj božské, ako píše Wittgenstein (Wittgenstein, 2020, s. 19), čím zasadzuje etike jednoznačne metafyzický charakter. Rovnako aj láska je – podľa podobného vzorca – *metafyzická* oblasť filozofie.

A toto je to dôležité: že naše zorné pole je bez hraníc, rovnako ako náš život je (subjektivisticky povedané) „bez konca“ (Wittgenstein, 2003, § 6.4311), ale *iba a výlučne* v tom kontexte, že je potrebné žiť v šťastnej prítomnosti a prežívať stavy pôsobenia života v tom zmysle, že kto žije „nečasove“ (mimo uvedomovania si času), „žije večne“, pretože sa sústreďuje na *prítomnosť*. Totiž hoci smrťou sa reálne všetko pre subjekt končí, avšak podľa Wittgensteina, netreba *čas* chápať ako neustále trvajúcu večnosť (aj vzhľadom na našu smrteľnosť a konečnosť), ale čas človek má chápať ako pohybujúci sa *moment prítomnosti*, ako subjektivistický moment neustáleho *prítomnenia*, ktorý vytvára prirodzenú *ilúziu* večnosti, ktorá jednoducho „trvá“ a ktorú Wittgenstein jednoznačne postuluje už v *Traktáte*, pričom táto tiež (samozrejme v mojej explikácii) patrí k určitému *tragickému* rozmeru ľudskej smrteľnej životnej púte. Wittgenstein sa však stavia v otázke smrti na pozíciu Epikura: ak je tu smrť, my tu už nie sme, a ak sme živí, smrť tu ešte nie je. Wittgenstein píše, že smrť „neprežívame“, nie je to udalosť života (Wittgenstein, 2003, § 6.4311). Smrť zažijeme len raz, preto sa „s ňou“ *nedá* vytvoriť reálna „skúsenosť“ – smrť nie je teda *skúsenosťou* (prirodzenou udalosťou), je len *metafyzickou* udalosťou, pretože prirodzenú udalosť si uvedomíme, prirodzená udalosť je *uvedomelá* záležitosť. Smrť je však len *raz, jedenkrát*, a potom už nikdy viac, preto to smrť nie je ani prirodzená udalosť, ani skúsenosť, patrí totiž k metafyzike života, existuje len *mystický* pocit strachu (Jaspers, 1994, s. 35)<sup>39</sup>, ktorý z nej máme, pretože tu ide o určitý prirodzený *strach z neznáma*, hoci žiť v *strachu* pre jeden okamih (smrť) nemá *nijaký* zmysel (Nezník, 2013, s. 160–161)<sup>40</sup>. Wittgenstein sa primárne nezameriaval na etické oblasti filozofie, no mám pocit, že práve v jeho prednáškach o etike, a tiež jemne na konci Traktátu, odhalil toto etické poznanie. Mám na mysli otázku *smrteľnosti* človeka, otázku hodnôt, aj *chápanie času* ako irelevantného, a tiež mám na mysli „realistické“ chápanie skutočnosti skrz analýzu jazyka (t.j. čo je *možné* skutočne a zmysluplne povedať, a čo nie...). Tým vlastne vymedzil to, čo je *možné*, verzus to, čo je *skryté*, inými slovami, čo je logické, čo je empirické, a čo už patrí „mimo sveta“. Ak teda vezmeme, že Wittgenstein sa sústreďil na problematiku faktov sveta, a spoliehal sa v *Traktáte* na ich *precízne* odzrkadľovanie skutočnosti v spojení s jazykom, môžeme jeho pozíciu postaviť do určitej roviny *empirického* chápania reality, t.j. čo je možné vyjadriť, poznať, či myslieť – všimnime si v tomto ohľade jeho vplyv na logický pozitivizmus. V tomto zmysle mal *empirický* charakter aj jeho pohľad na používanie jazyka: *význam slova je jeho použitie*. Znamená to, že významy pojmov sú určené (nadstavbovým) používaním jazkových hier vo filozofickom kontexte, čo by sa dalo považovať za druh empirického, pretože sa

<sup>39</sup> Jaspers píše, že ľudia zomierajú ako lístie v lese, ktoré hnije. Človek je preto veľký a stratený súčasne. Jeho šanca (rozmer sily) rastie práve v jeho krehkosti.

<sup>40</sup> Človek sa borí so svojou smrťou a nechce pripustiť, že v tomto (...) boji nakoniec skôr či neskôr prehrá, píše Nezník.

tu spolieha na overiteľné a *pozorovateľné* použitie jazyka ľuďmi. Toto evokuje *zvláštny trojuholník*, ktorý poukazuje na lásku ako na transcendentnú, a zároveň etickú hodnotu, ktorá sa vyjadruje aj verbálne, metaforickou rečou, je „domovom bytia“, pričom sa pohybujeme v rovine metafor, čo tiež poukazuje na *jazykové hry*, pričom možno aj samotná láska je (v rámci jej manifestácie v živote) len veľmi pestrofarebnou „jazykovou hrou“. Zároveň sa „zjavuje“ v praxi života, takže má čiastočne aj *empirický* charakter, no naopak je tiež (v prípade jej spojenia s otázkou *smrti* a bytia človeka) transcendentne *skrytou* entitou, ktorej následne každý v konfrontácii so *smrťou* pripisuje subjektívne inú interpretačnú kvalitu, vzhľadom na pocit, ktorý pri spojení lásky a smrti prechováva (Berd'ajev, 2005, s. 275; Solovjov, 2002, s. 42)<sup>41</sup>. Láska a smrť, dva transcendentné, tajomné a neprebádané rozmery, na ktorých je založený celý biologický život a ktorým sa nevyhneme, zaujímajú viacdimenziálne miesto v rámci Bytia, uchovávajú sa na rôznych úrovniach (v štrbinách) reality a na každej z nich sú v inej podobe. Tým vzniká nekonečne detailný a rozjímavý „obrazec“ štruktúr jestvujúcien v Bytí, skutočný kaleidoskop „života“, čiže skutočné „dívania sa“ na „krásne idey“, či „krásne formy“, teda aspoň v mojej explikácii lásky. A tým, že láska a smrť sú zahalené (neodkryté) roviny, sa na nich nutne pohybujeme len veľmi opatrne a hľadáme svetlo, ktoré poukáže na rozšírenie nielen sveta faktov, ale aj sveta emócií, a (aby sme nezabudli) tiež aj psychedelickej štruktúry našej duše. Svet je teda „večný a nekonečný rast“, rozšírenie sa v transcencii, multiplikácia do úplného. Nekonečna v akte objavovanej skrytej lásky. Pochopiteľne je to proces, ktorým spoznáme svet aj seba, kde láska je prekročenie subjektívneho „ja“ do bezrozmerného „ty“, či dokonca nekonečného „my“, podobne ako lásku explikuje Martin Buber.

## Záver – Vyústením je láska

Fakty sveta sa môžu nekonečne rozširovať (Wittgenstein, 2003, § 6.43 a 6.45), to znamená že sa doslova *rozširuje* „ohraničenosť“ celkového sveta faktov. To funguje v rámci Platónskeho chápania „osvetlenia“ nielen zmyslových predmetov, ale aj myšlienkových foriem skrze ideu dobra, ideu lásky a chápania vzťahu medzi „ja a ty“ v zmysle Buberovom (Buber, 2005, s. 52–54, 105), ak prenikneme do pozície obsahového „ty“ v rámci formálneho „ja“, čiže objavíme v sebe druhého človeka cez vzťah lásky k nemu (Buber, 2018, s. 27), v zmysle Lévinasovej „Tváre“ v kontakte s iným človekom (Lévinas, 2009, s. 206–208), objavujeme rozmer *intersubjektívneho* vzťahu, kde objavujeme niečo, čo nám bolo doteraz neznáme a kde musíme prekonať strach z cudzieho človeka, strach o seba, a to práve láskou a dobrom, *ideou dobra* v zmysle Platónových filozofických myšlienok.

Nastáva to tým spôsobom, ktorý načrtáva Platón, okrem iných jeho nasledovníkov, a to tak, že idea dobra ako najvyššia idea lásky osvetlí tú časť „temného priestoru“, ktorá je doposiaľ nevidomá, avšak transcenciou sa stáva viditeľnou, pri pristúpení dobra (svetla), čím sa primárne obohacuje logický vzťah o metafyzický vzťah. Vzniká tak nový fakt sveta – spojenie medzi štruktúrou faktu v rámci našej mysle a štruktúrou faktov v mysli iného človeka, a to v zmysle spojenia v láske, čím sa vytvára nová štruktúra (povedomie mňa o tebe, a teba o mne), čím sa vytvárajú fenomenálne predstavy o druhom človeku, a takto sa vytvára nový vzťah ako taký osebe, ktorý je aj novým skutočným faktom sveta – osvetlený prizmou lásky, svetlom objektívneho dobra v platónskom zmysle. Týmto spôsobom sa odкрýva pravdivosť (alétheia) o svete vo význame Heideggerovho „odkrývania“. Odkrýva sa nám nové inodimenziálne bytie v rámci priestoru miliónov nových jestvujúcien, ktoré objavujeme, ľudí, ktorých objavujeme, ako cestujúcich vesmírom, ako svojich blížnych v rámci kolektívneho vedomia (kolektívneho myslenia).

Toto je vysvetlenie, že svet faktov, ktoré skutočne existujú a tvoria samotný svet, sa *rozširuje* tým, že objavujeme lásku. Navyše sa rozširuje aj oblasť transcendentného, ktorá sa buď osvetľuje, čím spoznáваме nové, alebo sa kreatívne utvárajú v zatiaľ neznámom priestore nové roviny a štruktúry medzi všetkým tým jestvujúcim, ktoré tým, že poskytujeme niekomu lásku, dostávame možnosť sami v sebe a aj v druhých osudovo spoznávať ako vyspelejšie bytosti, čím rastieme „na duchu“ v prvom rade my sami. Vzniká takto *nový priestor*, ktorý vlastne sami *vytvárame* svojim vlastným rozumom

<sup>41</sup> V smrti je aj svetlo a v smrti je aj láska, píše Berd'ajev; Človek sa nedokáže zmieriť so smrťou milovanej bytosti, píše Solovjov. VM: Láska a smrť takto spolu otvorene súvisia.

(myslením), pretože poznanie a láska sú, podľa Schelera, jedno a to isté (Scheler, 1971, s. 5–11) – aspoň v tom zmysle, že láska je *plodom* obrovského *poznania* (ako som popísal vyššie), je formou geniality chápania iného človeka rovnako ako seba samého, a to v rámci vzťahu s týmto človekom, podobne ako to píše Fromm vo svojej knihe *Umenie milovať*: „Láska je aktívna starostlivosť o život a rast toho, ktorého milujeme“ (Fromm, 1997, s. 50), a tiež: „(...) v láske dochádza k paradoxu, že dve bytosti *splynú v jedno*, hoci predsa zostávajú dve“ (Fromm, 1997, s. 27–28). Podobne to vysvetľuje aj Šajda v reflexii Bubera, keď hovorí, že pokiaľ sa dostaneme do kontaktu so *skutočným* autentickým bytím, tak zistíme, že ten *druhý* človek je vlastne akoby „mnou“ samotným (Šajda, 2013, s. 65). Týmto sa nielenže *rozširuje* svet (logických, teda skutočných) faktov sveta, ale dotýka sa to aj „nášho“ bytostne ontického, ba navyše, v rámci celosvetového *kolektívneho* chápania lásky, aj toho ontologického, čím sa cez autentický vzťah dostávame do kontaktu so samotným *Bytím, obklopujúcim*, ktorého sme súčasťou všetci v absolútnom duchu lásky (Jaspers, 1994).

## Literatúra:

BERĎAJEV, Nikolaj Alexandrovič, 2005. Sebapoznanie. Pokus o filozofickú autobiografiu. Preklad Ján KOMOROVSKÝ. Bratislava: Agora. ISBN 8096868683.

BUBER, Martin, 2005. Ja a Ty. Preklad J. NAVRÁTIL. Praha: Kalich Publishers. ISBN 80-7017-020-4.

BUBER, Martin, 2018. Otázka jedincovi. Preklad Michal BIZOŇ. Bratislava: Hronka. ISBN 9788089875153.

FROMM, Erich, 1997. Umění milovat. Preklad Jan VINAŘ. Praha: Nakladatelství Josefa Šimona. ISBN 80-85637-26-X.

JASPERS, Karl, 1994. Filosofická víra. Preklad A. Havlíček, B. Horyna, J. Sokol, M. Stretti. Praha: Oikoymenh. ISBN 80-85241-77-3.

LÉVINAS, Emmanuel, 2009. Etika a nekonečno. Preklad V. DVOŘÁKOVÁ a M. REJCHRT. Praha: Oikoymenh. ISBN 9788072983940.

MONK, Ray, 1996. Wittgenstein, Údel génia. Preklad Otakar VOCHOČ. Praha: Hynek. ISBN 80-85906-23-6.

NEZNÍK, Peter, 2013. Malá rozprava o láske. In: DOLISTA, J., FEBER, J. a kol. Etika dnes: mezi sakrálním a profánním.

PLATÓN, 2009. Štát. Preklad Július ŠPAŇÁR. Bratislava: Kalligram. ISBN 9788081011856.

SCHELER, Max, 1968. Místo člověka v kosmu. Preklad Anna JOURISOVÁ. Praha: Academia.

SCHELER, Max, 1971. Řád lásky. Preklad Jaromír LOUŽIL. Praha: Vyšehrad. ISBN 33-344-71.

SOLOVJOV, Vladimír Sergejevič, 2002. Zmysel lásky. Bratislava: Kalligram. ISBN 8071494534.

ŠAJDA, Peter, 2013. Buberov spor s Kierkegaardom. Bratislava: Kalligram. ISBN 9788081017797.

WITTGENSTEIN, Ludwig, 2020. Rozličné poznámky. Preklad Marek NEKULA. Praha: Oikoymenh. ISBN 978-80-7298-532-6.

WITTGENSTEIN, Ludwig, 2003. Tractatus Logico-Philosophicus. Preklad Peter BALKO, Róbert MACO. Bratislava: Kalligram. ISBN 80-7149-600-6.

# PRÍPRAVA A PRIJATIE NOVÉHO TRESTNÉHO ZÁKONA Z ROKU 1950

## *Preparation and approval of the new Criminal Code of 1950*

**Michal Novák**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta*

**Abstrakt:** Cieľom príspevku je výskum historických udalostí v súvislosti s priebehom prípravných prác k zákonu č. 86/1950 Sb. Trestný zákon. Príspevok obsahuje aj stručný vývoj pokusov o kodifikáciu trestného práva (v rámci právnickej dvojročnice) v Československej republike pred rokom 1950. Autor sa zaoberá procesom prípravných prác a prijímaním nového trestného zákona v roku 1950 v kontexte historických udalostí. Príspevok rovnako obsahuje aj analýzu hodnotového zaradenia a cieľa nového trestného zákona.

**Príučové slová:** *trestný zákon, socializmus, prípravné práce, komunistická strana, trest, národné zhromaždenie*

**Abstract:** The aim of the paper is to research historical events in connection with the course of preparatory work for Act No. 86/1950 Coll. Criminal Law. The paper also includes a brief development of the attempts to codify criminal law (within the framework of the legal biennial) in the Czechoslovak Republic before 1950. The author discusses the process of preparatory work and the adoption of the new Criminal Law in 1950 in the context of historical events. The paper also includes an analysis of the value classification and purpose of the new criminal law.

**Keywords:** *criminal code, socialism, preparatory work, kommunist party, punishnemt, parliament*

### Historický kontext

Po vzniku samostatného Československa v roku 1918 na základe recepčnej normy došlo k stavu, že dovtedajšie právne predpisy z obdobia Rakúsko – Uhorska ostali v platnosti. Na území Československa tak platil právny dualizmus, na území Slovenska platilo právo uhorské a na území českých krajín ostalo v platnosti rakúske právo. V oblasti trestného práva na území Slovenska platil uhorský trestný zákonník o zločinoch a prečinoch (zákonný článok V/1878), v českých krajinách platil trestný zákon č. 117/1852 r. z. o zločinoch, prečinoch a priestupkoch. Po vzniku Československej republiky bolo jedným z prvoradých cieľov československej vlády právnu úpravu unifikovať.

Z pokusov o unifikáciu je potrebné spomenúť Osnovu všeobecnej časti trestného zákona, ktorú vypracovala komisia pre reformu trestného práva (predsedal jej vtedajší prof. Dr. August Mířička, členmi boli aj prof. Dr. Kallaba, Dr. Albert Milota a prof. Dr. Jozef Prušák) (Zatímný návrh obecné časti trestného zákona, 1928). Všeobecná časť trestného zákona bola po jej vydaní v roku 1921 rozoslaná na posúdenie ústredným úradom, súdom, právnickým a lekárske fakultám, notárskym, advokátskym a lekárske komorám, mnohým politikom, právnikom a riaditeľstvám väznic s cieľom širokej diskusie napriek celým odborným spektrom (Fico, 2022). Snahy o reformu trestného práva hmotného z dvadsiatych rokov napokon neboli úspešné.

Potreba reformy trestného práva sa dostala k slovu opäť v tridsiatych rokoch dvadsiateho storočia. Primárne sa jednalo o prepracovanie Prípravných osnov z roku 1926. V roku 1937 bola v tlači vydaná Osnova zákona ktorým sa vydáva trestný zákon. Ministerstvo spravodlivosti vyvíjalo všetku snahu smerujúcu k prijatiu trestného zákona, avšak k schváleniu Národným zhromaždením napokon nedošlo (Fico, 2022). Za dôvod neúspechu možno označiť zhoršujúcu sa zahraničnopolitickú situáciu, ktorá vyústila k Mnichovskému diktátu a rozpadu republiky. Podľa Dr. Aleša vznik, stavba aj obsah kapitalistických trestných zákonníkov chránili prioritne triedne panstvo kapitalistov, ich politickú a hospodársku moc a kapitalistické súkromné vlastníctvo. Osobitný dôraz sa kládol na majetkové delikty, ktoré tvorili významnú časť trestného zákona. Podľa buržoázneho trestného práva sa napríklad stíha robotník za každý najneopatrnejší podvod alebo krádež na súkromnom majetku, spáchané z núdze alebo hladu, ale miliónové daňové machinácie a defraudácie, spáchané príslušníkmi

buržoázie, zostávajú nepotrestané alebo sa stiahajú iba administratívne napr. ako dôchodkové trestné činy (Aleš, 1951).

Po víťazstve komunistickej strany vo februári 1948 (víťazný február) bol na území Československej republiky nastolený totalitný, komunistický režim. Skutočnosť, že vrcholní predstavitelia Komunistickej strany boli pripravení a odhodlaní vybudovať pevné základy socializmu podľa vzoru Sovietskeho zväzu sa mala pretaviť aj v novej právnej úprave trestných kódexov. Trestné právo a trestná represia mala navonok pôsobiť ako nástroj na vybudovanie štátu v rukách pracujúceho ľudu, no v skutočnosti slúžila ako nástroj na uchopenie moci a nastolenie totalitného režimu (Podolec, 2017).

## Priebeh prípravných prác a prijatie trestného zákona

V závere štyridsiatych rokov dvadsiateho storočia sa Národné zhromaždenie snažilo o vytvorenie jednotnej právnej úpravy. V rámci právnickej dvojročnice sa začali prípravné práce na novom trestnom zákone, šlo o historicky prvý trestný zákon prijatý národným zhromaždením po víťaznom februári. Právnická komisia Ústredného výboru KSČ v marci 1948 na základe návrhu profesora JUDr. Josefa Turečka (český právnik a právny historik, profesor cirkevného a správneho práva na Právnickej fakulte Univerzity Karlovej) pod názvom „Smernice pro přípravu nového právního řádu“, sa zaoberala otázkou rekodifikácie nového Ľudovo - demokratického práva. Jeho realizácia sa odhadovala na obdobie dvoch rokov, pre tento proces sa preto vžilo označenie právnická dvojročnica. Nový trestný zákon bol zameraný proti bývalej vykorisťovateľskej triede, ktorá sa usilovala o obnovu kapitalizmu (Mach, 1965). V júni 1948 sa konalo zasadnutie Ústredného výboru Komunistickej strany Československa (ďalej aj „ÚV KSČ“), na ktorom Klement Gotwald vyhlásil, že: cit.: „je třeba zlikvidovat nemožný stav, kdy u nás platí zákony z doby Marie Terezie. (Gottwald, 1950)“ Téma prijatia nového právneho poriadku sa objavili rovnako aj na IX. zjazde KSČ v roku 1949, ktoré malo do nových kódexov premietnuť dosiahnuté revolučné výsledky. Novo prijaté kódexy v oblasti občianskoprávnej aj oblasti trestnoprávnej mali obsahovať prvky „socialistickej výstavby“ (Vojáček, 2017). Diskusie ohľadom nového trestného zákona bola do veľkej miery ovplyvnená sovietskou trestnou náukou, ktorá sa ale vyznačovala názorovou nejednotnosťou a autori prezentovali rozdielne názory na základné otázky (trestná zodpovednosť, zavinenie a i.), podobne tomu bolo aj na poli československej právnej vedy (Kokavec, 1955). Ministerstvo spravodlivosti sa novou kodifikáciou začalo zaoberať hneď po prijatí Ústavy Československej republiky 9. mája 1948 (ústavný zákon č. 150/1948 Sb. zo dňa 9. mája 1948, ďalej len „Ústava Československej republiky“), ktorou bolo definitívne deklarované víťazstvo robotníckej triedy a boli položené základy socializmu vo všetkých oblastiach spoločenského života (Vojáček, 2017). Je potrebné dodať, že priamo v Ústave Československej republiky nachádzame základnú zásadu trestného práva, a to konkrétne zásadu „nulla poena sine lege“, čo znamená, že tresty možno ukladať, len na základe zákona (§ 35 ústavného zákona č. 150/1948 Sb.).

Dňa 1.5.1948 sa vláda na čele s Antonínom Zápotockým zhostila úlohy pripraviť nové trestné predpisy vo svojom programovom vyhlásení. Uvedené vyhlásenie vlády obsahovalo aj politické zadanie: *“Ľudová demokracia si tiež vytvorí nový systém práva trestného, pretože dosiaľ platné trestné právo spočíva na princípoch kapitalistického spoločenského a hospodárskeho zriadenia a je zamerané k tomu, aby chránilo nadpráva a privilégia bohatých a mocných. Nové trestné právo bude chrániť záujmy pracujúcich, ich budovateľské úsilie a plody ich práce* (Úvodná reč spravodajcu dr. Kokeša, 1948).“ Dňa 7. júla 1948 vláda Československej republiky vydala uznesenie, ktorým uložila ministerstvu spravodlivosti, aby predložilo osnovy nových kódexov do 1. septembra 1950. Podľa Vojáčka šlo teda o vytvorenie právneho stavu, ktorý by umožňoval presadenie totalitných tendencií komunistickej vlády a zlikvidoval by sto rokov budované demokratické základy právneho poriadku (Vojáček, 2017).

Ministerstvo spravodlivosti na účel prípravných prác vytvorilo kodifikačný odbor a kodifikačné komisie a subkomisie, ktoré mali predkladať návrhy novej právnej úpravy (Kuklík, 2011). Kodifikačných prác sa (okrem iných) zúčastnili profesori, sudcovia, predstavitelia notárskej komory,



štátneho zastupiteľstva a v neposlednom rade aj laici ako predstavitelia pracujúceho ľudu (keďže novo prijaté právo malo mať ľudový charakter) a to prostredníctvom záujmových organizácií (napr. Jednotný svaz českých zemédelcú a slovenských roľníkov, Revoluční odborné hnutí a i.) (Bláhová, 2014).

Dovtedajší trestný zákon, podľa vyjadrení vládnych predstaviteľov, bol postavený na princípoch kapitalistického spoločenského a hospodárskeho zriadenia a bol zameraný na to, aby chránil privilégia bohatých a mocných. Nové trestné právo malo chrániť záujmy pracujúcich, ich budovateľské úsilie a plody ich práce (Bláhová, 2014). Na kodifikačných prácach sa podieľalo (pod kodifikačnou komisiou pre trestné právo pracovalo) 10 subkomisií, z toho päť základných a päť vytvorených dodatočne. Na kodifikačných prácach sa podieľali tieto subkomisie:

1. subkomisia pre I. hlavu zvláštnej časti trestného zákona, členovia komisie: Ziegler, Vošáhlík, Urválek, Polák, Schwarz, Šimek, Šmíd, Kroček, Dvořák, Zimová, Handlíř, a Zmeškal,
2. subkomisia pre II. hlavu zvláštnej časti trestného zákona (trestné činy proti verejnému poriadku), členovia komisie: Grospič, Lepšík, Suchomel, Lukeš, Neuwirt, Srb, Belánek, Vodehnálová, Vrána a Satranský,
3. subkomisia pre III. hlavu zvláštnej časti trestného zákona (trestné činy proti hospodárskemu poriadku), členovia komisie: Lorek, Mykiska, Pauk, Holubec, Bobek, Kuřela, Udý, Burda, a Hotárková,
4. subkomisia pre IV. hlavu zvláštnej časti trestného zákona (trestné činy všeobecne nebezpečné), členovia komisie: Gero, Svitok, Rigan, Pobežtel, Pavlovský, Kozmík, Zlatný, Uvardy, Gašperík, Gavor, a Borošová,
5. subkomisia pre V. hlavu zvláštnej časti trestného zákona (trestné činy proti životu a zdraviu človeka a proti jeho dôstojnosti), členovia komisie: Rutar, Hajer, Weis, Boroš, Ciboh, Sem, Ondraček, Poustka, Hrubá, Doucek, a Korbel,
6. subkomisia pre VI. hlavu zvláštnej časti trestného zákona (trestné činy proti majetkovým právam), členovia komisie: Poláček, Lelek, Fresl, Šrom, Kamenář, Krampl, Fryštická a Fišmajstr,
7. subkomisia pre organizáciu a príslušnosť trestných súdov, členovia komisie: Kemlink, Aleš, Sigler, Tuček, Krček, Mikešová, Cyrany, Rous, a Charvát,
8. subkomisia pre opravné trestné konania, členovia komisie: Solnař, Bartoň, Springel, Weber, Kotálová, Hofman a Šmolík,
9. subkomisia pre prípravné konanie a hlavné pojednávanie, členovia komisie: Čížek, Dvořák, Grim, Fusek, Machula, Havelka, Hervert, Biskupová, Redechovský, Kraft a Vojáček
10. subkomisia pre výkon trestu, členovia komisie: Sedláček, Horný, Šíma, Bauerová, Pourová, Čech, Vodrážka a Ruml.

Neskôr bola vytvorená 11. subkomisia, ktorej prvoradou úlohou bola príprava dôvodovej správy k trestnému zákonu (Kuklík, 2011). Kodifikačné práce sa z počiatku vyznačovali chaotickosťou nakoľko neboli presne určené zásady, na ktorých malo byť nové trestné právo postavené a rovno sa prešlo k paragrafovému zneniu nového kódexu. Tento problém vyriešilo ministerstvo spravodlivosti zriadením Politickej komisie (pod dohľadom V. odboru - kodifikačného odboru Ministerstva spravodlivosti.), ktorej úlohou bolo dohliadať na celý priebeh prác, najmä dozerať na správne ideologické smerovanie novej trestnoprávnej úpravy (Kuklík, 2011). Východiskom pre tieto kodifikačné práce bol Trestný zákonník Federatívnej ľudovej republiky Juhoslávie z roku 1947 (Bláhová, 2014).

Politická komisia stanovila presné pravidlá, podľa ktorých mali jednotlivé subkomisie pracovať a zodpovedala za všetky kodifikačné práce na ministerstve spravodlivosti (nie len v oblasti trestného práva). Priebeh kodifikačných prác možno zhrnúť nasledovne. Subkomisia stanovila skutkové podstaty trestných činov začlenených pod jednotlivú hlavu trestného zákona, takto spracovaný materiál odovzdala komisii pre rekodifikáciu, kde bol skonzultovaný, prípadne doplnený a upravený. Následne bol postúpený politickej komisii na schvaľovací proces (Bláhová, 2014).

K predloženým návrhom trestného zákona sa z členov politickej komisie kriticky vyjadrovali najmä JUDr. Dressler a JUDr. Gero z dôvodu, že návrhy neboli úplne podľa predstáv vrcholných vládnych predstaviteľov. Podľa názoru politickej komisie mal nový trestný zákon chrániť predovšetkým ľudovodemokratické štátne zriadenie, pracujúci ľud, spoločné vlastníctvo a až na poslednom mieste mal chrániť jednotlivca. Ďalšou úlohou nového trestného zákona bolo potlačanie triedneho boja (zameriaval sa najmä na buržoáziu ako triedu – nerobotnícky pôvod a príslušnosť k majetnej triede boli prirážajúcimi okolnosťami). Politická komisia, a najmä JUDr. Dressler požadoval, aby sa pri príprave nového trestného zákona čo najviac čerpal zo sovietskeho právneho poriadku, a aby bola nová právna úprava bližšie laickému ľudu (požiadavka na zbavenie odborných právnických pojmov a na stručnosť jednotlivých ustanovení trestného zákona). V novom trestnom zákone bola zakotvená aj nová definícia trestného činu v materiálnom chápaní, účelom trestu malo byť pôsobenie proti triednym nepriateľom (Laclavíková, 2019). V novom trestnom kódexe bola jasne zadefinovaná zásada *nullum crimen sine lege* (niet trestného činu bez zákona). Rovnako bola zdôraznená aj zásada, že bez viny niet trestu, čo znamenalo, že jednou z podmienok trestnej zodpovednosti páchatel'a bola podmienka zavinenia. V tejto zásade bola zároveň zakotvená aj individuálna trestná zodpovednosť teda, že každý zodpovedal len za to čo svojim konaním sám zaviniť (Poláček, 1950).

Triedne zameranie zaradila kodifikačná komisia hneď do prvého paragrafu nového trestného zákona: „*Trestný zákon chráni ľudovodemokratickú republiku, jej socialistickú výstavbu, záujmy pracujúceho ľudu a jednotlivca a vychováva na dodržiavanie pravidiel socialistického spolužitia. Prostriedky na dosiahnutie tohto účelu sú hrozba trestami, ukladanie a výkon trestov a ochranné opatrenia.*“ (§ 1 zákona č. 86/1950 Sb. Trestný zákon). Nový trestný zákon rozlišoval dve skupiny trestných činov, trestné činy proti štátu a trestné činy proti jednotlivcovi. Aj keď uvedené vyjadrenie bolo skôr charakteristické pre „buržoázne právo“ a nový trestný zákon takéto delenie prebral, jasne zdôrazňoval prioritu ochrany štátu (Nezkusil, 1987). Sovietskeho vzoru sa malo pridržovať aj trestanie, kodifikačná komisia sa pri svojej práci pridržovala sovietskych trestných zákonov z roku 1927 a 1949, z týchto zákonov vychádzali základné zásady nového trestného práva (Bláhová 2014).

Výsledkom týchto prác bolo uznesenie, v ktorej ministerstvo spravodlivosti uložilo kodifikačnej komisii vytvoriť štvorčlennú subkomisiu pre vypracovanie dôvodovej správy k novému trestnému kódexu a rovnako preformulovanie ustanovenia paragrafu 1 a paragrafu 2 tak, aby bolo znenie zákona ľudové. Nový kódex, zákon č. 86/1950 Zb. Trestný zákon bol Národným zhromaždením schválený dňa 12. júla 1950 a završil rekodifikačné procesy trestného práva hmotného, čím definitívne došlo k odstráneniu právneho dualizmu, recipovaného uhorského a rakúskeho práva (v trestnom práve hmotnom) (Vojáček, 2011).

## **Postavenie Národného zhromaždenia pri prijímaní novej právnej úpravy**

Aj keď formálne bolo Národné zhromaždenie najvyšším zákonodarným orgánom, faktický stav bol odlišný. Novoprijatá Ústava Československej republiky odstránila tradičnú deľbu moci (na zákonodarnú, výkonnú a súdnu), zrušila ústavný súd a posilnila postavenie Predsedníctva Národného zhromaždenia. Faktickým nositeľom moci sa stali orgány komunistickej strany, ktoré pôsobili už pri prípravných prácach novej právnej úpravy. Hlavné slovo malo Predsedníctvo KSČ, Právna rada, Politická komisia a Ústredný výbor KSČ, uvedené orgány prerokovávali jednotlivé dokumenty a rozhodnutia ešte pred ich prejednaním v legislatívnom procese. Súčasne dochádzalo k neustálemu prijímaniu zákonných opatrení Predsedníctva Národného zhromaždenia, nariadení vlády, ministerských vyhlášok a nariadení, čo viedlo k ďalšiemu oslabovaniu významu Národného zhromaždenia ako vedúceho orgánu zákonodarnej moci. Všetky vyššie uvedené skutočnosti mali za následok, že Národné zhromaždenie bolo fakticky eliminované pri prijímaní návrhov zákonov a plnilo skôr formálnu úlohu legislatívneho procesu (Georgiev, 2008). Komunistickej strane potrebovala Národné zhromaždenie na udržanie zdania deľby moci, fakticky však žiadnu moc nemalo. Ako uvádza Gronský, Národné zhromaždenie do značnej miery stratilo svoj zmysel a stalo sa skôr kulisou, či komparzom centrálne riadeného divadla, v ktorom nebol zaznamenaný jediný prípad iného ako jednomyselného hlasovania (Gronský, 2006).

Formálnu úlohu Národného zhromaždenia nepriamo konštatoval aj Zdeněk Fierlinger (komunistický funkcionár, československý premiér v rokoch 1945–1946) počas svojho prejavu legislatívnych pracovníkov v roku 1949, v ktorom hovoril o zmysle Národného zhromaždenia, cit: „*Čím sa dnešné Národné zhromaždenie líši od predchádzajúceho, je predovšetkým ideová objasnenosť, ktorá čini Národné zhromaždenie jednorodým telesom, vyjadrujúcim vôľu pracujúcej triedy. To robí predchádzajúce vlečúce sa a neplodné diskusie zbytočnými.*“ Ďalej k samotnému zmyslu existencie Národného zhromaždenia uviedol, že cit: „*Aby Národné zhromaždenie mohlo užitočne plniť svoju funkciu a zdolať veľký prísun zákonov, ktoré sú mu predkladané, je nevyhnutné, aby osnovy prichádzali do Národného zhromaždenia čo najlepšie politicky i odborne pripravené, aby už v prípravnom štádiu, kedy ide o vypracovanie zásad každej jednotlivéj osnovy, bola zaistená spolupráca všetkých príslušných záujmových skupín, všetkých občianskych vrstiev a odborníkov v rámci čo najširšom, v rámci celoštátnom* (Fierlinger, 1950).“ Inak tomu nebolo ani v prípade prijímania nového trestného zákona, ktorý bol prijatý jednohlasne.

## Vyjadrenie cieľa nového trestného zákona

Na začiatku roka 1950 sa kodifikačné práce dostali do záverečnej fázy, prebiehali diskusie za účasti pracujúceho ľudu, výsledkom bolo, že k novému trestnému zákonu neboli vznesené žiadne väčšie pripomienky. Následne bol návrh nového trestného zákona pridelený ústavnoprávnemu výboru na prerokovanie. K prerokovaniu došlo dňa 21. júna 1950 s prejavom plného súhlasu s ustanoveniami nového trestného zákona. Zvlášť bolo zdôraznené, že vládny návrh trestného zákona bude v rukách sudcov a pracujúceho ľudu dôležitým nástrojom zabezpečujúcim výstavbu socializmu a vytvorí všetky predpoklady na poskytnutie zvýšenej trestnej ochrany pracujúcemu ľudu a jeho socialistickému budovateľskému dielu proti všetkým zločinným pokusom tých, ktorí sa vo svojej triednej nenávisti snažia svojimi útokmi rozvrátiť ľudovodemokratický štát (Národní shromáždění republiky Československé 1950, I. volební období. 5. zasedání. Tisk 491, 1950). Nový trestný zákon bol Národným zhromaždením prijatý dňa 28. októbra 1949, účinným sa stal dňa 1. 8. 1950.

Cieľ nového trestného zákona bol vyjadrený aj v dôvodovej správe, a to aj prostredníctvom výroku prezidenta Klementa Gottwalda, ktorý vyhlásil, že nesmieme ani na okamih zabudnúť, že cesta k socializmu je a bude i po februárovom víťazstve cestou triedneho boja. Naša reakcia, ktorá stojí v službách zahraničných imperialistov, siaha k najhanebnejším metódam vlastizrady a protiľudového škodenia. Úlohou nového trestného zákona je čo najúčinnjšie prispieť k jeho zneškodneniu a musí byť ostrou zbraňou nášho pracujúceho ľudu proti všetkým jeho nepriateľom. Každý právny predpis odpovedá ekonomickým a politickým pomerom spoločnosti, ktorá si ich dáva. V otrokárскеj spoločnosti dovoľoval zákon zabiť otroka, vo feudálnej spoločnosti dovoľoval „len“ predať nevoľníka a v spoločnosti kapitalistickej chráni kapitalistických vykorisťovanie, dovoľuje človeka vyhodit' na dlažbu a odsúdiť ho ako nezamestnaného k smrti hladom. Právny predpis vyjadruje vôľu vládnucej triedy, chráni a upevňuje jej hospodárske a politické privilégia (Vládní návrh trestního zákona, 1950). Inými slovami, zákonodarca uplatňoval premisu, že každý zákon možno použiť ako zbraň na podporu moci vládnucej triedy (o to viac trestný zákon). Podľa Jelínka za kodifikačný cieľ nového trestného zákona môžeme označiť aj úsilie na potlačenie pokusov triednych nepriateľov smerujúcich voči ľudovodemokratickému režimu a mobilizáciu pracujúceho ľudu v boji proti tomuto nepriateľovi. Za cieľ novej právnej úpravy označuje aj výchovu občana k riadnemu spolužitiu (Jelínek, 1950).

Nový trestný zákon bol rozdelený na všeobecnú a zvláštnu časť. Všeobecná časť trestného zákona obsahovala (okrem vyššie uvedenej definície trestného činu) definíciu zavinenia (úmysel a nedbanlivosť), foriem trestnej činnosti, ktorými boli pokus, spolupáchateľstvo, návod a pomoc ku spáchaniu trestného činu. Za spáchané trestné činy bolo možné ukladať tresty a ochranné opatrenia (ochranné liečenie, ochranná výchova a zhabanie veci). Tresty sa rozdeľovali na hlavné a vedľajšie. Hlavnými trestami boli trest smrti, trest odňatia slobody a nápravné opatrenia. Medzi vedľajšie tresty patrili: strata čestných občianskych práv, strata štátneho občianstva, vylúčenie z vojska, strata vojenskej hodnosti, peňažný trest, prepadnutie majetku alebo prepadnutie veci, zákaz pobytu (v určitej obci, okrese alebo kraji), zákaz činnosti, vyhostenie alebo uverejnenie rozsudku. Vedľajší

trest (ako už aj z názvu vyplýva) mohol byť uložený len spolu s hlavným trestom. Zaujímavosťou je, že trestný zákon nepoznal peňažný trest. Uvedené vychádzalo z majetkových, ekonomických a sociálnych pomerov spoločnosti. Peňažný trest by slúžil len majetným vrstvám, čo bolo v príkrom rozpore so zásadami socialistického zriadenia. (Vojáček, 2014). Osobitná časť trestného zákona sa venovala jednotlivým skutkovým podstatám trestných činov.

## Záver

Výskumom nižšie uvádzaných prameňov sme overili pravdivosť hypotézy, v zmysle ktorej sa prípravné práce k novému trestnému zákonu č. 86/1950 Sb. v období po víťaznom februári 1948 niesli v duchu prísnej komunistickej ideológie. Uvedené potvrdzuje aj proces prijímania trestného zákona v Národnom zhromaždení, kde žiaden z poslancov nevyjadril nesúhlasný názor a zákon bol schválený jednohlasne. Trestný zákon sa tak stal mocenským nástrojom na udržanie moci komunistickej strany prostredníctvom ukladania prísnych trestov. Ochrana záujmov jednotlivca sa dostala do úzadia a prioritizovala sa ochrana ľudovodemokratickej republiky, jej socialistická výstavba a záujmy pracujúceho ľudu. Pomocou analýzy jednotlivých prameňov a ustanovení zákona č. 86/1950 Sb. Trestný zákon sme sa snažili o priblíženie obrazu o trestnom práve hmotnom a o procese jeho prijímania a o postavení Národného zhromaždenia v čase jeho schvaľovania. Zo skúmaných materiálov môžeme urobiť záver, že prijatím nového trestného zákona bola do značnej miery obmedzená podmienka spravodlivosti, čo vyplýva práve z priebehu prípravných prác na novom trestnom zákone, kedy najsilnejšie slovo mala práve Politická komisia.

## Literatúra

1. ALEŠ, Václav, 1951. Trestný zákon (Stručný výklad zákona zo dňa 12. júla 1950, č. 86 Sb). Bratislava: TATRAN, ISBN - neuvedené
2. BLÁHOVÁ, Ivana et al. 2014. Právnická dvouletka. Rekodifikace právního řádu, justice a správy v 50. letech 20. století. Praha: Auditorium. ISBN 978-80-87284-52-0.
3. FICO, Miroslav, 2022. Základy trestnej zodpovednosti v procese unifikácie trestného práva medzivojnovej Československej republiky. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach Vydavateľstvo ŠafárikPress. ISBN 978-80-8152-840-8.
4. FIERLINGER, Zdeněk, 1949. Dnešní legislativní praxe. Projev na konferenci legislativních pracovníků dne 9. 12. 1949. In Právnik 1950, č. 1., s-15-29. ISSN – neuvedené.
5. GEORGIEV, Jiří et al. 2008. Parlament České republiky. Praha: Linde. ISBN: 978-80-7201-689-4.
6. GOTTWALD, Klement, 1950. Za socialistický stát, za socialistické právo. 1. vyd. Praha: Ministerstvo informací a osvěty, ISBN: Neuvedené
7. GRONSKÝ, Jan, 2005. Komentované dokumenty k ústavním dějinám Československa, 2. díl, 1945-1960. Praha: Karolinum. ISBN: 80-246-1210-0
8. KUKLÍK, Jan et al. 2011. Dějiny československého práva 1945-1989. Praha: Auditorium. ISBN 978-80-87284-17-9.
9. LACLAVÍKOVÁ, Miriam a Adriana ŠVECOVÁ, 2019. Praktikum k dejinám štátu a práva na Slovensku III. Zväzok (1948 -1989). Trnava: Typi Universitatis Tyrnaviensis, spoločné pracovisko Trn.univ a VEDY, vydavateľstva SAV. ISBN 978-80-568-0359-2.

10. MACH, Luděk a Jiří MOURAL, 1965 Společenské organizace a trestní řízení. Praha: Orbis. ISBN: LK2525
11. PODOLEC, O., 2017. Vývoj trestnoprávnej legislatívy ako nástroja komunistického režimu. In: Pamäť národa, [online]. č. 1, 2017. [cit. 12.04.2024], dostupné na : [https://www.upn.gov.sk/publikacie\\_web/pamat-naroda/pamat-naroda-01-2017.pdf](https://www.upn.gov.sk/publikacie_web/pamat-naroda/pamat-naroda-01-2017.pdf)
12. POLÁČEK, František, 1950. Trestný čin. In Právnik. roč. 89. s. 17-35. ISSN: Neuvedené
13. VOJÁČEK, Ladislav a Karel SCHELLE, 2007. Právní dějiny na území Slovenska. Ostrava: KEY Publishing s.r.o. ISBN 978-80-87071-43-4.
14. KOKAVEC, Daniel, 1955. Nad IV. ročníkom časopisu Sovětská věda – stát a právo. Právny obzor, roč. 38, č. 7.
15. KOLÁRIK, Jozef, Ladislav VOJÁČEK a Tomáš GÁBRIŠ, 2011. Československé právne dejiny. Žilina: Eurokódex s.r.o. ISBN: 9788089447992
16. NEZKUSIL, Jiří et al. 1987. Československé trestné právo. Bratislava : OBZOR.
17. VOJÁČEK, Ladislav a Karol Schelle , 2014. Slovenské právni dejiny. Plzeň: Vydavatelství a nakladatelství Aleš Čeněk, s.r.o. ISBN: 9788073804947.
18. Ústavný zákon č. 150/1948 Zb. zo dňa 9. mája 1948 (Ústava Československej republiky)
19. Zákon č. 86/1950 Zb. Trestný zákon
20. Národní shromáždění republiky Československé 1950, I. volební období. 5. zasedání. Tisk 491. Zpráva. (21. červen 1950). Dostupné na internete: [https://www.psp.cz/eknih/1948ns/tisky/t0491\\_00.htm](https://www.psp.cz/eknih/1948ns/tisky/t0491_00.htm)
21. Stenoprotokol 47. schôdze z dňa 12. júla 1950 príhovor dr. Jelínka. [cit. 26.04.2024], dostupné na [http://www.psp.cz/eknih/1948ns/stenprot/047schuz/s047001.htm]
22. Vládní návrh trestního zákona zo dňa 12.07.1950 a dôvodová správa, dostupné na internete: [https://www.psp.cz/eknih/1948ns/tisky/t0472\\_08.htm](https://www.psp.cz/eknih/1948ns/tisky/t0472_08.htm)

# DÁTOVÁ ANALÝZA JUDIKATÚRY A LEGISLATÍVY

## *Data analysis of case law and legislation*

Andrej Oriňak

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta*

**Abstrakt:** Využitie umelej inteligencie (AI) v dátovej analýze predstavuje významný pokrok vo výskume a praxi. Tento príspevok sa zameriava na dátovú analýzu judikatúry a legislatívy prostredníctvom systémov AI, identifikáciu a extrakciu atribútov argumentácie obsiahnutej v judikatúre a v normatívnych textoch. Dátová analýza umožňuje štatistické vyhodnotenie aplikácie právnych predpisov v súdnom konaní a efektívnosť ich použitia. V príspevku sa zaoberáme prognózou rozhodnutí v anglo-americkom právnom systéme, aktuálnym stavom využitia algoritmov v práve a výzvami, ktoré využívanie systémov AI so sebou prináša, vrátane zodpovednosti, kybernetickej bezpečnosti, interpretácie medzinárodných zákonov, etických úvah a kvality údajov. V závere zdôrazňujeme, že systémy AI môžu zvýšiť efektívnosť práce ľudí, avšak nikdy nemôže úplne nahradiť ľudské rozhodovanie. Poukazujeme na potrebu dodržiavania etických štandardov v automatizovaných procesoch.

**Príučové slová:** *dátová analýza, systémy AI, strojové učenie, legislatíva, judikatúra*

**Abstract:** The use of artificial intelligence (AI) in data analysis represents a significant advancement in research and practice. This contribution focuses on the data analysis of case law and legislation through AI systems, identifying and extracting attributes of arguments contained in case law and normative texts. Data analysis allows for statistical evaluation of the application of legal regulations in judicial proceedings and the efficiency of their use. The paper discusses the forecasting of decisions in the Anglo-American legal system, the current state of algorithm use in law, and the challenges associated with AI systems, including accountability, cybersecurity, interpretation of international laws, ethical considerations, and data quality. In conclusion, we emphasize that AI systems can enhance the efficiency of human work but can never fully replace human decision-making. We highlight the need to adhere to ethical standards in automated processes.

**Keywords:** *data analysis, AI systems, machine learning, legislation, case law*

## Úvod

Umelá inteligencia a jej schopnosti veľmi dynamicky napredujú a možnosti jej využitia sú takmer nekonečné. Dokáže zadávateľovi z uvedeného textu vytvoriť obraz, napísať pre zadávateľa motivačný list na pohovor do zamestnania, či vytvoriť grafické logo pre podnikateľa. Dokáže z nesmierne obsiahlych databáz ktorými disponuje s vysokou rýchlosťou analyzovať problém a predstaviť zadávateľovi jeho riešenie. Umelá inteligencia sa začína stále väčšími využívať aj v podnikaní, vedeckom výskume alebo každodennom živote. Momentálne má umelá inteligencia historicky najväčší rozmach a bude sa naďalej iba viac a viac rozširovať.

Využitie umelej inteligencie je možné taktiež v oblasti práva, okrem mnoho iných oblastí či odvetví ako napríklad vo výskume, výrobe alebo podnikaní. Súd pri svojom rozhodovaní vychádza z vykonaných dôkazov a tieto hodnotí podľa svojej úvahy, a to každý jednotlivito ako aj v ich vzájomnej súvislosti, pričom zohľadňuje všetky informácie, s ktorými sa počas dokazovania oboznámil. Rozhodnutie taktiež obligatórne (existujú výnimky) musí obsahovať časť, v ktorej súd odôvodní, akým spôsobom dospel k rozhodnutiu a na základe akého postupu rozhodol tak ako rozhodol. Súd počas celého súdneho konania musí rešpektovať platné a účinné právne predpisy a základné princípy civilného práva a postupovať v súlade s nimi. Toto všetko umelá inteligencia dokáže. Umelá inteligencia je schopná napríklad aj: vyabstrahovať argumenty z analyzovaných právnych textov, klasifikovať a automaticky sumarizovať právny text, vytvoriť výpočtové metódy zamerané na predzmluvné rokovania a uzatváranie zmlúv, asistovať pri riešení sporového konania, vytvoriť pomocné systémy rozhodovania v právnej oblasti, spoznávať údaje a text z právnej oblasti,

extrahovať informácie z právnych databáz a textov, odporučiť literatúru v právnej oblasti, aplikovať interdisciplinárne metódy a systémy právnej informatiky a mnoho ďalších možností. (Padhye, 2024). Pomocou dátovej analýzy založenej na identifikácii, extrakcii a nadväzujúcom skúmaní atribútov argumentácie obsiahnutej v ustálenej súdnej praxi prostredníctvom verejne dostupných súdnych rozhodnutí v kombinácii s dátovou analýzou normatívneho textu relevantných právnych predpisov je možné vyhodnotiť, akým spôsobom by mal byť spor rozhodnutý, a sformulovať riadne odôvodnenie takého rozhodnutia. Pomocou dátovej analýzy je možné taktiež štatisticky vyhodnotiť, ako často sa aplikujú jednotlivé ustanovenia právnych predpisov v rámci procesu dokazovania v súdnom konaní, rovnako tak v procese rozhodovania súdu. Taktiež vieme ustáliť mieru efektivity aplikácie jednotlivých ustanovení, vytvoriť prehľad počtu prípadov kedy súd rozhodne odlišným spôsobom než rozhodnutím ktoré je ustálené v súdnej praxi v obdobných veciach, z akého dôvodu súd rozhodol odlišne a či toto odchylenie sa bolo opodstatnené a súdom náležite odôvodnené. V príspevku sa budeme zameriavať najmä na dátovú analýzu právnych inštitútov z právnych predpisov, rozhodnutí vnútroštátnych súdov Slovenskej republiky a iných zdrojov so zameraním na skúmanie procesu dokazovania a aplikácie právnych princípov v súdnom konaní, rovnako ako preskúmaniu možnosti extrakcie štruktúrovaných atribútov z judikatúry za účelom porozumenia právnemu textu a jeho následnej analýzy.

Dátová analýza judikatúry a legislatívy je činnosť širokého záberu, ktorá sa rozvíja naprieč viacerými username, pričom sa prelína právnou username, username informačných username a username počítačových sietí. Proces dátovej analýzy zahŕňa systematickú analýzu právnych dokumentov, ako sú súdne rozhodnutia a text právnych predpisov, za účelom identifikovania vzorcov, trendov a informácií, ktoré môžu byť relevantné pre náš výskum. Existujú rôzne prístupy k analýze dát, od skúmania vplyvu konkrétnych právnych predpisov na spoločenské problémy až po využívanie pokročilých username na spracovanie dát.

Pri dátovej analýze budeme používať username strojového učenia (*machine learning*) a systémy umelej inteligencie (AI). Username strojového učenia je podmnožinou umelej inteligencie, ktorá zahŕňa vývoj algoritmov a štatistických modelov, ktoré umožňujú počítačom učiť sa z údajov bez toho, aby boli výslovne naprogramované. Táto username umožňuje systémom zlepšovať časom svoj výkon pri riešení úloh, často pomocou veľkých súborov údajov a zložitých algoritmov. Strojové učenie sa bežne používa v aplikáciách, akými sú napríklad rozpoznávanie obrazu, spracovanie prirodzeného jazyka a pri prediktívnych analýzach (Rakovská, 2016). Username umelej inteligencie je softvérová aplikácia alebo hardvérové zariadenie, ktoré používa algoritmy a údaje na simuláciu ľudskej inteligencie. Tieto systémy dokážu vykonávať úlohy, ako je uvažovanie, riešenie problémov a rozhodovanie, často s presnosťou a rýchlosťou, ktorá prevyšuje ľudské schopnosti. Username umelej inteligencie sa môžu používať v širokej škále aplikácií vrátane robotiky, spracovania prirodzeného jazyka a expertných systémov (Rakovská, 2016). Využitie strojového učenia a systémov umelej inteligencie v procese analýzy judikatúry a legislatívy predstavuje významný pokrok vo výskume a praxi v username práva. Tieto username ponúkajú možnosť automatizovať a zefektívniť rôzne aspekty právnej analýzy, od identifikácie vzorcov v judikatúre po predpovedanie výsledkov súdnych konaní. Cieľom tohto príspevku je analyzovať postup pri dátovej analýze judikatúry a legislatívy, zhodnotiť jednotlivé faktory tohto postupu a ustáliť prínos využitia dátovej analýzy pre právnú prax a výskum.

## **1. Prognóza rozhodnutia podľa textu podania prostredníctvom umelej inteligencie v anglo-americkom právnom systéme podľa Brantinga**

Karl Branting uvádza, že rozhodnutia súdov či orgánov verejnej moci možno predpovedať pomocou modelov strojového učenia, ktoré čerpajú informácie z publikovaných rozhodnutí orgánov verejnej moci a na základe skutkového textu týchto rozhodnutí vytvoria prognózu. Podľa Brantinga poznatky z jeho výskumu naznačujú, že automatizácia kľúčových častí vývoja pomocných systémov na podporu rozhodovania v justícii ale aj v správnom práve je uskutočniteľná. Tieto pomocné systémy by mohli mať pozitívny dopad na súdnicstvo a správne súdnicstvo, zmiernili by preťaženie súdov prostredníctvom zefektívnenia, zjednodušenia a urýchlenia procesu rozhodovania a kreácie

rozhodnutia v jednoduchých právnych veciach, čím by došlo k čiastočnému odbremeneniu súdov. (Branting et al., 2020).

Kritici Brantingovej teórie poznamenali, že faktické vyjadrenia v publikovaných rozhodnutiach verejnoprávnych orgánov a súdov predstavujú v zásade vysoko selektívnu sumarizáciu konania vychádzajúc zo súdneho spisu, pričom táto sumarizácia je iba modifikovaná tak, aby bola konzistentná s účelom rozhodnutia. Pre efektívnejšie dosiahnutie scenárov, ktoré by sa viac priblížili reálnemu očakávanému výsledku je preto potrebné dosiahnuť čerpaním informácií pomocou modelov strojového učenia nie zo súdnych rozhodnutí, ale z podaní advokátov, na základe ktorých samotní sudcovia skutočne zakladajú svoje rozhodnutia. Advokáti prezentujú skutkový stav v kontexte relevantnej judikatúry a v argumentačnej línii v prospech výsledku konania, ktorý si klient želá dosiahnuť. Predikcia rozhodnutia súdu čerpajúca informácie a poznatky z podaní advokátov preto môže byť bližšou aproximáciou úlohy, ktorú plnia súdy a iné orgány ktorým je zverená právomoc rozhodovať o konaniach, než prognóza založená na texte publikovaných rozhodnutí súdov. (Atkinson – Bench-Capon, 2005).

Aj keď predstava, že model strojového učenia čerpajúci informácie z publikovaných rozhodnutí plnohodnotne vyhodnotí opodstatnenosť právnych nárokov účastníkov konania je zatiaľ utopická, tieto modely môžu napomôcť sudcom vyhodnotiť ktoré skutkové tvrdenia sú presvedčivejšie a ktoré menej. Identifikácia prvkov, ktoré ovplyvňujú mieru presvedčivosti skutkových tvrdení by mohla byť užitočná pre právnikov (najmä poskytnutím spätnej väzby, čím by sa dosiahol účinnejší priebeh sporových konaní), politológov a vedcov z oblasti práva (najmä umožnením lepšieho chápania právnych procesov), účastníkov sporu (priblížením rozhodujúcich faktorov podmieňujúcich úspech účastníka v spore), ako aj pre samotné súdy (kategorizovaním podaní či štatistickým hodnotením sudcov a podobne). (Branting et al., 2020).

Branting sa v rámci svojho výskumu zameril na skúmanie toho, do akej miery je možné na základe variácií vo vzorcoch citovania (*citation patterns*), štylistike písania a textovom obsahu podaní advokáta predpovedať následné rozhodnutie o takom podaní. Branting pre potreby svojho výskumu za účelom zníženia mätúcich faktorov zameril svoj výskum na jednu vybranú oblasť – federálne pracovné právo a obmedzil procesné nastavenie na jeden druh podania – návrh na skrátený rozsudok. Branting grafovou analýzou korpusov rozhodnutí dospel k záveru, že presvedčivé podania a menej presvedčivé sa systematicky líšia vo vzorcoch citovania, čo považujeme za zaujímavé. V rámci svojho výskumu Branting taktiež zistil, že štylistické faktory, aj keď s menším merateľným vplyvom na predikciu rozhodnutia než vzorce citovania majú stále podstatný vplyv na konečný výsledok rozhodnutia. Pre objasnenie pojmu vzorce v citovaní uvádzame výsledky Brantingovho výskumu, kde uviedol, že v právnom texte, ktorý bol vyhodnotený ako presvedčivejší právnicki citujú prípady na podporu konkrétnych tvrdení. Napríklad zamestnávateľ môže tvrdiť, že okamžité skončenie pracovného pomeru je odlišným právnym inštitútom než výpoveď, a následne citovať judikát, v ktorom súd rozlišuje okamžité skončenie pracovného pomeru od inštitútu výpovede. Uviedol, že to naznačuje, že citácie možno považovať za podporné právne argumenty a že relatívnu účinnosť alternatívnych argumentov možno odhadnúť meraním relatívnej miery spojitosti medzi citáciami, ktoré predstavujú tieto argumenty, a výsledkami. (Branting et al., 2020).

Branting výsledky svojho výskumu uzavrel tvrdením, že považuje za preukázanú spojitosť medzi vzorcami v citovaní, rovnako ako rôznymi štylistickými vlastnosťami podaní a pravdepodobnosťou úspechu v sporovom konaní. Uvádza, že korelácia nie je totožná s kauzalitou, preto nie je možné určiť, ktoré z týchto faktorov sú nezávislé premenné, ktoré by účastník konania mohol ovplyvniť za účelom zvýšenia šance na úspech v konaní, a ktoré sú spoločným dôsledkom faktorov, ktoré kontrolujú aj samotný výsledok konania. Napriek tomu však zastáva názor, že výsledky poskytujú určitý pohľad na vplyv právnika a spôsob, akým ten-ktorý právnik píše text podania na úspešnosť predmetného podania a v konečnom dôsledku na samotný výsledok konania. Má za to, že jeho výskum preukazuje, že úspešní právnicki majú tendenciu citovať spoločný súbor podobných judikátov, zatiaľ čo menej úspešní právnicki majú tendenciu robiť idiosynkratické citácie, používať hyperbolické vyjadrovanie a iné podobné prostriedky za účelom maskovania nedostatkov v skutkovom stave ich



klienta. Pre objasnenie pojmu štylistické vlastnosti podaní uvádzame výsledky Brantingovho výskumu, kde uviedol, že bolo empiricky preukázané, že štylistické vlastnosti podania ovplyvňujú hodnotenie presvedčivosti a dôveryhodnosti týchto podaní sudcami. Branting v rámci svojho výskumu meral prediktívny účinok viacerých štylistických vlastností, ktoré navrhol ako tie, ktoré majú pravdepodobný vplyv na rozhodnutia sudcov, a to konkrétne:

- a) počet dokumentov - celkový počet dokumentov predložených stranou, t. j. 0, 1 alebo 2, v závislosti od toho, či strana podáva námietku, odpoveď alebo dupliku
- b) počet citácií - počet citácií v spise
- c) hedging – spájanie slov za účelom zakrytia zlých argumentov či nepriaznivého skutkového stavu napr. „aj za predpokladu“, „hoci“ (Harutyunyan, 2020)
- d) hyperbolický jazyk - používanie výrazov ako „očividné“, „absurdné“, „ohavné“ atď.
- e) počet viet - počet viet v spise
- f) tzv. právne zosilňovače - používanie výrazov ako „konkludentný“, „neadekvátny“, „irelevantný“ atď.
- g) opakovanie - výrazy ako „dodatočný“, „opäť“
- h) celkový počet reťazových citácií - počet prípadov viacnásobných po sebe nasledujúcich citácií
- i) priemerná dĺžka reťazovej citácie - priemerný počet citácií v každej reťazovej citácii
- j) jurisdikcia - okres, v ktorom bola vec podaná
- k) priemerná dĺžka vety
- l) negatívny emocionálny stav- výrazy označujúce negatívny vplyv, napr. „rozrušený“, „plakal“
- m) žiadosť o zvolanie poroty - či bola vyžiadaná porota
- n) povaha žaloby
- o) súd - súd, na ktorom bola vec podaná
- p) či mala strana zvoleného právneho zástupcu alebo sa strana zastupovala sama
- q) dôvod žaloby

Na základe analýzy týchto štylistických znakov pomocou vzorcov vieme predpovedať pravdepodobnosť úspechu sporovej strany. Brantingov výskum naznačil, že najlepšiu predikčnú výkonnosť možno dosiahnuť len pomocou uvedených príznakov 1, 2, 6 a 9. Branting vypočítal vzájomnú informáciu medzi jednotlivými prvkami a výhrou prehrou v spore. Funkcie 10 až 17 v zozname mali zanedbateľnú vzájomnú informáciu s výsledkami, čo znamená, že z týchto funkcií Branting nedokázal zistiť žiadny použiteľný záver. Informačný zisk z vlastností 1 až 8 sa pohyboval od 0,117 (počet dokladov) do 0,031 (priemerná dĺžka citovaného reťazca). Branting tak v rámci výskumu dospel k záveru, že štylistické vlastnosti podania č. 1 až 8 majú dopad na úspešnosť v sporoch a právnici by ich mali brať do úvahy pri vypracúvaní spisov. Môže sa však stať, že tieto štylistické vlastnosti sú najvýznamnejšie v hraničných prípadoch, napr. v prípade nepredloženie odpovede alebo repliky, čo môže svedčiť o nedostatočnej svedomitosti právnikovi; príliš málo citácií môže naznačovať nedostatok úsilia právnikovi; dlhé reťazové citácie a hyperbolický jazyk môžu naznačovať snahu kompenzovať slabý prípad alebo zlé písanie. (Branting et al., 2020).

## 2. Aktuálny stav využitia algoritmov v práve

Ako už sme spomínali, Branting v rámci svojho výskumu poznamenal, že vývoj pomocných systémov pre sudcov pri rozhodovaní pomocou analýzy podaní advokátov na základe hodnotenia variácií citačných vzorcov či štylistiky je uskutočniteľný. Úplné nahradenie ľudského faktoru pri kreácii rozhodnutia v súdnom ale aj inom konaní dnes ešte nie je v prevádzke, avšak už existujú aj podporné systémy, ktoré v súčasnosti využívajú najmä súdy v Spojených štátoch amerických. Tieto systémy majú za úlohu uľahčiť sudcovi rozhodovanie analýzou podania a poskytnutia návrhu, akým spôsobom by mal rozhodnúť. Sudca sa týmto návrhom môže riadiť a nemusí. Medzi opísané nástroje analýzy právneho textu a jeho vyhodnocovania patrí Pre-Trial Risk Assessment Tools. Jeho zameraním je zväziť a poskytnúť sudcovi návrh rozhodnutia o vzatí či nevzatí obvineného do väzby a či možno väzbu nahradiť peňažnou zárukou, prípadne určiť primeranú sumu tejto peňažnej záruky vzhľadom na okolnosti prípadu, osoby obvineného, jeho majetkové a sociálne pomery a ostatné relevantné skutočnosti. Tento nástroj taktiež berie do úvahy informácie o policajných záznamoch o

obvinenom z minulosti, prípadne priestupky spáchané obvineným. Pri tvorbe návrhu pre sudcu o vzatí alebo nevzatí obvineného do väzby tento nástroj taktiež zohľadní charakteristiku a subjektívne, rovnako ako objektívne stránky osoby obvineného ako napríklad demografické údaje či vzťah obvineného k psychotropným látkam, pričom na základe súboru opísaných informácií vyhodnotí pravdepodobnosť recidívy alebo naplnenia niektorého z väzobných dôvodov. Recidíve sa však bližšie venuje ďalší, chronologicky starší nástroj strojovej výpočtovej techniky – COMPAS. Jeho zameranie je užšie a sústreďuje sa najmä na trestné činy s prvkami fyzického násillia. Uvedené nástroje považujeme za vysoko využiteľné aj v iných odvetviach práva a ich aplikácia v budúcnosti je skutočne sľubná. Stále však existuje mnoho teoreticko-aplikačných otázok ktoré je potrebné riešiť, napríklad zodpovednosť za nezákonné či nesprávne rozhodnutie v prípade úplného nahradenia ľudského faktoru umelou inteligenciou pri rozhodovaní v súdnom konaní.

Ako zhrnutie tejto kapitoly uvádzame, že pri aktuálnych podmienkach v oblasti právnej úpravy zákonných náležitostí (ako obsahových, tak formálnych) vyžadovaných od rozhodnutia a samotného odôvodnenia v Slovenskej republike a v Európskej únii nahradenie ľudského faktoru pri vydaní rozhodnutia pomocou umelej inteligencie takým spôsobom, aby bolo odôvodnenie rozhodnutia v súlade so súborom práv ktoré tvoria právo na spravodlivý proces nie je možné, prípadne by bolo možné len s neprímeranými ťažkosťami a prinieslo by viac problémov než úžitku. (Krištofik, 2021)

### 3. Výzvy spojené s využívaním systémov AI

Využívanie systémov AI na dátovú analýzu judikatúry a legislatívy so sebou nesie niekoľko výziev. Tieto výzvy sa nesú v rovinách technických, ako aj etických úvah až po právne a regulačné problémy. Uvádzame niektoré z kľúčových výziev:

- a) **Zodpovednosť.** Jednou z hlavných výziev je stanovenie subjektu, ktorý nesie zodpovednosť, v prípade, keď sa AI systémy používajú v oblasti právnej analýzy. Smernica EÚ o zodpovednosti AI [2022] sa snaží tento problém riešiť tým, že ustanovuje prísnu zodpovednosť pre vývojárov, výrobcov a používateľov systémov AI a ich technológií. To však vyvoláva otázku, či je takto upravená zodpovednosť zúčastnených strán za činy systémov AI, ktoré nemusia úplne ovládať alebo o nich vedieť, spravodlivá. (McDonald, 2023)
- b) **Riziká kybernetickej bezpečnosti:** AI systémy, vrátane tých, ktoré sa používajú na analýzu dát legislatívy či judikatúry, sú náchylné na kybernetické útoky. Tieto útoky môžu ohroziť integritu procesu dátovej analýzy, čo vedie k rizikám pre bezpečnosť a ochranu citlivých dát. Výzvou je zabezpečenie postačujúcej úrovne kybernetickej bezpečnosti pre systémy AI tak, aby bola zabezpečená ochrana osobných a iných citlivých údajov. (Alalwan, 2022)
- c) **Interpretácia a aplikácia medzinárodných zákonov.** Využitie systémov AI pri určovaní príslušného práva v cezhraničných sporoch podľa nariadenia Rím II predstavuje výzvy pri interpretácii a aplikácii. Vplyv AI na otázky voľby legislatívy v medzinárodnom súdnictve predstavuje výzvy pre súčasný právny rámec, ktorý si vyžaduje prehodnotenie interpretácie a aplikácie nezmluvných záväzkov v kontexte AI. (Çami et al., 2023)
- d) **Etické a morálne úvahy.** Vývoj a využívanie systémov AI v dátovej analýze musí byť v súlade so spoločensky zaužívanými etickými a morálnymi úvahami, najmä pokiaľ ide o autorské právo a kreatívne systémy AI. Rozdiel medzi ľudskou kreativitou a výpočtovou kreativitou vyvoláva búrlivú diskusiu o práve duševného vlastníctva vo vzťahu k dielam vygenerovaným AI. Je potrebná harmonizácia technologických inovácií s právnymi princípmi na udržanie integrity práv duševného vlastníctva. (Kasap, 2019)
- e) **Technické obmedzenia a kvalita údajov.** Systémy AI sú takmer úplne závislé na úrovni kvality údajov, na ktorých ich trénujeme. Ak ich „krmíme“ chybnými datasetmi, datasetmi s predsudkami alebo neúplnými datasetmi, môže to viesť k chybným analýzám nespravodlivým výsledkom. Preto je nesmierne dôležité využitie správneho datasetu.

## Záver

Pri spracovaní príspevku sme analyzovali postup, ktorým sa analyzujú dáta extrahované z legislatívy a judikatúry a zhodnotili sme, že tento postup, aj keď je pracný, môže priniesť mnoho výhod. Z uvedeného dôvodu preto považujeme uvedený postup za vysoko prínosný ako pre právnu prax, tak pre výskum v oblasti práva, čím považujeme cieľ príspevku za naplnený. Dátovou analýzou legislatívy a judikatúry môžeme získať cenné informácie ohľadom vzorcov správania sa subjektov vystupujúcich na strane žalobcu či žalovaného, ale aj sudcu. Taktiež nám môže pomôcť identifikovať atribúty významné pre rozhodnutie, ktoré právne inštitúty sa vyskytujú často v úspešných sporoch a ktoré menej. Máme za to, že s využitím systémov AI je možné okrem dátovej analýzy všeobecne veľmi výrazne zvýšiť efektivitu práce pri jednoduchých, ale aj ťažších rutinných úkonoch. Pomocou systémov AI je možné analyzovať obrovské množstvo informácií (napríklad zmlúv, alebo spisového materiálu) a spracovať z nich relevantné informácie, a to všetko v oveľa kratšom čase, ako bez využitia systémov AI. Zavádzanie AI do interných procesov v advokátskych kanceláriách (alebo aj v iných profesiách) so sebou prináša množstvo výhod, ale aj rizík a výziev. Považujeme za nevyhnutné poznamenať, že bez zabezpečenia dodržiavania etických štandardov (zamedzenie diskriminácie v procesoch AI), nie je možné systémy AI dobre a účelne využívať. Systémy AI nikdy nemôžu nahradiť človeka a jeho rozhodovanie v celom rozsahu. Považujeme za bezprostredne nevyhnutné, aby v automatizovaných procesoch mal vždy posledné slovo človek.

## Literatúra

ALALWAN, Jaffar. *Roles and Challenges of AI-Based Cybersecurity: A Case Study*. [online], dostupné na: <https://doi.org/10.35516/jjba.v18i3.196>

ATKINSON, Katie – BENCH – CAPON, Trevor. *Theory and Practice in AI and Law: A Response to Branting*. In: Legal Knowledge and Information Systems - JURIX 2005. [online], dostupné na: [https://www.researchgate.net/publication/220809989\\_Theory\\_and\\_Practice\\_in\\_AI\\_and\\_Law\\_A\\_Response\\_to\\_Branting](https://www.researchgate.net/publication/220809989_Theory_and_Practice_in_AI_and_Law_A_Response_to_Branting)

BRANTING, Karl – TIPPETT, Elizabeth – ALEXANDER, Charlotte – BAYER, Sam – MORAWSKI, Paul – BALHANA, Carlos – PFEIFER, Craig. *Predictive features of persuasive legal texts*. [online], dostupné na: <https://ceur-ws.org/Vol-2764/paper4.pdf>

ÇAMI, Laura – SKËNDERI, Xhon. *The Impact of AI on Determining the Applicable Law in Cross-Border Disputes Under the Rome II Regulation* [online], dostupné na: <https://doi.org/10.37745/giplr.2013/vol11n3110>

HARUTYUNYAN, Nona. *Hedging in Modern English*. [online], dostupné na: [https://journals.ysu.am/index.php/arm-fol-angl/article/download/Vol.9\\_No.1-2\\_2013\\_pp.093-099/Vol.9\\_No.1-2\\_2013\\_pp.093-099.pdf](https://journals.ysu.am/index.php/arm-fol-angl/article/download/Vol.9_No.1-2_2013_pp.093-099/Vol.9_No.1-2_2013_pp.093-099.pdf)

KASAP, Atilla. COPYRIGHT AND CREATIVE ARTIFICIAL INTELLIGENCE (AI) SYSTEMS: A TWENTY-FIRST CENTURY APPROACH TO AUTHORSHIP OF AI-GENERATED WORKS IN THE UNITED STATES [online], dostupné na: <https://osf.io/preprints/socarxiv/gnyha>

KRIŠTOFÍK, Andrej. *Vybrané aspekty práva na spravodlivý proces a automatizácia rozhodovania*. [online], dostupné na: [https://www.ilaw.cas.cz/upload/web/files/pravnik/issues/2023/1/3\\_Kristofik\\_39-48\\_1\\_2023.pdf](https://www.ilaw.cas.cz/upload/web/files/pravnik/issues/2023/1/3_Kristofik_39-48_1_2023.pdf)

MCDONALD, Louisa. *AI Systems and Liability: An Assessment of the Applicability of Strict Liability & A Case for Limited Legal Personhood for AI*. [online], dostupné na: <https://doi.org/10.15664/stalj.v3i1.2645>

PADHYE, Rohan. *AI-Driven Statutory Reasoning via Software Engineering Methods*. [online], dostupné na: <https://doi.org/10.48550/arXiv.2404.09868>

RAKOVSKÁ, Eva. *MODELOVANIE ZNALOSTÍ V MANAŽÉRSKYCH ÚLOHÁCH PROSTREDNÍCTVOM ONTOLOGIÍ A WEBOVÝCH SLUŽIEB*. Economics and Informatics. Vol 14, No 2 (2016). [online], dostupné na: [https://www.researchgate.net/publication/315810681\\_MODELOVANIE\\_ZNALOSTI\\_V\\_MANAZERSKYCH\\_ULOHACH\\_PROSTREDNICTVOM\\_ONTOLOGII\\_A\\_WEBOVYCH\\_SLUZIEB](https://www.researchgate.net/publication/315810681_MODELOVANIE_ZNALOSTI_V_MANAZERSKYCH_ULOHACH_PROSTREDNICTVOM_ONTOLOGII_A_WEBOVYCH_SLUZIEB)

Zákon č. 160/2015 Z. z. Civilný sporový poriadok

# AI REVOLÚCIA - INTEGRÁCIA TECHNOLOGIÍ UMELEJ INTELIGENCIE DO PSYCHOLOGICKÉHO VÝSKUMU

## *AI revolution - the integration of artificial intelligence technologies into psychological research*

Adam Pekarčík

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Článok sa zaoberá výzvami integrácie umelej inteligencie do psychologického výskumu, pričom skúma jej užitočnosť ale aj obavy spojené s potencionálnym rizikom. Úvod predstavuje úlohy umelej inteligencie v integrite výskumu. Nasledujúca kapitola objasňuje podstatu a vývojové trajektórie umelej inteligencie. V dvoch kľúčových kapitolách sa vymedzuje vplyv umelej inteligencie na metodológiu výskumu a jej prepojenie s publikovaním. Prehľad poukazuje na potenciál umelej inteligencie, avšak varuje pred nekvalifikovaným používaním nástrojov AI. Okrem toho, prehľad skúma vplyv AI na tvorbu obsahu, pričom zdôrazňuje jej schopnosť uľahčiť diskurz ale zároveň upozorňuje na sprievodné riziká, ako sú autorské dilemy a obavy o bezpečnosť údajov. Záver uvádza odporúčania pre uvážlivé využívanie umelej inteligencie a vyzýva k rozšírenému vzdelávaniu v oblasti umelej inteligencie v akademickom prostredí. Cieľom vzdelávania by mala byť podpora kritickej angažovanosti v AI, čím zdôrazňujeme nevyhnutnosť vyváženej integrácie AI pre pokrok v psychologickom výskume.

**Kľúčové slová:** *umelá inteligencia, psychologický výskum, AI revolúcia, riziká a výhody integrácie AI*

**Abstract:** This paper discusses the challenges of integrating artificial intelligence into psychological research, exploring its utility but also concerns about its potential risks. The introduction outlines the roles of artificial intelligence in research integrity. The following chapter explains the nature and developmental trajectories of AI. Two key chapters delineate the impact of AI on research methodology and its connection to publishing. The overview highlights the potential of AI, but warns against the unqualified use of AI tools. In addition, the review explores the impact of AI on content creation, highlighting its ability to facilitate discourse but also highlighting the attendant risks such as author dilemmas and data security concerns. It concludes with recommendations for the judicious use of AI and calls for widespread AI education in academic settings. The goal of education should be to foster critical engagement with AI, emphasizing the necessity of a balanced integration of AI to advance psychological research.

**Keywords:** *artificial intelligence, psychological research, AI revolution, risks and benefits of AI integration*

## Úvod

Umelá inteligencia (Artificial intelligence - AI) sa stala významným faktorom v rôznych výskumných oblastiach v ktorých ponúka nové metódy na rozvoj výskumu a praxe. AI naznačuje svoj potenciál, ktorý by mohol významne ovplyvniť mnohé odvetvia avšak aj keď umelá inteligencia môže zlepšiť výstupy v jednotlivých oblastiach, jej široké prijatie by mohlo potenciálne priniesť nové problémy a riziká. Noam Chomsky, osvedčený mysliteľ v oblasti vzdelávania, v nedávnom rozhovore naznačil, že programy, ktoré pomáhajú profesorom odhaľovať plagiáty existujú už roky. Teraz, keď je však tvorenie obsahu pomocou AI jednoduchšie, to bude náročnejšie. Hoci uznáva, že systémy podobné ChatGPT môžu mať pre niečo význam, nie je podľa neho jasné, pre čo a Chomsky vo všeobecnosti považuje využívanie umelej inteligencie za "spôsob, ako sa vyhnúť učeniu" a "v podstate high-tech plagiátorstvo" (Marshall, 2023). Je tomu však skutočne tak a AI pre nás nemá okrem plagiátorstva čo ponúknuť? O tom nech si čitateľ po preštudovaní tohto článku vytvorí úsudok sám. Množstvo publikácií z oblasti zaoberajúcej sa umelou inteligenciou sa v posledných rokoch dramaticky zvyšuje a integrácia AI s inými vednými disciplínami predstavuje nový smer, ktorým musí neodmysliteľne vykročiť každá vedná disciplína. V oblasti psychológie sa AI stáva čoraz rozšírenejšou a ovplyvňuje

mnohé aspekty výskumnej a odbornej praxe. Tento technologický pokrok v podobe umelej inteligencie mení akademický výskum, tvorbu obsahu, vyučovanie a učenie, ako aj niektoré psychologické služby nevídaným tempom (Munnik, Noorbhai, 2024). S rastúcim významom umelej inteligencie v psychologickom výskume rastie rovnako úmerne potreba dôkladného posúdenia výhod a nevýhod implikácie AI. Uskutočnenie rozsiahlej diskusie na akademickej úrovni v rámci viacerých vedných disciplín by malo byť už len otázkou času. Aj tento príspevok ma za úlohu prinášať základné poznatky potrebné na pochopenia súčasného stavu problematiky AI, poukazovať na prínosy a potencionálne nezamýšľané negatívne dôsledky používania AI vo výskume a publikačnom procese a vytvárať priestor na otvorenú diskusiu.

## Definovanie umelej inteligencie a jej vzostupu

Inovatívne technológie, ako sú strojové učenie, veľké dáta a umelá inteligencia (AI), v posledných rokoch čelili obrovským zmenám paradigmy (Zhou a kol., 2022) kedy sa z abstraktných a teoretických konceptov stali nástroje každodenného použitia. Za posledných sedem desaťročí sa v oblasti technológie umelej inteligencie vyprofilovalo hneď niekoľko významných výskumných smerov, pričom každý z nich vychádza z iných intelektuálnych základov a vytvára rozličné smerovanie (Luger, 2023). Vplyvom technologického pokroku sa vedné disciplíny zaoberajúce sa umelou inteligenciou (AI) zameriavajú na teoretické a aplikované štúdium počítačových systémov schopných vykonávať úlohy, ktoré sa zvyčajne spájali so schopnosťami ľudskej inteligencie, ako napríklad vizuálne vnímanie, rozpoznávanie reči a rozhodovanie (Zhou a kol., 2022). Výskumníci v tejto oblasti, pracujúci s reprezentáciami, algoritmi a jazykmi navrhujú a konštruujú mechanizmy, ktoré napodobňujú inteligentné správanie. Prostredníctvom experimentovania potom posudzujú výpočtové schopnosti modelov riešiť problémy a skúmajú porozumenie týchto aplikácií (Luger, 2023). Niektorí teoretici však predpokladajú, že AI nie je plne schopné vykonávať tieto funkcie a iba substituuje kognitívne schopnosti ľudí (Balasubramanian, Ye, Xu, 2022). Tieto nejasné predpoklady vychádzajú práve z jedinečných a nelimitovaných vlastností AI (Krakowski, Luger, Raisch, 2023). Kde sú však hranice pôsobenia AI? Na rozdiel od predchádzajúcich technológií s ktorými sme sa v priebehu nášho vývinu mohli stretnúť, AI umožňuje strojom učiť sa a konať autonómne (Balasubramanian a kol., 2023). Strojové učenie je podmnožinou umelej inteligencie, ktorá umožňuje počítačovým systémom zlepšovať výkon v podobe interakcie s používateľom prostredníctvom samoučenia zo vstupných údajov (Munnik, Noorbhai, 2024). Aj tieto funkcie AI následne pomáhajú a umožňujú týmto strojom komunikovať s ľuďmi pri rozhodovaní a riešení problémov (Murray a kol., 2021). Cieľom výskumu umelej inteligencie je vybaviť technológiu rôznymi intelektuálnymi schopnosťami a použiť inovatívne výpočtové techniky na riešenie zložitých problémov. V dôsledku toho má umelá inteligencia potenciál nahradiť aj doplniť kognitívne schopnosti ľudí (Raisch, Krakowski, 2021). Najlepším reprezentantom technológie umelej inteligencie v psychologickom výskume sú AI Chatboty, ktoré obsahujú komponenty navrhnuté tak, aby simulovali ľudské kognitívne funkcie, ako je spracovanie informácií, porozumenie jazyku a úsudok. Chatboti, ktorý dokážu vykonávať určité úlohy a simulujú ľudskú konverzáciu sú čoraz rozšírenejší vo vzdelávacom a profesionálnom kontexte. Umelá inteligencia má potenciál výrazne ovplyvniť mnohé odvetvia prostredníctvom automatizácie úloh, vykonávania analýz údajov a rozhodovania na základe vzorov a trendov rozoznaných z veľkých súborov údajov (Munnik, Noorbhai, 2024). Takýto vplyv AI v Psychológii v sebe zahŕňa celý rad aplikácií od zlepšenia empirickej analýzy až po ovplyvnenie chápania ľudskej psychológie. Vývoj a uplatňovanie nových technológií do výskumu spôsobom, ktorý vyváži prínosy s rizikami, si bude vyžadovať dôkladné zváženie a rozsiahlu diskusiu.

## Integrácia technológií umelej inteligencie do psychologického výskumu

Vzájomná interferencia Psychológie a AI je oveľa intenzívnejšia ako sa na prvý pohľad javí. Psychologická umelá inteligencia využíva princípy psychológie na vývoj počítačových modelov a práve psychologický prístup k umelej inteligencii môže uľahčiť návrh účinných a interpretovateľných algoritmov (Gigerenzer, 2023). Ďalším zo zaujímavých výsledkov interakcie AI a psychológie je Artificial psychology. Teória vychádza z informačnej vedy, ktorá zastrešuje výpočty

a algoritmy ľudského kognitívneho a psychologického správania a činností (Zhao, Wu, Zhou, Wang, Jia, 2022). Aplikácia tejto teórie zahŕňa výrobu umelo inteligentných strojov s pocitmi, emóciami a inteligenciou podobnou ľudskému mozgu. Artificial psychology, ktorá využíva psychologické poznatky na navrhovanie algoritmov, prispieva k rozhodovaniu v neistých situáciách a môže viesť k vývoju efektívnych a transparentných algoritmov (Gigerenzer, 2023). Jej cieľom je podporiť rozvoj umelej inteligencie a poskytnúť počítačom pokročilé ľudské kognitívne schopnosti, aby počítače mohli rozpoznávať emócie, chápať ľudské pocity a nakoniec dosiahnuť dialóg a empatiu s ľuďmi a inou umelou inteligenciou. Táto etapa vytvárania umelo inteligentnej bytosti sa považuje za najsofistikovanejšiu etapu AI (Zhao, Wu, Zhou, Wang, Jia, 2022). Existuje však istá vážna obava o budúcnosť tohto vedného smeru. Hoci boli stanovené etické smernice, ktorými sa má veda riadiť pri vytváraní podobného systému avšak určite má zmysel zastaviť sa a zvážiť etiku a reakciu človeka na umelú inteligenciu, ktorej vývoj smeruje k nadľudskej technológii (Abraham, 2021). Využitie psychológie ako vedy v zdokonaľovaní umelej inteligencie a snahe jej pripodobnenia s ľudskými vlastnosťami v určitých smeroch prináša obavy avšak opačný proces, a teda obohacovanie psychológie umelou inteligenciou už také démonické nie je. Potenciál umelej inteligencie v psychologickom výskume je síce sľubný, ale jej transformačný vplyv nemusí byť taký výrazný ako v prípadoch kombinácií s inými vednými disciplínami vzhľadom na zložité a jedinečné faktory charakteristické pre psychologický výskum. Munnik a Noorbhai (2024) naznačujú potenciálne využitie AI v psychologickom výskume v podobe poskytnutia nových pohľadov a perspektív. Prostredníctvom AI sme schopní odhaliť vzory a vzťahy, ktoré mohli byť prehliadnuté a tým AI ponúka možnosť zvýšenia efektívnosti výskumu. Pomocou umelej inteligencie môžeme zlepšiť pochopenie nálad a analyzovať spokojnosť jednotlivcov, čo sa môže uplatniť v psychologickom výskume pri pochopení nálad pacientov a ich spokojnosti s liečbou (Mustak, Salminen, Plé, Wirtz, 2021). Technológie umelej inteligencie sa uplatňujú v klinickej psychologicko-praxi vrátane klinickej odbornej prípravy, liečby, psychologického hodnotenia a klinického rozhodovania, čo má vplyv na transformáciu starostlivosti o duševné zdravie (Luxton, 2014). Umelá inteligencia a strojové učenie (ML) majú transformačný vplyv na ľudskú psychológiu. V experimentoch ovplyvňujú kognitívne procesy, emocionálne stavy, sociálne interakcie a ponúkajú personalizované terapie (Jyoti, Yadav, Pal, Rahul, Jha, 2023). Umelá inteligencia môže zvýšiť psychologický kapitál tým, že uspokojí základné psychologické potreby, ako sú kompetencia, autonómia a konektivita, čo naznačuje jej pozitívny vplyv na individuálnej úrovni pri práci s jednotlivcom (Verleysen, Lambrechts, Van Acker, 2015). Inovatívne výskumné metódy založené na umelej inteligencii, ako napríklad technológia rozpoznávania výrazu tváre, zlepšujú psychologický výskum tým, že riešia nepresnosti tradičných metód a ťažkosti pri modelovaní psychologických javov, čím napomáhajú rozvoju psychometrického výskumu (King, ChatGPT, 2023).

Ako sme spomínali skôr, Chatboty sú jedným z najvyužívanejších softvérov AI v psychologickom výskume. Chatboty riadené umelou inteligenciou (AI chatbots) sú konverzační agenti, ktorí napodobňujú ľudskú interakciu prostredníctvom písomných, ústnych a vizuálnych foriem komunikácie s používateľom (Laranjo a kol., 2018). Celková flexibilita konverzácie, ktorú ponúkajú chatboty AI, pokiaľ ide o komunikáciu kedykoľvek a odkiaľkoľvek, ponúka bezpečný priestor na uľahčenie interakcie (Galvão Gomes da Silva, a kol., 2018). So zvýšeným prístupom k technologickým zariadeniam (napr. smartfón a počítač) a internetu ponúkajú chatboty potenciál poskytovať dostupné, autonómne a pútavé informácie a služby súvisiace so zdravím, čo môže byť zaujímavým prvkom pre intervencie podporované technológiou (Aggarwal a kol., 2023) a experimentálnu aplikáciu v psychologickom výskume. Celkovo možno konštatovať, že AI chatboti majú potenciál efektívne poskytovať intervencie, ktoré podporujú rôzne zmeny správania v psychologických výskumoch. S podobnými a komplexnými závermi prichádzajú systematické prehľady (metaanalýzy), ktorých cieľom bolo zhodnotiť uskutočniteľnosť, účinnosť a intervenčné charakteristiky AI chatbotov. Systematické prehľady od Aggarwal, a kol., (2023) a od Oh a kol., (2021) konštatujú, že AI je novovznikajúcou oblasťou výskumu v oblasti psychológie a očakáva sa, že bude exponenciálne rásť. Štandardizácia a využívanie chatbotov pri psychologickom výskume je

teda v blízkej budúcnosti zaručená. AI však nevstupuje do výskumu len v podobe metodologického nástroja ale aj do procesu samotnej tvorby publikácie.

## Riziká a výhody implikácie umelej inteligencie v publikačnom procese

Veľké jazykové modely (Large Language Models - LLM) sú systémy strojového učenia vyškolené na čoraz väčších súboroch údajov, ktoré dokážu generovať výstupy zdanlivo nerozoznateľné od obsahu vytvoreného človekom (generatívna umelá inteligencia) (Fabiani, Keil, Gatzke-Kopp, 2023). Takáto demonštratívna sila AI vyvoláva etické obavy, najmä v súvislosti s vlastníctvom a autorstvom obsahu vytvoreného umelou inteligenciou, možnými predsudkami, chybami a falošnými informáciami (Munnik, Noorbhai, 2024). Neodmysliteľnou súčasťou AI je algoritmické skreslenie. Skreslenie z rôznych zdrojov, ako sú údaje, s ktorými bol systém naprogramovaný, vedomé alebo nevedomé rozhodnutia vývojárov systému alebo prostredníctvom spätnej väzby pri práci s používateľmi (Rozado, 2023). Výstup AI je takto generovaný na základe vzorov v údajoch, na ktorých bol vycvičený, a je náročné zistiť, ako model dospel k svojmu záveru, čo sťažuje uchopenie výstupu modelu a určenie, či je výstup presný a relevantný (Dwivedi a kol. 2023). Táto neistota môže viesť k šíreniu dezinformácií. Využitie umelej inteligencie si v súčasnosti nevyžaduje striktnú znalosť alebo dodržiavanie komplexných postupov, ako nám často pripomínajú mnohí inžinieri umelej inteligencie. S jednoduchosťou použitia je využívanie nástrojov AI dostupné a zrejmé no menej zrejmé sú riziká použitia softvéru, ktorý sa zdá, že "funguje" (Luger, 2023). K rastúcemu množstvu literatúry, ktorá poukazuje na potenciálne negatívne dôsledky zaujatosti systémov umelej inteligencie prispieva aj Rozado (2023), ktorý dokazuje, že umelá inteligencia (ChatGPT) môže vykazovať politickú (ľavicovo orientovanú) zaujatosť. AI nadobúda v publikačnom procese prístup k citlivým údajom publicistov čo môže predstavovať ďalšiu z výziev ktorým je potrebné pri práci s AI čeliť. Je obzvlášť dôležité zabezpečiť, aby boli tieto údaje chránené a používané v súlade s platnými zákonmi o ochrane osobných údajov (Dwivedi a kol. 2023). Ešte viac znepokojujúcejšie je, že AI v podobe chatbotov často zápasí s mätúco formulovanými otázkami, ktoré môžu viesť k nesprávnym odpovediam a spolu s veľmi dobrým vytváraním "presvedčivo znejúcich nezmyslov, zbavených pravdy" (Mollick, Mollick 2022, s. 5) je publikovanie s AI riskantné. Na riešenie algoritmickéj zaujatosti je potrebné vyvinúť komplexnú stratégiu, ktorá zohľadní všetky relevantné premenné, aby sa identifikovala a znížila zaujatosť v systémoch umelej inteligencie (Rozado, 2023). Vzhľadom na tento vývoj editori a recenzenti diskutujú o tom, ako vytvoriť spravodlivé usmernenia pre používanie obsahu generovaného umelou inteligenciou v publikáciách a výskume. Podľa výskumnej a publikačnej etiky sú niektoré aplikácie AI prípustné, zatiaľ čo iné nie. Autori musia vo svojich publikáciách výslovne uviesť akékoľvek použitie umelej inteligencie (AI), pretože transparentnosť je kľúčová (Fabiani, Keil a Gatzke-Kopp, 2023).

Prebiehajúca diskusia týkajúca sa aplikácií AI vo všetkých aspektoch prípravy a tvorby akademických článkov rovnako poukazuje aj na kladné stránky integrácie AI v publikačnej činnosti. Munnik a Noorbhai (2024) naznačujú pozitívny význam umelej inteligencie v psychologickom výskume a vedení vedeckých prác vďaka schopnostiam, ako je preklad jazyka, sumarizácia a analýza textu. Umelá inteligencia môže napríklad uľahčiť publikačný proces vykonávaním jazykových kontrol a kontrol plagiátorstva písomných prác. Umelá inteligencia dokáže vytvárať komplexné vety, pridávať jedinečné konštrukcie, opravovať gramatické chyby a poskytovať terminológiu vyššej úrovne a argumenty na podporu tvrdení na základe používateľom definovaných faktorov. Chatboty, ako napríklad ChatGPT a Gemini, sú príkladmi tejto technológie v praxi. Umelá inteligencia je dokonca schopná dosiahnuť potrebnú úroveň kurzov na získanie titulu Wharton MBA, ako dokazuje Terwiesch (2023). Dwivedi a kol. (2023) sa v súčasnosti domnievajú, že generatívna AI môže urýchliť výskum poskytnutím nástrojov, ktoré umožňujú výskumníkovi prehodnotiť publikáciu vo svetle jeho skúseností a novo získaných poznatkov. AI môže byť obzvlášť užitočná pri tvorbe diskusií a záverov, kde je prehodnotenie existujúcich poznatkov vhodnou príležitosťou na uplatnenie umelej inteligencie. Generatívna umelá inteligencia môže zohrávať dôležitú úlohu pri analýze dostupnej literatúry a môže ponúknuť mapy literatúry (rešerš). Výskumné nástroje AI, ako napríklad Connected Papers, môžu na rozdiel od manuálneho vyhľadávania v databázach integrovať niekoľko databáz a



vytvárať mapy súvisiacich článkov na základe vopred stanovených spoločných znakov. Výsledkom je, že proces výskumu sa môže urýchliť tým, že generatívna umelá inteligencia pracuje spolu s výskumníkom a iteratívne odhaľuje ťažkosti a spolu s výskumníkom ich dokáže riešiť. Generatívna AI bude veľmi užitočná v mnohých fázach výskumného procesu počnúc tvorbou prehľadu literatúry až po konštruovanie záveru práce.

Rovnako ako má aplikácia umelej inteligencie do psychológie a naopak svoje výhody a nevýhody, Lampinen, Chan, Santoro a Hill (2021) zdôrazňujú vzájomné špecifiká týchto vedných disciplín v oblasti publikovania výskumu. AI publikuje rýchlo prostredníctvom preprintov a konferenčných zborníkov. Zverejňovaním nového výskumu môže vedecká komunita zdieľať poznatky inkluzívne a autori môžu rýchlo získať dôkladnú spätnú väzbu. V psychológii sa publikujú dôkladnejšie články, ktoré spájajú výsledky rôznych štúdií a ponúkajú dôkladné a hĺbkové skúmanie tém. Uvedené formy publikovania si však nemusia navzájom konkurovať. Napriek rastúcej potrebe validácie a dôkladnejšieho zovšeobecnenia v psychológii, rýchle zdieľanie informácií v rámci vedeckých komunit uľahčuje dynamické skúmanie viacerých myšlienok bez obmedzenia adekvátnosti formy prezentácie. Tento proces rýchleho zdieľania nekompletných publikácií v podobe preprintov by mohol vyústiť do pomalého ale o to komplexnejšieho publikovania vo forme integratívnych prehľadov a metaanalýz.

## Záver

Vplyv umelej inteligencie na vzdelávanie, výskum a prax v oblasti psychológie je predmetom mnohých diskusií. Umelá inteligencia sa ukázala ako cenný nástroj na posilnenie psychologického výskumu tým, že ponúka nové zdroje v oblasti publikovania, metodologického pokroku a intervencie. Aj keď možno nezvráti výskum do takej miery, ako to je v iných oblastiach, jej prínos je významný pri posilňovaní empirického skúmania a rozširovaní rozsahu psychologických metód. Využitím nástrojov umelej inteligencie sa akademickí pracovníci budú môcť viac sústrediť na intelektuálne úsilie vyžadujúce nadanie vyššieho rádu. Je reálne, že v blízkej budúcnosti budú všetky vedecké časopisy poskytovať autorom rady, ako správne a nesprávne používať generatívne technológie AI. Predstava, že práca odborníkov v psychologickom výskume sa môže obmedziť len na integráciu rôznych softvérov s umelou inteligenciou je znepokojujúca. Hoci je umelá inteligencia čoraz užitočnejšia pri tvorbe obsahu, nemožno však ignorovať jej obmedzenia a rovnako aj zložitost' psychológie. Možné riešenie tejto neistej budúcnosti zahŕňa zabezpečenie toho, aby AI bola len doplnkovým nástrojom a pomocníkom, ktorý dopĺňa výskumníkov, a nie ich úplne nahrádza. Dosiahnutie tohto stavu pomocou prepracovaných predpisov na zabezpečenie etického a bezpečného používania AI vnímame ako jednu z potencionálnych alternatív. Z metodologického hľadiska odporúčame rozvážne a strategicky aplikovať AI do výskumu so zámerom zosúladenia prínosu AI s cieľmi štúdie. Dôležité je následné dôkladné overovanie zistení takejto interakcie AI s výskumom. Rovnako vnímame ako prospešné vyškolenie výskumníkov v technikách AI a podporovať rast ich kompetencií v oblasti využívania tejto technológie. Zavedenie noriem na hodnotenie algoritmov AI je súčasťou zabezpečenia kvality, ktorá je tiež veľmi dôležitá. Pri obsahu, ktorý vytvorila umelá inteligencia je kľúčové kritické hodnotenie obsahu so zameraním na správnosť, koherenciu a etické otázky. Potrebne je aj stanovenie kritérií autorstva a zabezpečenie náležitého uznania a zodpovednosti pre systémy AI. Taktiež odporúčame vyriešiť plagiátorstvo prijatím náležitých opatrení a transparentnou komunikáciou s akademickou verejnosťou. Vo všeobecnosti je veľmi dôležité diskutovať o morálnych dilemách, ktoré vyvoláva začlenenie umelej inteligencie do psychologického štúdia. Vysokým školám odporúčame, aby upravili svoje programy tak, aby pripravovali začínajúcich odborníkov v oblasti psychológie na kritické myslenie a kreatívnejší prístup - prípadne začlenením AI do ich hybridnej praxe.

## Literatúra

1. Abraham, A. (2021). Psychology in AI Stance. *Available at SSRN 3873725*.
2. Aggarwal, A., Tam, C. C., Wu, D., Li, X., & Qiao, S. (2023). Artificial intelligence–based chatbots for promoting health behavioral changes: systematic review. *Journal of medical Internet research, 25*, e40789.
3. Balasubramanian, N., Ye, Y., & Xu, M. (2022). Substituting human decision-making with machine learning: Implications for organizational learning. *Academy of Management Review, 47*(3), 448-465.
4. Balasubramanian, S., Shukla, V., Islam, N., Upadhyay, A., & Duong, L. (2023). Applying artificial intelligence in healthcare: lessons from the COVID-19 pandemic. *International Journal of Production Research, 1*-34.
5. Dwivedi, Y. K., Kshetri, N., Hughes, L., Slade, E. L., Jeyaraj, A., Kar, A. K., & Wright, R. (2023). “So what if ChatGPT wrote it?” Multidisciplinary perspectives on opportunities, challenges and implications of generative conversational AI for research, practice and policy. *International Journal of Information Management, 71*, 102642.
6. Fabiani, M., Keil, A., & Gatzke-Kopp, L. (2023). The use of artificial intelligence tools in publishing. *Psychophysiology, 60*(12), e14441.
7. Galvão Gomes da Silva, J., Kavanagh, D. J., Belpaeme, T., Taylor, L., Beeson, K., & Andrade, J. (2018). Experiences of a motivational interview delivered by a robot: qualitative study. *Journal of medical Internet research, 20*(5), e116.
8. Gigerenzer, G. (2023). Psychological AI: Designing algorithms informed by human psychology. *Perspectives on Psychological Science, 17*456916231180597.
9. Jyoti, A., Yadav, V., Pal, A., Rahul, M., & Jha, S. (2023). The Transformative Impact of AI and Machine Learning on Human Psychology. *Recent Advances in Computer Science and Communications*.
10. King, M. R., & ChatGPT. (2023). A conversation on artificial intelligence, chatbots, and plagiarism in higher education. *Cellular and molecular bioengineering, 16*(1), 1-2.
11. Krakowski, S., Luger, J., & Raisch, S. (2023). Artificial intelligence and the changing sources of competitive advantage. *Strategic Management Journal, 44*(6), 1425-1452.
12. Lampinen, A. K., Chan, S. C., Santoro, A., & Hill, F. (2021). Publishing fast and slow: A path toward generalizability in psychology and AI.
13. Laranjo, L., Dunn, A. G., Tong, H. L., Kocaballi, A. B., Chen, J., Bashir, R., ... & Coiera, E. (2018). Conversational agents in healthcare: a systematic review. *Journal of the American Medical Informatics Association, 25*(9), 1248-1258.
14. Luger, G. F. (2023). A brief history and foundations for modern artificial intelligence. *International Journal of Semantic Computing, 17*(01), 143-170.
15. Luxton, D. D. (2014). Artificial intelligence in psychological practice: Current and future applications and implications. *Professional Psychology: Research and Practice, 45*(5), 332.

16. Marshall, C. (2023). *Noam Chomsky on ChatGPT: It's "Basically High-Tech Plagiarism" and "a Way of Avoiding Learning."* Open Culture. <https://www.openculture.com/2023/02/noam-chomsky-on-chatgpt.html>
17. Mollick, E. R., & Mollick, L. (2022). New modes of learning enabled by ai chatbots: Three methods and assignments. *Available at SSRN 4300783*.
18. Munnik, J. B., & Noorbhai, H. (2024). Artificial intelligence (AI) in psychology: a commentary on AI's emerging role and the ensuing conversation. *South African Journal of Psychology, 54*(1), 130-137.
19. Mustak, M., Salminen, J., Plé, L., & Wirtz, J. (2021). Artificial intelligence in marketing: Topic modeling, scientometric analysis, and research agenda. *Journal of Business Research, 124*, 389-404.
20. Oh, Y. J., Zhang, J., Fang, M. L., & Fukuoka, Y. (2021). A systematic review of artificial intelligence chatbots for promoting physical activity, healthy diet, and weight loss. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity, 18*, 1-25.
21. Raisch, S., & Krakowski, S. (2021). Artificial intelligence and management: The automation–augmentation paradox. *Academy of management review, 46*(1), 192-210.
22. Rozado, D. (2023). The political biases of chatgpt. *Social Sciences, 12*(3), 148.
23. Terwiesch, C. (2023). Would chat GPT3 get a Wharton MBA. A prediction based on its performance in the operations management course.
24. Verleysen, B., Lambrechts, F., & Van Acker, F. (2015). Building psychological capital with appreciative inquiry: Investigating the mediating role of basic psychological need satisfaction. *The Journal of Applied Behavioral Science, 51*(1), 10-35.
25. Zhao, J., Wu, M., Zhou, L., Wang, X., & Jia, J. (2022). Cognitive psychology-based artificial intelligence review. *Frontiers in neuroscience, 16*, 1024316.
26. Zhou, Y., Zhao, W., Feng, Y., Niu, X., Dong, Y., & Chen, Y. (2022). Artificial intelligence-assisted digital immunoassay based on a programmable-particle-decoding technique for multitarget ultrasensitive detection. *Analytical Chemistry, 95*(2), 1589-1598.

# POSTAVENIE KRIMINÁLNEHO ÚRADU FINANČNEJ SPRÁVY PRI ODHAĽOVANÍ TRESTNEJ ČINNOSTI

*The role of the Financial Administration Criminal Office in crime detection*

Vladimír Petrila

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta*

**Abstrakt:** V procese odhaľovania daňovej trestnej činnosti zohrávajú rôzne faktory dôležitú úlohu v rôznych štádiách a fázach konania a tento proces často závisí väčšmi na špecifických informáciách od vybraných subjektov než na samotných trestných oznámeniach. Kvalita odhaľovania vymedzenej protiprávnej činnosti je ovplyvnená najmä vďaka informáciám poskytovaným kontrolnými, dozornými a ďalšími orgánmi, ktoré majú povinnosť podať oznámenie o podozrení, že existujú skutočnosti nasvedčujúce spáchanie trestného činu alebo priamych dôkazoch o trestnom čine. Pre účely spracovania príspevku sme si v týchto intenciách vybrali subjekt, ktorý tvorí operatívnu zložku v rámci štruktúry Finančnej správy Slovenskej republiky, a ktorý má pri odhaľovaní vysoko sofistikovanej trestnej činnosti v oblasti daní a ciel dôležité postavenie, a to Kriminálny úrad finančnej správy.

**Kľúčové slová:** *Finančná správa Slovenskej republiky, Kriminálny úrad finančnej správy, odhaľovanie trestnej činnosti, DPH, Trestný poriadok.*

**Abstract:** In the process of uncovering tax criminal activity, various factors play a crucial role at different stages and phases of the proceedings, with this process often relying more on specific information from selected entities than on the criminal reports themselves. The quality of uncovering defined unlawful activities is primarily influenced by information provided by supervisory, oversight, and other bodies obligated to report suspicions that there are circumstances indicating the commission of a criminal offense or direct evidence of the offense. For the purpose of this contribution, we have selected an entity that forms an operational component of the structure of the Financial Administration of the Slovak Republic and plays a crucial role in uncovering highly sophisticated tax and customs criminal activities, namely the Criminal Office of the Financial Administration.

**Keywords:** *The Financial Administration of the Slovak Republic, Criminal Office of the Financial Administration, Crime Detection, VAT, Criminal Code.*

## Úvod

Daňové úniky predstavujú komplexný spoločenský problém, ktorým sa jednotlivé štáty zaoberajú na rôznych úrovniach. Podľa ekonomických odborníkov v Európskej únii každoročne uniká z európskej ekonomiky miliarda eur v dôsledku daňových podvodov a únikov. Tento jav má vplyv na každého občana, preto je nevyhnutné venovať mu náležitú pozornosť. Vyšetrovanie daňových trestných činov v trestnom konaní predstavuje jednu z najrozsiahljších problematik z hľadiska konkrétnych vyšetrovateľských postupov v nadväznosti na daňové konanie. Náš príspevok sa zameriava na analýzu činnosti pri odhaľovaní daňových únikov na národnej úrovni, a to s intenciami na kľúčový a nevyhnutný štátny orgán Finančnú správu Slovenskej republiky (ďalej aj len ako „FSSR“), resp. s poukazom na preddavkovú organizáciu - Kriminálny úrad finančnej správy (ďalej aj len ako „KÚFS“). Cieľom príspevku je priblížiť postavenie a pôsobnosť KÚFS pri odhaľovaní protiprávnej trestnej činnosti vo vybranej oblasti, a to s poukazom na trestnoprávne oprávnenia KÚFS so zameraním na aktuálny stav pri podávaní trestných oznámení, na základe vlastnej operatívnej činnosti. FSSR sa ako kľúčový štátny orgán, ktorý zabezpečuje správny výber daní sústavne snaží o čo najefektívnejšie vykonávanie svojich oprávnení, ako je napr. centralizácia určitých procesov, či zmeny interných výkonov alebo za medzník je možní považovať napríklad aj prechod na výlučne elektronickú komunikáciu a pod. (Daňovníctvo: daňová teória a politika I., 2018). Z uvedeného dôvodu dochádza do veľkej miery v krátkych časových úsekoch k legislatívnym zmenám, ktoré si bližšie pri KÚFS priblížime až po súčasný stav a možné de lege ferenda opatrenia.

## Zakotvenie KÚFS v slovenskom právnom systéme

Úvodom je nevyhnutné zdôrazniť, že dokazovanie v zmysle noriem daňového práva je dôležité oddeliť od dokazovania v zmysle noriem trestného práva, aj napriek tým skutočnostiam, že vykonané dokazovanie v rámci administratívneho – daňového konania je nevyhnutným pre trestní konania, od ktorého sa ďalej konanie odvíja a je determinované účelom, základnými zásadami a dôkaznými prostriedkami, ktoré boli aplikované v daňovom konaní (Význam dokazovania v daňovom konaní pre trestné konanie, 2017). V súčasnosti tvorí KÚFS „daňovú policajnú zložku“ na vybranom úseku, ktorá má procesnú subjektivitu aj v zmysle Trestného poriadku. Takéto postavenie Trestný poriadok, resp. Zákon č. 35/2019 Z. z. o finančnej správe a doplnení niektorých zákonov (ďalej aj len ako „Zákon o finančnej správe“) dlhodobo nepriznával.

Predchodcom Kriminálneho úradu finančnej správy bol Colný kriminálny úrad, ktorý vznikol 01. januára 2005 nadobudnutím účinnosti zákona č. 652/2004 Z. z. o orgánoch štátnej správy v colníctve a o zmene a doplnení niektorých zákonov. Colný kriminálny úrad (ďalej aj len ako „CKÚ“) do vysokej miery zastrešoval totožnú agendu, akou sa v súčasnosti zaoberá KÚFS, a teda:

- plnil úlohy koordinačnej jednotky,
- zabezpečoval úlohy v oblasti odhaľovania a vyšetrovania trestných činov spáchaných v oblasti daní a ciel,
- pátral po konkrétnych osobách, ktoré porušili daňové alebo colné predpisy,
- či plnil a zabezpečoval úlohy v oblasti boja proti nedovolenému dovozu a vývozu nebezpečných látok. (Zákon č. 652/2004 Z. z. o orgánoch štátnej správy v colníctve a o zmene a doplnení niektorých zákonov, 2015).

Pri dotknutej oblasti pôsobnosti je paradoxné to, že do roku mája 2009, resp. októbra 2010 nemal CKÚ explicitne stanovenú trestnoprávnu kompetenciu, a to aj napriek tej skutočnosti, že Zákonom č. 422/2002 Z. z., ktorým sa mení a dopĺňa zákon č. 141/1961 Zb. o trestnom konaní súdnom (Trestný poriadok) v znení neskorších predpisov a o zmene a doplnení niektorých zákonov bolo upravené skrátené vyšetrovanie, ktoré oprávňovalo poverené colné orgány viesť skrátené vyšetrovanie pri trestných činoch, pri ktorých zákon neustanovuje trest prevyšujúcich 3 roky, a to v súvislosti s porušením colných alebo daňových predpisov. Až následnou novelou Trestného poriadku zákonodarcia upravil procesné postavenie v trestnom konaní aplikovať vyšetrovacie kompetencie na druhovo určené trestné činy podľa Dodatku č. 4 Dohody medzi Ministerstvom vnútra Slovenskej republiky a Ministerstvom financií Slovenskej republiky zo dňa 13.03.2007. Išlo o úzku oblasť trestných činov (ktorými sa zaoberá aj súčasný KÚFS), a to konkrétne o:

- nepovolenú výrobu liehu podľa ustanovenia § 253 Trestného zákona,
- porušovanie predpisov o obehu tovaru v styku s cudzinou podľa ustanovenia § 254 Trestného zákona,
- falšovanie a pozmeňovanie kontrolných technických opatrení na označenie tovaru podľa ustanovenia § 275 Trestného zákona,
- skrátenie dane a poistného podľa ustanovenia § 276 Trestného zákona,
- neodvedenie dane a poistného podľa ustanovenia § 277 Trestného zákona,
- daňový podvod podľa ustanovenia § 277a Trestného zákona,
- nezaplatenie dane podľa ustanovenia § 278 Trestného zákona,
- marenie výkonu správy daní podľa ustanovenia § 278a Trestného zákona,
- porušenie predpisov o štátnych technických opatreniach na označenie tovaru podľa ustanovenia § 279 Trestného zákona,
- porušovanie práv k ochrannej známke, označeniu pôvodu výrobku a obchodnému menu podľa ustanovenia § 281 Trestného zákona,
- neoprávnené nakladanie s odpadmi podľa ustanovenia § 302 Trestného zákona,
- porušovanie ochrany rastlín a živočíchov podľa ustanovenia § 305 Trestného zákona,
- zneužívanie právomoci verejného činiteľa podľa ustanovenia § 326 Trestného zákona a
- marenie úlohy verejným činiteľom § 327 podľa ustanovenia Trestného zákona.

Momentom spojenia daňovej správy a colnej správy bol vytvorený legislatívny stav, ktorý si vyžadoval upraviť procesné postavenie CKÚ, keďže išlo o štrukturálne rozsiahlu inštitucionálnu zmenu. Cieľom spojenia daňovej správy a colnej správ pod jednotnú finančnú správu bolo posilnenie boja s ekonomickou trestnou činnosťou – primárne so zameraním na daň z pridanej hodnoty. (Konceptia reformy daňovej a colnej správy s výhľadom zjednotenia výberu daní, cla a poistných odvodov, 2008).

KÚFS ako nástupca CKÚ vznikol dňa 01.01.2012. Právnym titulom vzniku vybraného inštitútu bol zákon č. 333/2011 Z. z. o orgánoch štátnej správy v oblasti daní, poplatkov a colníctva. S úmyslom zachovať základné princípy novej stratégie KÚFS boli dňa 15. októbra 2012 rozšírené jeho úlohy a právomoci o odhaľovanie trestných činov spojených s porušením predpisov týkajúcich sa DPH. Táto legislatívna zmena nadobudla platnosť od 1. januára 2013. KÚFS mal obmedzené kompetencie v oblasti odhaľovania a vyšetrovania ekonomickej trestnej činnosti, ktoré sa týkajú porušení colných a daňových predpisov v spojitosti so spotrebnými daňami a DPH pri dovoze. Ako právny nástupca CKÚ, prevzal aj jeho právomoci v boji proti nelegálnemu dovozu, vývozu a tranzitu omamných a psychotropných látok, prekurzorov, rádioaktívnych materiálov a ďalších nebezpečných materiálov, ako aj v ochrane chránených živočíchov a rastlín. Organizačné a personálne zmeny značne ovplyvnili aj spoluprácu na národnej i medzinárodnej úrovni, ako aj systém školenia a výcviku. V rámci FSSR sa KÚFS zameriava na spoluprácu s daňovými úradmi a odbornými útvarmi Finančného riaditeľstva Slovenskej republiky (ďalej aj len ako „FRSR“), a intenzívne sa angažuje aj v spolupráci s colnými úradmi, hlavne v oblasti boja proti podvodom so spotrebnou daňou z minerálnych olejov. V medzirezortnej spolupráci sa prioritne rozvíja spolupráca s Národnou kriminálnou agentúrou Prezídia Policajného zboru, v rámci ktorej sa uskutočnili významné spoločné akcie v rámci projektu „daňová kobra“, ktorá vznikla na základe dohody o vzájomnej spolupráci podpísanej medzi Ministerstvom vnútra Slovenskej republiky a Ministerstvom financií Slovenskej republiky.

KÚFS je preddavkovou organizáciou, ktorá je napojená na štátny rozpočet FRSR. Aktuálna štruktúra FSSR po zjednotení s daňovou a colnou správou je tvorená zo štyroch samostatných autonómnych orgánov, a to:

- Finančné riaditeľstvo,
- Colné úrady,
- Daňové úrady a
- Kriminálny úrad Finančnej správy. (Zákon č. 35/2019 Z. z. o finančnej správe a o zmene a doplnení niektorých zákonov, 2019)

## Postavenie a pôsobnosť KÚFS

Práva a povinnosti KÚFS a jeho postavenie v právnom systéme Slovenskej republiky je v súčasnosti upravené v ustanovení § 9 Zákona o finančnej správe. Je pozoruhodné uviesť, že orgán, ktorého priama kompetencia spočívala už od jeho samotného vzniku vo vyšetrovaní protiprávnej činnosti nemala vo svojej pôsobnosti zakotvenú procesnú spôsobilosť priamo podľa Trestného poriadku tak, ako sme to avizovali už v úvodnej kapitole. Do roku 2022 bola v ustanovení § 9 ods. 6 Zákona o finančnej správe do pôsobnosti KÚFS zahrnutá len procesná subjektivita podľa Civilného sporového poriadku a Správneho súdneho poriadku. Pri takto úzko vymedzenej oblasti pôsobnosti KÚFS nastávala mnohokrát aplikačne nepriaznivá procesná situácia, kedy bol orgán, ktorý odhaľuje trestnú činnosť *de iure* „odstrihnutý“ od procesných právomocí podľa noriem trestného práva. Obzvlášť paradoxné bolo takéto zamýšľanie zákonodarcu z dôvodu, že ďalším orgánom v rámci štruktúry FSSR, t. j. daňovým a colným orgánom zakotvil v ustanoveniach § 5 ods. 5 a § 7 ods. 7 Zákona o finančnej správe v znení do 31.12.2021 procesnú subjektivitu podľa Trestného poriadku. Zaujímavý nesúlad v citovanom zákone je aj fakt, že z ustanovení Trestného poriadku explicitne vyplýva, že orgánom činným v trestnom konaní je prokurátor a policajt, a policajtom sa na tieto účely rozumie vyšetrovateľ finančnej správy, ak ide o trestné činy spáchané v súvislosti s porušením colných predpisov alebo daňových predpisov v oblasti dane z pridanej hodnoty pri dovoze a spotrebných daní, alebo poverený pracovník finančnej správy, ak ide o trestné činy spáchané

v súvislosti s porušením colných predpisov alebo daňových predpisov v oblasti dane z pridanej hodnoty pri dovoze a spotrebných daní (§ 10 ods. 8 písm. b) a f) Trestného poriadku).

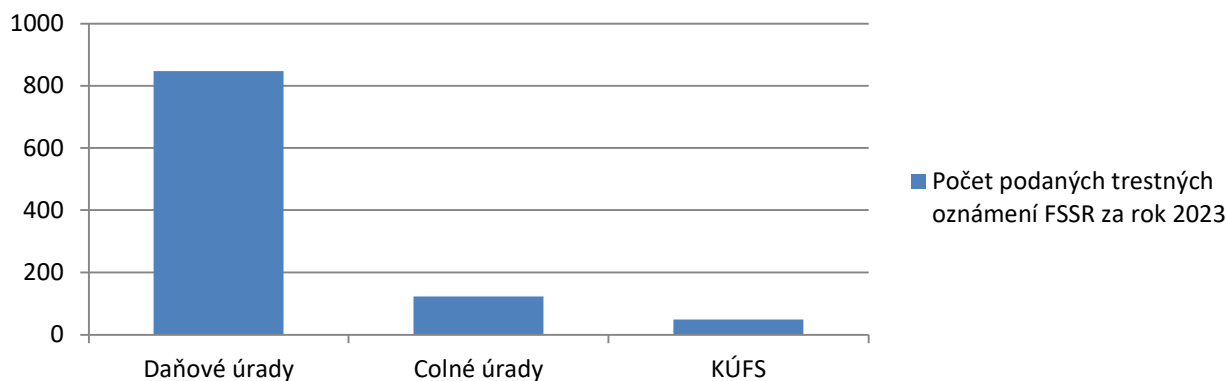
Aplikačným problémom, ktoré v dotknutom právnom režime nastávali sa venoval pán doktor Baďo v odbornom príspevku, v ktorom sa zaoberal otázkou podávania sťažností KÚFS v trestnom konaní proti vydaným uzneseniam a zastával názor, že uvedený rozpor je najschodnejšie odstrániť rozšírením procesnej subjektivity KÚFS na trestné konanie (K oprávneniam Kriminálneho úradu finančnej správy ako oznamovateľa trestnej činnosti, 2020). V aktuálne platnom zákone je procesná subjektivita KÚFS vymedzená v ustanovení § 9 ods. 6 Zákona o finančnej správe, čím sa odstránila uvedená nezrovnalosť medzi právnymi ustanoveniami a pôsobnosť KÚFS je vymedzená: *„Kriminálny úrad finančnej správy má procesnú subjektivitu v konaní podľa Trestného poriadku, Civilného sporového poriadku a Správneho súdneho poriadku a koná pred orgánmi činnými v trestnom konaní a pred súdom samostatne v rozsahu svojej pôsobnosti podľa tohto zákona. Za Kriminálny úrad finančnej správy koná pred orgánmi činnými v trestnom konaní a pred súdom riaditeľ Kriminálneho úradu finančnej správy alebo príslušník finančnej správy poverený riaditeľom Kriminálneho úradu finančnej správy alebo prezidentom.“*

KÚFS plní v súčasnosti v zmysle Zákona o finančnej správe rozsiahle množstvo úloh, ktoré sú do značnej miery rozšírené nad rámec daňových a colných zákonných ustanovení. Podľa Zákona o finančnej správy ide o tieto úlohy:

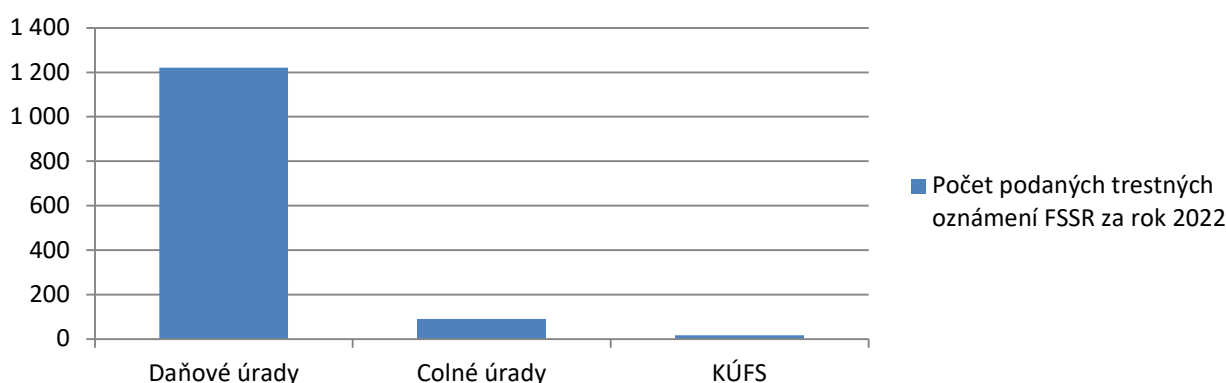
- plní úlohy centrálnej koordinačnej jednotky a ďalšie úlohy vyplývajúce z medzinárodných zmlúv vo vymedzenej oblasti,
- používa informačné systémy finančnej správy, v ktorých zhromažďuje, spracúva, uchováva, odovzdáva, využíva, ochraňuje a vyraduje informácie a osobné údaje o osobách, ktoré porušili daňové predpisy alebo colné predpisy, alebo je dôvodné podozrenie, že porušujú daňové predpisy alebo colné predpisy, alebo ktoré v oblasti pôsobnosti finančnej správy narušili alebo je dôvodné podozrenie, že narúšajú verejný poriadok a ďalšie informácie o takýchto porušeníach daňových predpisov alebo colných predpisov alebo narušeníach verejného poriadku; takéto informácie a osobné údaje poskytne alebo sprístupní finančnému riaditeľstvu, daňovému úradu alebo colnému úradu v rozsahu potrebnom na plnenie ich úloh,
- prevádzkuje spoločný automatizovaný informačný systém na colné účely, zodpovedá zaň, určuje údaje, ktoré sa doň vložia, prijíma opatrenia na zabezpečenie jeho bezpečnosti a bezpečnosti údajov, ktoré sa poskytujú podľa osobitného predpisu, na žiadosť príslušného orgánu členského štátu udeľuje súhlas na poskytnutie údajov, ktoré sám do tohto systému vložil, a na účely predchádzania trestným činom, vyšetrovania a stíhania trestných činov umožňuje priamy prístup do tohto informačného systému príslušnému útvaru Policajného zboru, Slovenskej informačnej služby a Vojenskému spravodajstvu,
- poskytuje informácie v súvislosti s prevádzkovaním spoločného automatizovaného informačného systému na colné účely a zoznam závažných porušení vnútroštátnych predpisov podľa osobitného predpisu,
- plní a zabezpečuje úlohy v oblasti boja proti nedovolenému dovozu, vývozu a tranzitu omamných látok, psychotropných látok, ich prekursorov, látok s anabolickým alebo iným hormonálnym účinkom, chránených rastlín, chránených živočíchov a exemplárov druhov voľne žijúcich živočíchov a voľne rastúcich rastlín, proti nedovolenej preprave jadrových materiálov, rádioaktívnych látok, vysoko rizikových chemických látok a vysoko rizikových biologických agensov a toxínov, ak si to vyžaduje zistenie osôb, ktoré sa akýmkoľvek spôsobom podieľajú na trestných činoch páchaných na úseku omamných látok, psychotropných látok, ich prekursorov, látok s anabolickým alebo iným hormonálnym účinkom a chránených rastlín, chránených živočíchov a exemplárov druhov voľne žijúcich živočíchov a voľne rastúcich rastlín, nedovolenej prepravy jadrových materiálov, rádioaktívnych látok, vysoko rizikových chemických látok a vysoko rizikových biologických agensov a toxínov v súvislosti s ich dovozom, vývozom alebo tranzitom,

- vykonáva colný dohľad po dohode s orgánmi iných štátov utajeným sprievodom dodávky alebo iným utajeným spôsobom sledovania, ak je odôvodnený predpoklad, že zásielka obsahuje omamné látky, psychotropné látky, ich prekursor, látky s anabolickým alebo iným hormonálnym účinkom, tabak, tabakové výrobky, chránené druhy rastlín, chránené živočíchy a exempláre druhov voľne žijúcich živočíchov a voľne rastúcich rastlín, na ktoré nebolo vydané príslušné povolenie, alebo inú vec, na ktorej držbu je potrebné povolenie, tovar, pri ktorom je podozrenie, že došlo k porušeniu daňových predpisov alebo colných predpisov, veci určené na spáchanie trestného činu alebo veci pochádzajúce z trestného činu alebo ak tak ustanovuje medzinárodná zmluva v záujme zistenia osôb, ktoré majú účasť na nakladaní s touto zásielkou; ak majú takto získané informácie slúžiť ako dôkaz v trestnom konaní, postupuje sa na základe právnej úpravy medzinárodnej spolupráce justičných orgánov v trestných veciach,
- vykonáva cezhraničné sledovanie a cezhraničné prenasledovanie v rozsahu a za podmienok ustanovených medzinárodnou zmluvou,
- plní a zabezpečuje úlohy v oblasti odhaľovania trestných činov spáchaných v súvislosti s porušením daňových predpisov v oblasti dane z pridanej hodnoty a spotrebných daní alebo colných predpisov a zisťovania ich páchatel'ov,
- plní a zabezpečuje úlohy v oblasti vyšetrovania a skráteného vyšetrovania trestných činov spáchaných v súvislosti s porušením daňových predpisov v oblasti dane z pridanej hodnoty pri dovoze a spotrebných daní alebo colných predpisov a zisťovania ich páchatel'ov,
- robí úkony, ktoré inak patria do pôsobnosti daňových úradov alebo colných úradov, ak to vyžaduje bezpečnosť štátu, hrozí nebezpečenstvo ujmy na zdraví alebo majetku alebo ohrozenie života a jeho odvrátenie nemožno inak dosiahnuť, na dosiahnutie cieľa sledovaného daňovými predpismi alebo colnými predpismi je potrebný bezprostredný zákrok, úkony daňového úradu alebo colného úradu, ktoré súvisia s úkonmi v pôsobnosti Kriminálneho úradu finančnej správy, je potrebné utajiť, je potrebné vydať rozhodnutie o predbežnom opatrení podľa osobitného predpisu,
- zabezpečuje súčinnosť vo vymedzenej oblasti s orgánmi štátnej správy pri plnení úloh podľa osobitných predpisov,
- pátra po osobách, ktoré porušili daňové predpisy alebo colné predpisy, zisťuje a zamedzuje porušovanie daňových predpisov alebo colných predpisov, plní úlohy pri prevencii, úradnom zisťovaní a potláčaní porušovania colných predpisov,
- zabezpečuje bezpečnosť prepravy zaisteného tovaru, vykonáva sprievod zaistených alebo predvádzaných osôb podozrivých zo spáchania trestného činu,
- informuje Európsku komisiu v rozsahu a za podmienok ustanovených osobitným predpisom vo veciach patriacich do jeho pôsobnosti, plní ďalšie úlohy ustanovené osobitnými predpismi. (Zákon č. 35/2019 Z. z. o finančnej správe a o zmene a doplnení niektorých zákonov, 2023).



**Graf 6:** vlastné spracovanie prehľadu podaných trestných oznámení na základe výročnej správy FSSR za rok 2023

Popis:FSSR eviduje podľa zverejnenej výročnej správy za rok 2023 spolu 1 019 trestných oznámení.

**Graf 2:** vlastné spracovanie prehľadu podaných trestných oznámení na základe výročnej správy FSSR za rok 2022

Popis:FSSR eviduje podľa zverejnenej výročnej správy za rok 2022 spolu 1 329 trestných oznámení.

Vyššie spracované grafy znázorňujúce počet podaných trestných oznámení FSSR sme vytvorili od momentu, kedy prebehla novelizácia Zákona o finančnej správe, t. z. od momentu, kedy má preddavková organizácia KÚFS v ustanovení § 9 ods. 6 Zákona o finančnej správe priznanú procesnú subjektivitu podľa Trestného poriadku. Napriek uvedenému je zo štatistiky evidentná stála „nevôľa“ inštitútu KÚFS podávať samotné trestné oznámenia a oveľa významnejšie v tejto oblasti konajú príslušné daňové úrady. FSSR vo svojej výročnej správe za rok 2021 (t. j. pred tým, ako zákonodarca explicitne priznal trestnoprávnu subjektivitu KÚFS) uvádzala len počet podaných trestných oznámení daňovými úradmi – čo za rok 2021 predstavovalo spolu 919 podaných trestných oznámení. FSSR do roku 2022 neuvádzala počet podaných trestných oznámení zvyšných útvarov, a teda colných úradov a KÚFS.

DÚ	Počet podaných TO	Škoda (v €)
Ú VHS	2	3 913 614,39
DÚ Banská Bystrica	207	18 945 213,26
DÚ Bratislava	26	6 239 342,12
DÚ Košice	146	10 259 348,16
DÚ Nitra	108	12 398 452,12
DÚ Prešov	84	11 762 374,54
DÚ Trenčín	93	11 264 987,25
DÚ Trnava	102	15 274 892,14
DÚ Žilina	151	22 232 752,92
<b>Celkom</b>	<b>919</b>	<b>112 290 976,90</b>

Obr. 3 prehľad podaných trestných oznámení za rok 2023 FSSR na základe výročnej správy za rok 2021

Na základe predložených štatistík za roky 2021 až 2023, ktoré zverejňuje FSSR vo svojich výročných správach je zrejmé, že Finančná správa Slovenskej republiky nevedla evidenciu o podaných trestných oznámeniach, nakoľko za celú FSSR boli podávané trestné oznámenia prostredníctvom zriadeného Referátu trestných oznámení KÚFS, ktorý podané podnety vyhodnocoval a až následne boli tieto trestné oznámenia postúpené orgánom činným v trestnom konaní (Výročná správa o činnosti finančnej správy, 2021). Je evidentné, že aj momentom, kedy KÚFS nadobudol pôsobnosť podľa právnych noriem Trestného poriadku je KÚFS inštitúcia, ktorá najmenším spôsobom vykonáva činnosť oznamovateľa trestnej činnosti, i keď od roku 2022, t. j. odkedy má KÚFS priamo trestnú pôsobnosť po súčasnosť, sa zvyšuje počet trestných oznámení podaných KÚFS. FSSR nezverejňuje vo svojich výročných správach fakty o tom, o akú trestnú činnosť ide pri podaných trestných oznámeniach jednotlivými útvarmi FSSR a súčasne nevedie štatistiku o úspešnosti týchto podaných trestných oznámeniach v následnom trestnom konaní.

## Záver

Potreba zabezpečenia finančných zdrojov, vrátane prostriedkov do štátneho rozpočtu, si vyžaduje účasť špecializovaného subjektu, ktorý zabezpečí odborné odhaľovanie a vyšetrovanie protiprávnej činnosti, čo FSSR poskytuje naprieč celou štruktúrou. Záverom tohto príspevku chceme zdôrazniť, že existencia KÚFS je opodstatnená, avšak vzhľadom na štatistické údaje zverejnené FSSR vo výročných správach je zrejmé, že v porovnaní s inými ústrednými útvarmi FSSR je KÚFS paradoxne práve tým inštitútom, ktorý disponuje najnižším počtom podaných trestných oznámení. Z pohľadu de lege ferenda je preto otázne, či je takáto forma vzájomnej spolupráce medzi OČTK a Finančnou správou Slovenskej republiky, resp. priamo s KÚFS efektívna, a to z pohľadu uplatňovania noriem trestného práva. Je dôležité uviesť, že napriek tomu, že KÚFS získalo oprávnenia aj v zmysle Trestného poriadku stále ide o inštitút, ktorý je súčasťou FSSR, čo ho do značnej miery limituje. Vzhľadom na uvedené sa vynára úvaha či by z inštitucionálnej štruktúry zakotvenia FSSR v slovenskom právnom systéme nebolo vhodnejšie zakomponovať KÚFS ako priamy samostatný policajný útvar, resp. prípadne ako osobitný útvar v rámci Národnej kriminálnej agentúry, kedy by bol KÚFS podriadený priamo nie prezidentovi FSSR, ale prezidentovi Policajného zboru. Na komparáciu, akým spôsobom by KÚFS v slovenskom právnom režime mohol fungovať, je vhodné uviesť policajný útvar v Českej republike, a to Úrad služby kriminální policie a vyšetrovaní, odbor hospodárske kriminality, ktorý sa v Českej republike zaoberá objasňovaním, vyhľadávaním a vyšetrovaním závažnej hospodárskej trestnej činnosti, najmä trestnými činmi proti daňovej sústave, proti mene a podvodom (Zákon o služebnom pomere príslušníkov bezpečnostných sborů: praktický komentár, 2019). Uvedené začlenenie by mohlo priaznivejšie vplývať na efektívnosť odhaľovania daňových trestných činov, a to najmä z povahy práce ďalších príslušníkov FSSR, ktorí svoje oprávnenia vykonávajú výlučne v rámci správneho – administratívneho, konania. Ďalšou eventualitou, ktorá by mohla zabezpečiť zvýšenie efektívnosti činnosti KÚFS je, že by KÚFS

reprezentovala samostatný štátny orgán. V súčasnosti je KÚFS podľa § 2 ods. 1 písm. d) Zákona o finančnej správe preddavkovou organizáciou zapojenou na rozpočet finančného riaditeľstva. Inštitucionálne začlenenie KÚFS pod Finančné riaditeľstvo Slovenskej republiky bolo vytvorené ako „nutné zlo“, a to z dôvodu práve spojenia daňovej a colnej správy, nakoľko predchodca KÚFS, t. j. CKÚ hierarchicky patril pod colnú správu.

## Literatúra

CHROBÁK, Jiří., 2019 Zákon o služebním poměru příslušníků bezpečnostních sborů: praktický komentář, vyd. Praha: Wolters Kluwer, ISBN 978-80-7598-539-2

ROMŽA, Sergej, 2017, Význam dokazovania v daňovom konaní pre trestné konanie, In: Zborník vedeckých príspevkov z Interdisciplinárnej celoštátnej vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou: „Prieniky trestného práva k iným právnym odvetviám a vedným disciplinám“, vyd. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach. ISBN 978-80-8152-493-6.

BAĎO, Timotej, 2020, K oprávneniam Kriminálneho úradu finančnej správy ako oznamovateľa trestnej činnosti, In: Policajná teória a prax: časopis Akadémie Policajného zboru v Bratislave, vyd. Bratislava, ISSN 1335-1370. – Roč. 28, č. 2

SCHULTZOVÁ, Anna. a kol. 2018. Daňovníctvo: daňová teória a politika I. 3. doplnené a prepracované vydanie, vyd. Praha: Wolters Kluwer, 2018, ISBN 978-80-7598-107-3.

Dohoda medzi Ministerstvom vnútra Slovenskej republiky a Ministerstvom financií Slovenskej republiky zo dňa 13.03.2007, dostupné na: <https://www.mfsr.sk/sk/dane-cla-uctovnictvo/colna-oblast/cla/dohovory-dohody-diagonalne-dohody>

Koncepcia reformy daňovej a colnej správy s výhľadom zjednotenia výberu daní, cla a poistných odvodov Ministerstva Financií Slovenskej republiky, 2008, dostupné na: <https://www.mfsr.sk/sk/dane-cla-uctovnictvo/programy/program-unitas/strategicke-koncepcne-dokumenty/koncepcia-reformy-danovej-colnej-spravy-vyhľadom-zjednotenia-vyberu-dani-cla-poistnych-odvodov/>

Výročná správa FSSR za rok 2021, dostupné na: <https://www.financnasprava.sk/sk/financna-sprava/vyrocne-spravy>

Výročná správa FSSR za rok 2022, dostupné na: <https://www.financnasprava.sk/sk/financna-sprava/vyrocne-spravy>

Výročná správa FSSR za rok 2023, dostupné na: <https://www.financnasprava.sk/sk/financna-sprava/vyrocne-spravy>

Zákon č. 35/2019 Z. z. o finančnej správe a o zmene a doplnení niektorých zákonov

Zákon č. 563/2009 Z. z. o správe daní (daňový poriadok) a o zmene a doplnení niektorých zákonov

Zákon č. 300/2005 Z. z. Trestný zákon

Zákon č. 301/2005 Z. z. Trestný poriadok

Zákon č. 652/2004 Z. z. o orgánoch štátnej správy v colníctve a o zmene a doplnení niektorých zákonov

## O POJMOCH OPRAVNÝ SÚD A SÚDNA OPRAVA

### *About the terms: Court of Appeal and Appellate Correction*

Michaela Szittyaiová

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta

**Abstrakt:** Tento príspevok sa zaoberá pojmami „Opravny súd“ a „Súdna oprava“ v národnom (slovenskom) kontexte ale aj v komparácii s obdobnými inštitútmi v zahraničnej úprave, čo vytvára myšlienkovú základňu pre pochopenie týchto inštitútov v národnom aj v medzinárodnom kontexte. Autor konfrontuje pojmy „Opravny súd“ a „Súdna oprava“ a približuje ktoré právne inštitúty zakotvené v slovenskej procesnej úprave možno do týchto kategórií zaradiť spolu s príležitostnými komentármi, zamysleniami a vymedzením priestoru pre prípadné návrhy de lege ferenda.

**Príležitostné slová:** *opravný súd, súdna oprava, odvolanie, dovolanie, sťažnosť.*

**Abstract:** This paper deals with the terms "The Court of Appeal" and "Appellate correction" in the national (Slovak) context, but also in comparison with similar terms in foreign legal setting, which creates a conceptual basis for understanding these terms both in the national and international context. The author confronts the terms "The Court of Appeal" and "Appellate correction" and approximates which legal terms embedded in the Slovak procedural regulation can be included in these categories followed by occasional comments, reflections and the definition of proposed space for de lege ferenda proposals.

**Keywords:** *the court of appeal, appellate correction, appeal, extra-ordinary appeal, judicial complaint.*

### Úvodné poznámky

Pojmy „Opravny súd“ a „Súdna oprava“ môžu na prvý pohľad pre laického čitateľa pôsobiť zameniteľne, avšak pri dôkladnom pohľade na problematiku je možné vnímať významové (a legislatívne) odtienky medzi týmito pojmami. Tento príspevok si kladie za úlohu (pre krátkosť priestoru „len“) načrtnúť teoretickú množinu subjektov a konaní, ktoré možno v danej súvislosti považovať za relevantné a s príležitostnými komentármi a názormi autora čitateľovi predostrieť právno-teoretický rámec opravných konaní a konaní, ktoré sa ako „opravné“ len javia – t.j. také, kde síce dochádza k „Súdnej oprave“ predchádzajúceho meritórneho rozhodnutia avšak nerozhoduje o nej „Opravny súd“. Istá pozornosť je v prvej kapitole venovaná aj komparácii s obdobným inštitútom a praktickými reáliami v zahraničí, čo umožňuje získať akademickú perspektívu pri zhodnotení pojmov, ktoré sú predmetom tohto príspevku - ale aj lepšie demonštrovať klady a zápory tohto ktorého systému.

### Kto je „Opravným súdom“?

V zásade možno formulovať premisu, že opravným súdom, je súd, ktorý rozhoduje o opravnom prostriedku.<sup>42</sup> Avšak slovenské procesné právo (ktoré v tejto súvislosti zďaleka nie je ojedinelé) definuje aj iné možnosti nápravy, prostriedky procesnej obrany alebo procesné postupy súdu, ktoré nie sú opravnými prostriedkami v pravom slova zmysle a napriek tomu (rovnako ako opravné prostriedky) ústia do súdneho prieskumu predchádzajúceho rozhodnutia /*k tomu pozri nasl. kapitolu*<sup>43</sup>/.

Opravny súd (*pozn. súd, ktorý rozhoduje o opravnom prostriedku*) teda bude stáť v špecifickom postavení oproti prvoinštančnému súdu práve v tom, že reaguje na už existujúce (prvoinštančné)

<sup>42</sup> Pojem opravný prostriedok je definovaný zákonom č. 160/2015 Z. z Civilným sporovým poriadkom (ďalej len „CSP“) v §355 a nasl. – t.j. možno sem zaradiť odvolanie, dovolanie, dovolanie generálneho prokurátora a žalobu na obnovu konania.

<sup>43</sup> V tomto bode možno z vnútroštátnych procesných dispozícií príkladmo uviesť ústavnú sťažnosť, sťažnosť podľa §239 CSP alebo autoremedúru.

rozhodnutie. *Od súdu prvej inštancie sa teda v rámci konania očakáva „všetká práca“ potrebná na to, aby mohli byť spravodlivo usporiadané právne vzťahy účastníkov konania a aby bola odstránená ich neistota. Úlohou odvolacieho súdu je „len“ preskúmať ako sa zhostil svojej úlohy súd prvej inštancie...* (Molnár, 2023) V tejto súvislosti je však veľmi potrebné vnímať rozdiel, v tom, ako na opravnú rozhodovaciu inštanciu nahliada právnik-akademik a právnik-sudca. Krátky náhľad do tejto problematiky poskytuje vo svojom diele *Reflections on the Role of Appellate Courts: A View from the Supreme Court* (Breyer, 2006), prof. Breyer, ktorý svoju vlastnú skúsenosť bývalého profesora práva a nasledovne sudcu Najvyššieho súdu USA popisuje tak, že hlavný rozdiel súdnej praxe oproti právnej akadémii spočíva skôr v mechanickom alebo praktickom riešení konkrétnych káuz a prípadov ako akademicko-filozofických rozmeroch rozhodnutí – v jednoduchosti povedané: robiť a nefilozofovať /pozn. parafráza autora tohto príspevku/. Ak sa pozrieme do právnej praxe Slovenskej republiky, možno dať prof. Breyerovi za pravdu, že aj napriek odlišným právno-systémovým pomeroch sa hlavný dôraz v opravnom rozhodovaní kladie nie na kvalitu ale na kvantitu (poukazom na priemernú dĺžku súdnych a najmä opravných konaní) (Ministerstvo spravodlivosti SR, 2024). V súvislosti s rozhodovaním Najvyššieho súdu prof. Breyer poukazuje na pomerne starý výrok Williama Howarda Tafta (Taft, 1925), ktorý už vtedy definoval opravné konanie na Najvyššom súde ako inštanciu, ktorá nenapráva drobné chyby nižších súdov ale skôr ako inštanciu, ktorá funguje ako zjednocujúci prvok amerického práva. Uvedené by čiastočne mohlo platiť aj na Najvyšší súd SR (ďalej len „**NS SR**“), avšak ten má vzhľadom na jeho zasadenie v kontinentálnom práve vymedzené právomoci o niečo širšie ako ten americký – v našich podmienkach sa teda tento opis hodí skôr na Ústavný súd SR (ďalej len „**ÚS SR**“) teda orgán, ktorý právny poriadok SR vôbec nepovažuje za opravnú inštanciu /k tomu pozri nasl. kapitolu/. Okrajovo Breyer ďalej na opravnej inštancii (Najvyššieho súdu) ako osobitosť „vypichuje“ aj istý politický tlak na opravného sudcu (ktorý sa zároveň stupňuje s každou vyššou opravnou inštanciou – pozn. autora), kde existuje stále nástojčivejšia požiadavka na to, aby bol sudca apolitický (Breyer, 2006). Špecifickosť opravného rozhodovania je podľa Leflara aj v tom, že dobré rozhodnutie opravného súdu má byť formulované tak, aby presvedčilo právneho zástupcu strany, ktorá spor prehráva (teda nie nevyhnutne zastúpenú stranu), čo je však najmä v slovenských podmienkach ťažko predstaviiteľné (Leflar, 1957).

### **Niekoľko postrehov zo zahraničnej praxe: Nie je „Opravný súd“ ako opravný súd**

Slovenské súdnictvo funguje v pomerne jednoduchej trojinštančnej štruktúre: Prvoinštančný súd -> odvolací súd, ktorý rozhoduje o opravách meritórnych rozhodnutí na prvej inštancii -> dovolací súd, ktorý rozhoduje o opravách meritórnych rozhodnutí na druhej inštancii.

Na prvý pohľad sa to môže oproti zahraničiu zdať málo, pretože uvedené neumožňuje tak vycibrenú špecifikáciu opravných sudcov na jednotlivé agendy ako by to umožnil napr. opravný súd určený len pre rodinnú agendu<sup>44</sup>. Uvedenému však možno oponovať v tom zmysle, že existujú aj iné špecifické právne úpravy, ktoré danú súdnu štruktúru komplikujú na mnohých úrovniach – tak napríklad, ak zotrváme v komparácii s precedentálnym právom, v štáte New York existuje 14 rôznych druhov súdov, ktoré pojednávajú „len“ civilné veci: *The Civil Court* (spory ohľadom nehnuteľností v hodnote do 25.000 dolárov, spory z nájomných vzťahov a drobné spory s hodnotou veci do 5.000 dolárov), *The Supreme Court* (všeobecná právomoc a spory, ktorých hodnota presahuje 25.000 dolárov – tento však zároveň zahŕňa dve opravnoinštančné oddelenia voči rozhodnutiam *The Civil Court*, nie však *The Family Court*, *The Supreme Court* alebo *The Surrogate's Court*), *The Surrogate's court* (dedičská agenda), *The Family Court* (rodinná agenda), *The Court of Claims* (konania, kde je účastníkom štát), a následne *The County Court*, *The District Court*, *The Town Court*, *The City Court* a *The Village Court*.

<sup>44</sup> Predovšetkým typické pre krajiny uplatňujúce precedentálny systém, napr. Veľká Británia alebo USA, kde je absolútne nevyhnutné, aby sudca špecifikujúci sa na určitú agendu mal pracovnú znalosť všetkých dôležitých rozhodnutí v danej agende (pravda, rovnaká požiadavka nie je na škodu ani v slovenskej úprave avšak prípadný nedostatok v tejto znalosti nenadobúda diskvalifikačné rozmery vo vzťahu k schopnosti vykonávať činnosť sudcu).

Ak sa presunieme na opravnú inštanciu, situácia sa nám skomplikuje ešte viac, pretože *The Civil Court* a *The District Court* majú navyše „tzv. opravné oddelenia“ /*Appellate Terms*/. Nad nimi stoja v opravnej inštancii tzv. *Appellate Divisions* zriadené na *The Surrogate's Court*, *The Court of Claims*, *The Family Court*, *The Supreme Court* a *The County Court*. Až nad nimi stojí odvolací súd /*The Court of Appeals*/. Uvedená úprava je v praxi absolútne neefektívna (a predmetom pomerne častej kritiky – pozri ďalej), a je pomerne bežným javom, že už na prvej inštancii je potrebné žalovať na viacerých súdoch aby sa vyriešila jedna vec (napr. ak ide o vec kombinujúcu rodinnú aj dedičskú vec a povedzme náhradu škody - čo je časovo aj finančne náročné pre všetkých zúčastnených; od súdu, cez advokátov až po účastníkov konania (Gray, 2020).

Uvedené je v praxi máťúce ako v prvej inštancii tak aj na opravnej inštancii (kedy často o opravnom prostriedku rozhodujú opakovane tie isté súdy<sup>45</sup>) a ústí do administratívneho chaosu a súbežného zahlcovania niekoľkých súdov súvisiacimi podaniami (ak sa teda advokátom vôbec podarí správne identifikovať príslušný súd), pričom vysoký nápad prípadov je dlhodobým problémom aj amerického súdnictva (Traynor, 1956).

Tento krátky exkurz do toho, ako to v praxi môže aj (ne)fungovať možno uzavrieť sympatickou vetou Joan Steinman: „*Máme dôvod veriť, že viac hláv znamená aj viac rozumu (v senáte) a teda opravní sudcovia vnášajú do konaní väčšiu expertízu ako prvoinštanční sudcovia, a to vzhľadom na ich väčšie skúsenosti a výhody ktoré požívajú – napríklad to, že majú k dispozícii lepších súdnych úradníkov a viac času, ktorý môžu venovať výskumu, bádaniu, písaniu a formálnym úpravám*“ (Steinman, 2011)

### Niekoľko postrehov zo slovenskej praxe: Kto nie je „Opravným súdom“?

Ak sa teda vrátíme k nosnej téme tohto článku, a to juxtapozícii pojmov Opravný súd (vysvetlené vyššie) a Súdna oprava (vysvetlené nižšie) – vyvstáva otázka: Kto vykonáva súdnu opravu a nie je opravným súdom?

„Súdnou opravou“ bude teda také konanie, kde (nejaký) súd vykoná opravu predchádzajúceho rozhodnutia mimo opravného konania. Ako už bolo načrtnuté v predchádzajúcej kapitole (pozri poznámku pod čiarou č. 1) CSP normuje niekoľko vnútroštátnych procesných možností opravy rozhodnutia mimo opravného konania [menovite napríklad:

1. § 239 (1) CSP *Proti uzneseniu súdu prvej inštancie vydanému súdnym úradníkom, ktoré treba doručiť, je prípustná sťažnosť*.<sup>46</sup>

<sup>45</sup> Táto myšlienka však bola prekleutá aj v opravnej praxi USA už pred dvoma storočiami. Právna prax v období r. 1818 až 1848 napr. v štáte Illinois tkvela v tom, že tí istí sudcovia rozhodovali v prvej aj opravnej inštancii. V 50. rokoch minulého storočia však bola aj v precedenčnom systéme táto prax označená za obsolentnú (Dodd, 1926). Napriek tomu súčasná právna prax tieto poznatky nezohľadňuje vždy.

<sup>46</sup> Sťažnosť je podľa názoru autora osobitým takpovediac hybridným inštitútom, v ktorom prípade hoci formálne ide „iba“ o prostriedok procesnej obrany (K tomu pozri Dôvodová správa k CSP: *Sťažnosť ako novo zavedený prostriedok procesnej obrany... ...cieľom a zmyslom sťažnosti je jednoznačne zrýchlenie súdneho konania. Z tohto dôvodu tento prostriedok procesnej obrany nemá devolutívny účinok a rozhodovať o ňom bude sudca súdu prvej inštancie. Suspenzívny účinok sťažnosti zostáva zachovaný.*) v zmysle judikatúry ÚS SR je napríklad aj v sťažnostnom konaní stále aplikovateľný princíp kontradiktórnosti, ktorý platí (aj) v opravnom konaní (pozri uznesenie ÚS SR I. ÚS 145/2021 zo dňa 30.03.2021), nie je v ňom však aplikovateľný princíp zákaz reformatio in peius (pozri uznesenie II. ÚS 150/2021 zo dňa 18.03.2021). Zároveň si je ÚS SR vedomý, že síce nejde o opravný prostriedok v pravom slova zmysle, pretože nemá tzv. devolutívny účinok ale naproti tomu, „ÚS SR vníma „opravný prostriedok“ ako relatívne samostatný návrh strany alebo inej osoby zúčastnenej na konaní, ktorým sa strana alebo iná osoba domáha preskúmania a najmä zmeny alebo zrušenia rozhodnutia...“ (pozri nález ÚS SR III. ÚS 59/2020 zo dňa 16. 09. 2021). Pre krátkosť priestoru k sťažnosti uvádzame len vyššie uvedené.

2. § 376 CSP *Ak bolo podané odvolanie proti uzneseniu, súd prvej inštancie môže uznesenie zrušiť, ak odvolaniu v celom rozsahu vyhovie a z uznesenia nenadobudla doposiaľ práva iná osoba ako odvolateľ.* /pozn. tu teda o opravnom prostriedku nebude rozhodovať „Opravný súd“ (druhá inštancia) ale „Súdnu opravu“ vykoná ten istý súd, ktorý vydal pôvodné rozhodnutie/
3. Po podaní odvolania opravného prostriedku na chvíľu „supluje“ úlohu Opravného súdu aj prvoinštančný súd (tzv. **úkony súdu prvej inštancie po podaní odvolania normované § 373 CSP**).
4. Z nadzákonných inštitútov prichádza do úvahy čl. Čl. 127 (1) Ústavy SR č. 460/1992 Zb. *Ústavný súd rozhoduje o sťažnostiach fyzických osôb alebo právnických osôb, ak namietajú porušenie svojich základných práv alebo slobôd, alebo ľudských práv a základných slobôd vyplývajúcich z medzinárodnej zmluvy, ktorú Slovenská republika ratifikovala a bola vyhlásená spôsobom ustanoveným zákonom, ak o ochrane týchto práv a slobôd nerozhoduje iný súd.*<sup>47</sup>
5. Za zmienku rovnako stoja aj nadnárodné možnosti ochrany (v závislosti od predmetu konania) t.j. prostredníctvom konania na Európskom súde pre ľudské práva alebo Súdnom dvore Európskej únie<sup>48</sup>.]

### Záverečné poznámky

Účelom tohto príspevku bolo predostrieť čitateľovi teoretickú vedomostnú základňu pre pochopenie a rozlíšenie pojmov „Opravný súd“ a „Súdna oprava“. Avšak, postranným úmyslom autora bolo poskytnúť akademický komentár a niekoľko (mienkotvorných) úvah smerujúcich k tomu, či momentálne legislatívne procesné nastavenie je v súčasnej dobe postačujúce. Istý priestor na zlepšenie vo vzťahu k prípadným návrhom *de lege ferenda* možno badať napríklad v súvislosti so sťažnosťou (*tak ako je načrtnutá v pozn. pod čiarou č. 5*) a síce zjednoteniu toho, ako na sťažnosť nahliadame – pre krátkosť poskytnutého priestoru sa tento príspevok už nezaobrá súvisiacimi praktickými procesnými implikáciami sťažnosti ako prostriedku procesnej obrany – avšak už len z hľadiska jej teoretickej definície ako (podľa ÚS SR) „*nie opravného prostriedku ale napriek tomu opravného prostriedku*“ /parafráza autora, vid' pozn. pod čiarou č. 5/ je táto hodná publikačnej pozornosti. Rovnako vnímame ako prínosné tézy vyplývajúce z komparácie slovenského opravného procesu s právnou úpravou, kde súdne rozhodnutie /či už opravné alebo nie/ predstavuje nosný a hlavný prvok písaného práva (precedentálny systém).

<sup>47</sup> V tomto prípade však aj v zmysle judikatúry samotného ÚS SR nepôjde o opravné konanie: „*ÚS nie je opravným súdom, ale stojí mimo štruktúry všeobecných súdov. Je nezávislým súdnym orgánom ochrany ústavnosti.*“ (pozri uznesenie ÚS SR II. ÚS 266/09 zo dňa 07.07.2009) „... Ústavnému súdu totiž neprislúcha posudzovať celkovú zákonnosť rozhodnutia, proti ktorému bola sťažnosť podaná, ale jeho úlohou je zistiť, či napadnutým rozhodnutím nebolo zasiahnuté do ústavou zaručených základných práv alebo slobôd sťažovateľa. V tomto zmysle sa ústavný súd nezaobrá právnou argumentáciou všeobecných súdov, ale iba ústavnoprávnymi aspektmi konkrétnej veci.“ (pozri uznesenie ÚS SR IV. ÚS 370/04 zo dňa 10. 11. 2004).

<sup>48</sup> Taktiež nepôjde o opravné konanie, pretože tieto orgány nerozhodujú o opravných prostriedkoch v pravom slova zmysle (tak, ako ich vymedzuje CSP).



## Knížná publikácia

MOLNÁR, Peter, Milan SUDZINA a Jaroslav ČOLLÁK, 2023. Ochrana ľudských hodnôt v procesnom práve. Košice: Typopress. ISBN: 978-80-8129-145-6

## Články v časopise

GRAY Emily Anne, 2020. Chief judge Janet Difiore: Pushing new york court system forward, In ALBANY LAW REVIEW. New York: Albany Law School 83 Vol. 83. no. 4, p. 1187-1207 ISSN: 2162-4151

TRAYNOR, Roger J. 1956. Some open questions on the work of State Appellate Courts. In *U. Chi. L. Rev.*, Chicago: University of Chicago, 24: 211. s. Vol. 24. no. 2, p. 211-224 ISSN: 0041-9494

TAFT William Howard. 1925. The Jurisdiction of the Supreme Court under the Act of February 13, 1925, In *The Yale Law Journal*, Vol. 35 no. 1, p.1 <https://doi.org/10.2307/789532>

STEINMAN, Joan. 2011. (rev. 2012) Appellate Courts as First Responders: The Constitutionality and Propriety of Appellate Courts' Resolving Issues in the First Instance. *Notre Dame L. Rev* Indiana: University of Notre Dame Law School., Vol. 84 No. 4 p. 1521- 1621 ISSN: 0745-3515

LEFLAR, Robert A. 1957 Task of the Appellate Court. *Notre Dame Law.*, Indiana: University of Notre Dame Law School, Vol. 33 No. 4. p. 548-572 ISSN: 0745-3515

DODD, Walter F. 1930. The Problems of Appellate Courts. *Am. L. Sch. Rev.*, Washington D.C.: Washington College of Law, Vol. 6. No. 11, p. 681-693 ISSN: 0003-1453

## Publikovaný prepis príhovoru na konferencii

BREYER, Stephen G. 2006. Reflections on the Role of Appellate Courts: A View from the Supreme Court. Prepis príhovoru počas konferencie National Court of Appellate Justice. Publikované In *J. App. Prac. & Process*, Vol. 8, No. 1, p. 91-101

## Štatistický údaj

MINISTERSTVO SPRAVODLIVOSTI SR. Prehľad dĺžok konaní za dané obdobie; dostupné na internete [cit. 12.04.2024] [<https://web.ac-mssr.sk/rocny-prehľad-dlžky/>]

## Zákony

Zákon č. 160/2015 Z. z. Civilný sporový poriadok v znení neskorších predpisov

Ústava č. 460/1992 Zb. Ústava SR

Dôvodová správa k zákonu č. 160/2015 Z. z. Civilnému sporovému poriadku

## Judikatúra ÚS SR

Uznesenie sp. zn. IV. ÚS 370/04 zo dňa 10. 11. 2004

Uznesenie sp. zn. II. ÚS 266/09 zo dňa 07. 07. 2009

## **Uznesenie sp. zn. II. ÚS 150/2021 zo dňa 18. 03. 2021**

Uznesenie sp. zn. I. ÚS 145/2021 zo dňa 30. 03. 2021

Nález sp. zn. III. ÚS 59/2020 zo dňa 16. 09. 2021

## **DEJINY DVOCH INDIÍ V KONTEXTE FILOZOFIE OSVIETENSTVA: DENIS DIDEROT A JEHO PRÍSPEVKY**

*The History of the Two Indies in the Context of Enlightenment Philosophy: Denis Diderot and His Contributions*

**Natália Tarnóczyová**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Osvietenstvo bolo obdobím intelektuálneho a filozofického rozvoja v Európe v 17. a 18. storočí. Hoci prinieslo významné pokroky v oblasti rozumu, filozofie, vedy a individuálnych práv, zohralo tiež úlohu pri formovaní myšlienok o kolonializme a imperializme. Jedným z kľúčových diel v tomto období boli francúzske *Dejiny dvoch Indií*. Aj napriek silnému odkazu dielo upadlo do zabudnutia a dnes, hoci bolo zdrojom inšpirácie pre veľké množstvo filozofov, ba dokonca národov, je prakticky neznáme, a to nielen v našom prostredí. Cieľom tohto textu je prostredníctvom analýzy najzásadnejších úvah a argumentov pripomenúť, aké závažné a inovatívne boli *Dejiny dvoch Indií* z historicko-filozofického a tiež politického hľadiska a zároveň dokázať, že to bol najmä Denis Diderot, ktorého príspevky sa stali najvýraznejšími, a najväčšími sa pričínili o prehodnotenie imperiálnej politiky.

**Kľúčové slová:** *Osvietenstvo, Dejiny dvoch Indií, Antiimperializmus, Antikolonializmus, Denis Diderot.*

**Abstract:** The Enlightenment was a period of intellectual and philosophical development in Europe in the 17th and 18th centuries. While it brought significant advances in reason, philosophy, science, and individual rights, it also played a role in shaping ideas about colonialism and imperialism. One of the key works during this period was the French *The History of Two Indies*. Despite its strong legacy, the work fell into obscurity, and today, although it served as a source of inspiration for many philosophers and even nations, it is practically unknown, not only in our environment. The aim of this text is to remind, through the analysis of its most fundamental ideas and arguments, how significant and innovative *The History of Two Indies* was from a historical-philosophical and political perspective, and to demonstrate that it was mainly Denis Diderot whose contributions became the most prominent and had the greatest impact on rethinking imperial policies.

**Keywords:** *The Enlightenment, The History of Two Indies, Anti-imperialism, Anti-colonialism, Denis Diderot.*

### **Úvod**

Medzi dielami, ktoré mali zásadný vplyv v období osvietenstva, majú svoje čestné miesto *Filozofické a politické dejiny zriadenia a obchodu Európanov v dvoch Indiách*, označované ako skutočný hnací motor proti štruktúram koloniálnych režimov. Aj keď je T. G. Raynal uvádzaný ako autor celého textu, vieme, že na knihu sa podieľalo mnoho anonymných autorov, vrátane Denisa Diderota. Vďaka tejto anonymite je dielo plné ostrých kritik a urážlivých argumentov, za ktoré by v tom období boli autori potrestaní. Denis Diderot ochotne využil príležitosť na kontroverzné morálne a politické argumenty bez hrozby vyhostenia alebo návratu do Vincennes, kde bol uväznený za písanie údajne rúhačského materiálu. Mnoho radikálnych príspevkov a väčšina antiimperialistických argumentov boli napísané (ako dnes vieme) ním v 70. rokoch 18. storočia. Ako sa dalo očakávať, dielo bolo takmer okamžite Parížskym parlamentom zakázané a všetky známe kópie spálené. Napriek svojmu povestnému statusu odpadlíka boli *Dejiny dvoch Indií* jednou z najpopulárnejších „zakázaných“ publikácií 18. storočia a počas sedemnástich rokov prešli dokonca až tridsiatimi vydania. Aj napriek silnému odkazu dielo upadlo do zabudnutia a dnes, hoci bolo zdrojom inšpirácie pre veľké množstvo filozofov, ba dokonca národov, je prakticky neznáme, a to nielen v našom prostredí. Tento príspevok si kladie za cieľ prostredníctvom analýzy najznámejších úvah pripomenúť zásadnosť ich politicko-filozofického vplyvu a zároveň preukázať, že sa o väčšinu úspechu pričínil najmä spomínaný Denis Diderot.

## Denis Diderot a jeho príspevky do *Dejín dvoch Indii*

„Ó, barbarkí Európania! Nebol som oslnený nádherou vašich skutkov. Ich úspech nezakryl ich nespravodlivosť... ak vás čo i len na chvíľu prestanem vidieť ako krdeľ neľútostných a krutých supov, s podobnou mierou minimálnej morálky a svedomia ako tieto dravé vtáky, nech sa toto dielo a moja pamäť stanú predmetom nanajvyš opovrhnutia a odporu“ (Raynal 1770, s. 22).

*Histoire philosophique et politique des établissements & du commerce des Européens dans les deux Indes*, šesťzväzková história európskych kolónií v Indii a v Amerike bola vydaná v roku 1770. Dielo tvrdo odsudzovalo európsku krutosť voči koloniálnym národom a obviňovalo ju z náboženskej neznášanlivosti a autority založenej na svojvôli. Raynal rozpráva o formovaní, vývoji a stave veľkých koloniálnych impérií svojej doby, je to historická a geografická štúdia napísaná z postoja rozhorčenej revolty voči svojim trom nepriateľom – cirkvi, despotizmu a otroctvu (Labriolle, 1964). Po prvom nasledovalo niekoľko ďalších vydaní, no najzásadnejším je pre nás to z roku 1780, a to len vďaka jednému z mnohých prispievateľov, filozofovi a encyklopedistovi Denisovi Diderotovi, ktorý stál za napísaním mnohých pasáží, ale aj radikálnejších historických interpretácií. Vďaka Diderotovým interpoláciám bolo vydanie násilnejšie antidespotické a antiklerikálne ako ktorákoľvek z predchádzajúcich verzií. V roku 1774 boli *Dejiny dvoch Indii* zaradené do Indexu zakázaných kníh rímskokatolíckej cirkvi a v roku 1781 prikázali úrady Raynalovi odísť do exilu a jeho „machine de guerre“ (Wolpe, 1957) bola spálená pred francúzskym parlamentom (Cunningham, 2016). Text patril k najpredávanejším dielam osemnásteho storočia a položil základy uvažovania a rozpravy o koloniálnej problematike vo Francúzsku a v zahraničí po celé desaťročia od svojho objavenia (Donath, 2012).

Príspevky Diderota sa pohybovali od jedného odseku po eseje s viac ako tridsať stranami. Opisovali dejiny zdaňovania v Európe a autorov vzťah k modernému obchodu a spoločnosti, rovnako aj piesne, tance a iné umelecké praktiky a remeslá pôvodných obyvateľov Kanady, náboženskú filozofiu a oveľa viac. Ako môžeme vidieť, Diderotove príspevky pokrývali širokú škálu tém a zapadajú do rôznych tematických oblastí od kultúrnej antropológie a spoločenskej histórie po politickú teóriu a ekonómiu. To, čo ich však všetky spája, je autorov provokatívny, no zároveň citlivý tón, ktorý je pre neho charakteristický. Jeho prínosy k tomuto ambicióznemu dielu boli skutočne významné, dosahujúce približne 700 strán v roku 1780, pričom Jonathan Israel (2001) poznamenal, že práve Diderotova práca sa pričínila k skutočnej zmene mentality. Anthony Padgen opisuje jeho vydanie z roku 1780 ako „mini-encyklopédiu všetkého zla európskej kolonizácie, postihujúcu celý svet.“ (Padgen, 2013, s. 169).

Diderot videl problém koloniálnych impérií v ich rozsahu, európsky imperialista bol pre neho postavou, ktorá najviac zosobňovala pokriveného človeka. Imperialista je pripravený o sociálne a kultúrne väzby, ktoré by ho normálne humanizovali a zmiernovali jeho názory a správanie, imperialista sa pohybuje po Novom Svete, hľadajúc zisk, brutálnym spôsobom zotročuje ľudí a ničí cudzie národy. Kolonizátori takto konajú dobrovoľne a za svoje činy sú morálne zodpovední, preto im Diderot rezervuje väčšinu svojej rétoricky najsilnejšej a najprísnejšej kritiky: "Mimo rovníka nie je človek ani Angličan, Holanďan, Francúz, Španiel, ani Portugalec. Zachováva si len tie princípy a predsudky svojej rodnej krajiny, ktoré ospravedlňujú alebo obhajujú jeho konanie. Plazí sa, keď je slabý; je násilný, keď je silný; ponáhľa sa užívať si a je schopný každého zločinu, ktorý ho najrýchlejšie privedie k jeho cieľom. Je to domáci tiger, ktorý sa vracia do lesa; žiadostivosť po krvi sa ho zase zmocňuje. Takto sa všetci Európania, každý z nich, jasne, prejavili v krajinách Nového Sveta. Tam získali spoločnú pomätenosť..." (Raynal 1798, s. 264).

Ústredným bodom práce bolo tiež prehodnotenie vzťahu medzi politikou a obchodom, imperiálnou politikou a vzostupom nových národov. Raynal napríklad pri rozprávaní o histórii neúspešných francúzskych kolonizačných snáh na Madagaskare skutočne predložil alternatívny prístup k zakladaniu kolónií. Táto revolúcia bola podľa jeho názoru uskutočnená „jemnou cestou presvedčania“, a to najmä vďaka uspokojujivej vyhládke na výhody priemyslu. Toto všetko malo viesť k zosúladeniu celého ostrova v pláne rovnako výhodnom pre obe strany (Raynal, 1770). Čo presne mal Raynal na mysli pod „la voie douce de la persuasion“? Tvrdí, že alternatívna cesta môže

byť aj imperiálna a odvoláva sa na systém právnych predpisov, ktorý by mal byť týmto ľudom poskytnutý (Donath, 2012). Práve obrana obchodu a kolonizácie ako civilizáčného faktoru je v *Dejinách dvoch Indii* výrazná. Z týchto dôvodov navrhol Raynal kolonizáciu napodobňovaním ako možnú cestu k civilizovanosti. „Ak by Španieli skutočne sledovali svoje primárne záujmy, je možné, že pri objavení Ameriky, by sa vedeli kontrolovať – len na uzatvorenie čestných dohôd s Indiánmi, vytvorenie vzájomnej závislosti – ziskovosti medzi týmito dvoma národmi.“ (Raynal, 1770, s. 292). Osvietenská teória civilizácie bola vyjadrená prostredníctvom vzorca „dvojitý obchod“ – forma obchodu, ktorá uznávala potrebu európskeho podmanenia mimoeurópskych krajín a národov, a možnosť priniesť európsku civilizáciu iným národom, avšak – a to nevyhnutne – bez násilia. Raynal chcel tento postoj obhajovať, no Diderot tento projekt rozobral, a ukázal, že civilizácia bola len maskou násilného dobývania. Týmto spôsobom posledný menovaný ponúkol mimoriadne a nezvyčajné vyvrátenie osvietenskej ideológie a jej civilizáčnej stratégie (Imbruglia, 2015).

Okrem historických interpretácií Raynala, ktoré odsudzujú existujúcu koloniálnu politiku, Diderot pridal do diela svoje pohľady, ktoré sa prirodzene opierali o právne a najmä filozofické aspekty. Jeden z hlavných problémov, ktoré musel riešiť, bolo vylúčenie. Etické zásady rešpektu a reciprocity boli v tom období často obmedzené len na niektorých členov, či už národa, kmeňa, náboženstva alebo celej civilizácie. Rozdiel medzi vlastnou spoločnosťou a "barbarmi" ovplyvňoval nielen antropologické predstavy a ľudové chápanie cudzích národov, ale často aj legitimoval drasticky odlišné zaobchádzanie s rôznymi skupinami (Muthu, 2003). Skutočnosť, že domorodí obyvatelia boli od pätnásteho storočia mnohými Európanmi považovaní za podľudí, predstavovala nemalý problém. Ich ľudskosť síce bola uznávaná, no nedokázali získať rešpekt ako slobodné a samosprávne národy. Títo "podľudia", ako napríklad Indiáni, často slúžili ako empirické príklady čistých bytostí žijúcich v prírodnom stave len s čisto prírodnými vlastnosťami. Mohlo by sa zdať, že z hľadiska spoločenskej zmluvy a moderného prirodzeného práva človek nemôže byť viac ako čistý či prirodzený. Toto identifikovanie viedlo k ešte väčšiemu prehĺbeniu priepasti medzi európskym "my" a "oni", čo nakoniec zjednodušilo dehumanizáciu "tých druhých" v praxi a oslabovalo možnosť akéhokoľvek zmysluplného súcitu s ich utrpením. Napriek tomu Diderot predstavil nový koncept, ktorého hlavným cieľom bolo kontrastovať s týmto tradičným definovaním človeka a ľudskosti (Muthu, 2003).

Diderot predstavuje myšlienku, že ľudia sú predovšetkým kultúrnymi tvormi, čo znamená, že práve a len vďaka tomu majú a využívajú celý rad racionálnych, emotívnych, estetických a obrazových schopností, ktoré používajú na vytváranie, udržiavanie a transformovanie rôznych praxí a inštitúcií. Podľa týchto autorov je skutočnosť, že ľudia sú kultúrnymi agentmi, základom rôznych morálnych, praktických a hodnotových princípov a pohľad na ľudí týmto spôsobom potvrdzuje ich postavenie ako rozumných a slobodných jednotlivcov (Muthu, 2003). Táto myšlienka úzko súvisí s pojmom "celkovej nekomparability" (Lukes, 1991), ktorá pochopiteľne hrá významnú úlohu v antiimperialistickom politickom uvažovaní. V podmienkach nekomparability nie sú k dispozícii žiadne univerzálne normy či štandardy, podľa ktorých by sa niečo dalo klasifikovať ako lepšie alebo horšie. Najlepšie sa môžeme spoliehať na čiastočné, neúplné a pluralitné normy, pretože neexistuje žiaden jednotný princíp alebo norma, s ktorou by sme ich mohli pracovať pri porovnávaní a posudzovaní (Muthu, 2003). Diderot nezastával názor, že európske inštitúcie, zvyky, praktiky alebo náboženské presvedčenie by mali slúžiť ako nejaká určujúca miera. Ak tieto „cudzie“ národy začnú byť predmetom teoretizovania ako doteraz všetci inteligentní a spoločenský jednotlivci, hoci žijú v spoločnostiach s odlišnými inštitúciami, majú rozdielne praktiky a hodnotové systémy, bude stále ťažšie vytvárať rozsiahle súdy o ich menejcennosti, aj keď sa takéto spoločnosti ako celok považujú za menej zložité ako európske spoločnosti (Muthu, 2003). Pluralizmus ľudského života existuje práve vďaka interakciám medzi ľuďmi a "cudzou" klímou, technológiami, sociálnymi a politickými podmienkami a ďalšími faktormi. Preto vždy existoval úzky a priamy vzťah medzi Diderotovou filozofickou antropológiou a jeho chápaním spoločenského života a kultúrneho pluralizmu. Rešpektovať ľudskú slobodu znamená aj rešpektovať kultúrny pluralizmus, ktorý čiastočne definuje samotnú našu ľudskosť (Muthu, 2003). Keď hovoríme o tom, že všetci ľudia sú "kultúrnymi činiteľmi" v kontexte koloniálnych a postkoloniálnych politik, je dôležité poznamenať, že aj Diderot sa dištancoval od konceptu o "ušľachtilom divochovi" a veril, že všetci majú rovnakú schopnosť

vytvoriť si vlastnú civilizáciu. Pred Diderotom bol mýtus o "ušľachtilom divochovi" súčasťou myšlienok mnohých autorov, ktorí, aj keď kritizovali európske expanzie, nevedeli úplne pochopiť a stotožniť sa s kolonizovanými ľuďmi. Tricoire upozorňuje, že tento mýtus bol prekážkou k vytvoreniu skutočného protikoloniálneho myslenia a záväzkov z neho prameniacych. Podľa Muthua (2003) sa Diderotova filozofia začala od základov pretvárať v momente, keď prestal považovať neeurópske kultúry za "divoké" a začal ich vnímať ako "kultúrne činitele", vďaka čomu si uvedomil, že európska civilizácia nie je univerzálna. V tom momente sa Diderot stal "protikoloniálnym filozofom," a *Dejiny dvoch Indii* pretvoril na vojnovú stroj, zbraň proti kolonializmu, ako to prvýkrát vysvetlil Hans Wolpe (Wolpe, 1957).

Z dejinno-filozofického pohľadu je podľa nášho názoru evidentné, že *Dejiny dvoch Indii* predstavujú dielo, ktoré sa jasne postavilo proti starému režimu a ustáleným dogmám. Obaja hlavní autori, Raynal a Diderot, jednoznačne odsúdili nespravodlivú a násilnú kolonizáciu európskych imperiálnych mocností. Témy slobody a ľudskej dôstojnosti, rovnako ako rovnosti, získali nový význam, ale ich podstata, ktorej základy postavili a predstavili práve kritici kolonializmu, zostala nezmenená. Dielo dokonca prilákalo tvorcov americkej Ústavy na konzultácie do Paríža a tiež zaznamenalo veľký záujem v Poľsku a Rusku. Jednou z hlavných tém *Dejín dvoch Indii* bola sloboda, ktorú Poliaci vnímali najmä v súvislosti s národnou nezávislosťou, zatiaľ čo Rusi ju interpretovali ako potrebu oslobodenia roľníkov a zrušenia cárskej moci. *Dejiny dvoch Indii* čítala dokonca aj ruská cárovná Katarína II., ktorá text zásadne odmietla a rovnako ako vo Francúzsku, bol zakázaný aj v Rusku. Aj napriek tomu sa raynalovsko-diderotovské témy objavili v sociálnom a politickom myslení dekabristov, ktorí svoj počiatok slobodného uvažovania prisudzovali čítaniu práve *Dejín dvoch Indii*, a to ešte omnoho skôr, než došlo k ich povstaniu. Dekabristi nadviazali kontakty s Poľskom a hoci existovali rozdiely, ako napríklad v otázke národných hraníc, ich ciele boli rovnaké: zrušenie cárskej moci, obnova nezávislosti Poľska, oslobodenie roľníkov, náboženská tolerancia a sloboda prejavu (Skrzypek, 1991).

## Záver

Diderotov filozofický vplyv bol počas francúzskeho osvieteného obdobia skutočne významný. Ako sme sa však snažili dokázať, vrcholom jeho politickej filozofie boli až jeho príspevky do *Dejín dvoch Indii*, v ktorých predstavil svoju doposiaľ najúprimnejšiu a najkomplexnejšiu kritiku súdobých spoločenských, ekonomických a politických pomerov. Raynal ako hlavný a jediný priznaný autor síce zastával prevažne rovnaký postoj znechutenia, no zároveň ponúkol alternatívnu, nenásilnú formu kolonizácie. Z tohto pohľadu mnohí kritici, ako napríklad Strugnell (2011), či Agnani (2013) popierajú, že by dielo mohlo niesť prívlastky antiimperialistické alebo antikoloniálne. My sa však s takýmito názormi nestotožňujeme. Naším cieľom bolo dokázať, že hoci rôznymi spôsobmi obaja hlavní autori odmietali násilnú imperiálnu politiku, a to spôsobom veľmi kritickým a inovatívnym. Ich dielo sa stalo inšpiráciou nielen v ich domácom prostredí, ale poslúžilo aj iným národom a krajinám v ich liberálno-demokratických snahách. Naším cieľom bolo zároveň ukázať, že za tento úspech boli zodpovedné najmä početné príspevky Denisa Diderota, ktoré transformovali spočiatku historickú prácu na kritický politicko-filozofický traktát, plný boja za základné ľudské práva a slobody všetkých spoločentiev, samozrejme, bez rozdielov.

## Literatúra

AGNANI, S., 2013. Hating Empire Properly. The Two Indies and the Limits of Enlightenment Colonialism. New York: Fordham University Press.

CUNNINGHAM, M. J., 2016. Guillaume-Thomas Raynal, abbé de Raynal [online]. [cit. 2021.12.01.] Dostupné na: <https://www.britannica.com/biography/Guillaume-Thomas-abbe-de-Raynal>

DONATH, CH., 2012. Persuasion's Empire: French Imperial Reformism, 1763-1801 [online]. San Diego: University of California [cit. 2021.10.20.] Dostupné na:

[https://escholarship.org/content/qt2vn678s1/qt2vn678s1\\_noSplash\\_bdf4c8adc6e76dec588367b993b58161.pdf?t=msyhz3](https://escholarship.org/content/qt2vn678s1/qt2vn678s1_noSplash_bdf4c8adc6e76dec588367b993b58161.pdf?t=msyhz3)

IMBRUGLIA, G., 2015. *Civilisation and Colonisation: Enlightenment Theories in the Debate between Diderot and Raynal* [online]. [cit. 2021.10.14]. Dostupné na: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01916599.2015.1016316?fbclid=IwAR1Cse81zdVdMHjDNLlclglqbOQWZdOREiLvIpRmsLNCWzaSNRZl6Fxuuxfs&journalCode=rhei20>

ISRAEL, J., 2001. *Radical Enlightenment: Philosophy and the Making of Modernity, 1650–1750*. Oxford: Oxford University Press.

LABRIOLLE, F., 1964. Radišček, lecteur des philosophes français du XVIIIe siècle. In: *Cahiers du monde russe et soviétique* [online]. [cit. 2021.12.01.] Dostupné na: <https://doi.org/10.3406/cmr.1964.1586>

LUKES, S., 1991, *Moral Conflict and Politics*. Oxford: Clarendon.

MUTHU, S., 2003, *Enlightenment against Empire*. New Jersey: Princeton University Press. ISBN 0-691-11516-8

PADGEN, A., 2013, *The Enlightenment, and Why It Still Matters* [online]. Oxford: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-966093-3

RAYNAL, G. T. F., 1770. *Histoire philosophique et politique des établissements & du commerce des européens dans les deux Indes* [online]. Amsterdam [cit. 2023.07.15.] Dostupné na: [https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k109687x.pdf?fbclid=IwAR3Mr1\\_8JnDJHIJN0Gvwa-8OLRdDtp5sS21nv812JG1MWGB3XJN-pICMB7w](https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k109687x.pdf?fbclid=IwAR3Mr1_8JnDJHIJN0Gvwa-8OLRdDtp5sS21nv812JG1MWGB3XJN-pICMB7w)

RAYNAL G. T. F., 1780, *Histoire philosophique et politique du commerce et des établissements des Européens dans les deux Indes*. Genève: Pellet.

RAYNAL G. T. F., 1798, *Histoire philosophique et politique du commerce et des établissements des Européens dans les deux Indes*. Genève: Pellet.

SKRZYPEK, M.: *La réception de l’Histoire des deux Indes en Pologne et en Russie au dix-huitième siècle*. The Voltaire foundation 1991.

STRUGNELL, A., 2011, *Diderot’s anti-colonialism: a problematic notion*. In: *New Essays on Diderot*, ed. James Fowler. Cambridge: Cambridge University Press & Assessment.

TRICOIRE, D., 2018, *Raynal’s and Diderot’s Patriotic History of the Two Indies, or The Problem of Anti-Colonialism in the Eighteenth Century* [online]. [cit. 2022.03.18.] Dostupné na: <https://www.jstor.org/stable/90026485>

WOLPE, H., 1957, *Raynal et sa machine de guerre. L’Histoire des deux Indes et ses perfectionnements*. Stanford: Stanford University Press. ISBN 2-307-35456-5.

# SEKULARIZOVANÝ ŠTÁT V 21. STOROČÍ

## *Secularized state in the 21. century*

**Dominik Urban**

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Právnická fakulta*

**Abstrakt:** V predkladanom článku zameriavame našu pozornosť na nadčasovú problematiku náboženskej slobody a vzťahu cirkevnej a svetskej vrchnosti naprieč dejinným spektrom. Nekladíme si za cieľ identifikovať konečné, či akési ideálne riešenie skúmanej problematiky, nakoľko sa nazdávame, že v tak exponovanej a hodnotovo orientovanej otázke o žiadnom „ideálnom“ riešení nemôže byť reč. Naším zámerom je vychádzajúc z poznatkov právnej vedy náležite identifikovať pojem samotnej sekularizácie v kontexte štátoprávných úvah. V nasledujúcej časti nášho príspevku nám tento postup umožní stručnú komparáciu vnímania sekularizácie štátu naprieč historickými epochami. Snažiac sa o zachytenie aktuálneho stavu zdôrazníme požiadavku reciprocitu v otázkach rešpektu a tolerancie medzi veriacimi i neveriacimi členmi spoločnosti, štátnym mechanizmom i tretím sektorom. Následne zameriame našu pozornosť na analýzu existujúceho právneho stavu de lege lata v otázkach zakotvenia náboženskej slobody v podmienkach Slovenskej a Českej republiky. V záverečnej časti príspevku na podklade štatistických údajov poukážeme na dôležitosť národnej identity a jej prejavov v kontexte náboženskej slobody.

**KLúčové slová:** *sekularizácia, náboženská sloboda, vzťah cirkvi a štátu*

**Abstract:** In presented thesis we concentrate the attention on a timeless issue of the freedom of religion and relations between the Church and the State authorities across the history. It is not our goal to identify the final, or ideal solution for the issued statement, because we believe that in such an exposed and value-based question, there barely exists something like an ideal solution. Our intention is to use the knowledge of legal science, and thus appropriately identify the concept of the secularization of the state government. In the following part of our contribution this will lead us to a brief comparison of the perception of the secularized state across the times. Subsequently, we want to emphasise the need of reciprocity between the faithful and the atheists, state government and the third sector. In the following part we want to concentrate the attention on the analysis of the existing legal situation de lege lata when it comes to recognising the freedom of religion in Slovak republic and Czech republic. In the final part of our contribution, on the basis of the statistics we point out the importance of the national identity and its exposes in context of freedom of religion.

**Keywords:** *secularization, freedom of religion, relations between the Church and the State.*

## **Pojem „sekularizácia“ a jeho historický význam**

Pre modernú, na vysokom stupni organizácie rozvinutú spoločnosť 21. storočia možno skonštatovať platnosť výroku „*Podstatným prvkom liberálno-demokratického modelu štátneho zriadenia sú ľudské práva.*“ – (Zemánek, 2022, s. 76) Autor spomínaného konštatovania však pokračuje ďalej, keď túto tézu rozvíja tvrdením, že „*problémom fenoménu ľudských práv je ale už samotné vymedzenie toho, čím sú a ako majú byť chápané.*“ (ibid. s. 77) Ľudské práva, ich pôvod a obsah vo všeobecnosti predstavujú *nadpozitívnu, metafyzickú kategóriu*, (Gažík, 2008, s. 36) čo v dnešnom svete technokracie sťažuje ich postavenie na piedestál spoločenského vnímania. Nepochybne však svojimi praktickými dôsledkami smerujú k naplneniu konečného účelu právnej regulácie, ktorým aj napriek postupujúcej vede a technickému pokroku zostáva v očiach právnej vedy spravodlivosť (Káčer, 2021, s. 333). Naším cieľom bude v tejto časti identifikovať vzťah náboženských a cirkevných autorít naprieč historickými obdobiami a dospieť tak k uznaniu prirodzeno-právneho základu slobody náboženského vyznania jednotlivca. Avšak aby k tomuto cieľu bolo možné dospieť, považujeme za nevyhnutné sa v prvom rade venovať problematike kľúčových pojmov, charakterizujúcich vzťah štát – cirkev, či svetská – duchovná autorita.

Za týmto účelom pristúpime v prvom rade k systematizácii a analýze definícií pojmov ako „sekularizácia, či spiritualita, spirituálny, duchovný... V prvom rade sa budeme venovať pojmu



„spiritualita“ a jeho lexikálnemu významu. Vychádzajúc zo slovníkovej definície je možné pod týmto pojmom rozumieť charakteristický „duchovný ráz,“ či „zameranie na duchovnú stránku.“ (SCS, akademický 2005). Z pohľadu teologicko-historického, však už ide o značný posun a konkretizáciu vnímania daného pojmu, keďže vnímame daný pojem ako „*spojenie teórie a praxe duchovného života, kedy hlavným zdrojom náboženských tradícií nie je pevne daná náuka t.j. teológia, ale ľudská skúsenosť.*“ (Sheldrake, 2003, s. 41). Konkrétne ľudskému subjektu sa následne spiritualita javí ako „*vnútorná dimenzia spojená so všeobecným hľadaním a poznávaním významu, celku, sebetranscendencie a spojenia s inými.*“ (Partridge, 2006, s. 379). V spomínanom kontexte možno uvažovať aj o adjektíve „spirituálny,“ ako o pojme odkazujúcom na čosi duchovné, nadzmyslové, či metafyzické. (SCS, akademický, 2005).

Posúvajú sa na opačný koniec lexikálneho spektra teraz pristúpime k lexikálnej a následne právno-filozofickej analýze obsahu pojmu „sekularizácia.“ Pomerne neštandardne je orientovaná prvá zo slovníkových definícií skúmaného pojmu, keď poukazuje na „*zoštatnenie cirkevného majetku.*“ (ibid.) Každopádne, možno aj tento význam obhájiť historicko-dobovým kontextom jeho aplikácie, keďže sa uznáva, že bol používaný v období druhej polovice 19. storočia a súvis vykazoval v tomto období taktiež s odchodom mníchov, či mníšiek z kláštorov. V období nasledujúceho polstoročia už však tento pojem nadobudol úplne nové rozmery v dôsledku *intenzívneho vplyvu sociológie na jeho obsah.* (Hanuš, 2007, s. 5) Nasledujúce z definícií už však pomerne presne vystihujú, že v bežnej reči ide o „*presadzovanie svetského pred cirkevným, laicizáciu, či obmedzovanie cirkevného vplyvu.*“ (SCS, akademický, 2005). Z právno-filozofického pohľadu však Taylor upozorňuje na to, že „*pojmy ako sekularizácia, sekularizmus, či sekularita sú často dezinterpretované a to najmä kvôli akejsi falošnej dichotómii medzi sakrálnym, teda posvätným a sekulárnym, čiže svetským.*“ (Valčo, 2018, s. 173). Ešte zaujímavejšia situácia však nastáva pri lexikálnom a právno-filozofickom rozbere obsahu adjektíva „sekulárny.“ Keď v tejto súvislosti vezmeme do úvahy znenie slovníkovej definície, dospejeme k poznaniu toho, že sekulárny vo svojej podstate znamená „*neveriaci, nevyznávajúci náboženstvo, či ateistický.*“ (SCS, akademický 2005). Nazdávame sa, že z uvedených definícií je najvhodnejšou alternatívou spojenie „nevyznávajúci náboženstvo“ a to z toho dôvodu, že zostávajúce pojmy sa javia ako nad potrebnú mieru vyhraňujúce sa voči skúmanému fenoménu. Taylor však pri skúmaní adjektíva „sekulárny“ postupuje do značnej, historickej hĺbky, keď je z jeho pohľadu možné rozlišovať hneď tri historické obdobia a pohľady na uvedený pojem.

V minulosti v období stredovekého, „mystériom nasiaknutého“ sveta, nazývaného aj „Enchanted world“ dochádzalo k pomerne intenzívnemu, tesnému prepojeniu, politického a kultúrneho života v Európe. Považujúc aj sféru náboženského vyznania za súčasť kultúrneho života členov spoločnosti sa v tomto čase označenie sekulárny vzťahovalo na svetské aktivity, teda aktivity bežného života, ktoré neboli považované za posvätné – ako napríklad farmárčenie, rodinný život, remeslá a podobne. (Valčo, 2018, s. 178). Adjektívum sekulárny sa síce v tomto čase nevzťahovalo na tie „*najvznešenejšie, či najušľachtilejšie ľudské činnosti, je však nutné skonštatovať, že nebolo vnímané v negatívnom kontexte.*“ (ibid. s. 178).

Pre zmenu právno-filozofického nazerania na pojem „sekulárny“ je významný posun na časovej osi smerom k ére viery v osvietený ľudský rozum. Pre toto obdobie je charakteristické oslobodenie ľudského rozumu od akéhokoľvek vplyvu skostnatených, tradičných stredovekých dogiem a verejný priestor v tomto ohľade žiadnym spôsobom nezaostáva. Medzi učencami tohto obdobia sa rozširuje presvedčenie, že verejný priestor „*je a musí ostať zbavený akéhokoľvek odkazu na transcendentno – či už inštitucionalizované vo forme náboženstva, alebo nie.*“ Tento priestor sa, povedané Taylorovými slovami, stáva „*vyprázdnený od Boha či akejkoľvek zmienky o absolútnej skutočnosti.*“ (Taylor, 2007, s.2) Komparujúc už len prvé dva náhľady na pojem sekulárny dochádzame k jednoznačným záverom. So vzrastom viery v schopnosti ľudského intelektu došlo k vytlačeniu duchovna z verejného priestoru, už azda okrídlenými slovami nihilistu F. Nietzscheho došlo k „vražde Boha,“ keď píše: „*Boh je mŕtvy! Boh zostane mŕtvy! A my sme ho zabili! Ako sa utešíme, vrahovia všetkých vrahov? To najsvätejšie a najmocnejšie, čo svet doteraz mal, vykrvácalo pod našimi nohmi – kto z nás zmyje túto krv? Akou vodou sa môžeme očistiť?*“ (Nietzsche, 2021, s. 16).

Ak chceme zavŕšiť triádu spôsobov nazerania na pojem „sekulárny,“ je nevyhnutné, aby sme sa presunuli do súčasnej doby. Za účelom ešte presnejšieho odlíšenia od predchádzajúceho vnímania sa ako vhodnejšie javí dokonca použiť pojem sekularita. Túto sekularitu následne vnímame ako „posun od spoločnosti, kde viera v Boha bola nespochybnovaná a v zásade nespochybniteľná ku spoločnosti, v ktorej je viera chápaná ako jedna možnosť medzi mnohými – a ako taká často býva skôr tou náročnejšou možnosťou. Žiť v týchto podmienkach znamená, že sme sa rozlúčili s predstavou, podľa ktorej veda vyvracia a tým aj definitívne vytesňuje náboženskú vieru“ (Taylor, 2007 s. 3-4). Viera v Boha sa za takýchto okolností stáva jednou z možností, medzi ktoré nepochybne patrí aj možnosť prežívať život bez akéhokoľvek vzťahu k niečomu, čo by nás presahovalo (transcendovalo) viac ako spoločná predstava ľudského blaha.

Ako je možné postrehnúť, sekularizácia štátu a jej vnímanie v širších, celospoločenských súvislostiach podobne, ako mnohé ďalšie spoločenské fenomény podlieha nevyhnutným zmenám v priebehu času. V snahe o priblíženie praktického vnímania sekularizácie a s ňou spojenej segregácie určitej skupiny obyvateľstva z dôvodu náboženského vyznania v obzvlášť citlivom období minulého storočia, v tejto časti poukážeme na konkrétne príklady vplyvu vierovyznania na uplatnenie jednotlivca v spoločenskom živote. V Československej socialistickej republike totiž „byť veriacim, znamenalo čosi omnoho viac, než len „v pokoji a mieri prežívať vnútorný vzťah s čímisi nadpozemským.“ (Hlavinková, 2007, s. 60) Išlo o život v postavení s identitou, na ktorú boli kladené špecifické, mimoriadne nároky. Túto zjavnú nerovnoprávnosť možno nepochybne odôvodniť politicko-historickým kontextom vtedajšej doby. Pre spomínané obdobie je charakteristické, že spoločnosť a vnímanie praktického vierovyznania boli determinované autoritárskou politikou a celý spoločenský systém bol pod stranícko-vládnu kontrolou. Akousi „hlavou“ celého vládnuceho socialistického režimu bola teda ideológia marxizmu-leninizmu, ktorá si ako vládna, totalitná ideológia kládla mocensky presadený nárok byť univerzálnym diskurzom. „Akýkoľvek partikulárny diskurz, ponúkajúci idey kontrastujúce s presadzovanou štátnou ideológiou bol teda a contrario neprípustný a potlačaný ako forma odporu.“ (Hlavinková, 2007, s. 62) Mohli by sme sa nazdávať, že azda vo svetovom meradle sa z historického pohľadu žilo nábožensky ovplyvnenej časti obyvateľstva jednoduchšie, než aj v tomto prípade platí, že opak je, žiaľ pravdou. Aj v takom Francúzsku totiž platilo ešte v 50. rokoch 19. str. presvedčenie republikánov o potrebe odmietnutia, potlačenia prejavov katolíckej viery a to vôbec nie v zanedbateľnom meradle. Totiž, v tomto čase sa medzi kritikov tunajších cirkevných predstaviteľov zaradili tzv. „Spiritualisti.“ Pováčšine išlo o bývalých katolíkov, ktorí „síce odmietali uznať autoritu cirkvi či katolíckych inštitúcií, avšak zachovali si v živote spirituálny rozmer a vieru v Boha často s väzbou na určitý nedogmatický druh kresťanského náboženského presvedčenia a odmietanie materializmu.“ (McLeod, 2000, s. 54) Keď našu pozornosť zameriame na štáty súčasnej vyspelej západnej Európy, možno sa z dostupných prameňov oboznámiť s tvrdeniami typu: „Tento prístup je (chvalabohu?) prekonaný a dnešný diskurz možno charakterizovať konštatovaním, že spoločenstvá štátov neskorej modernej Európy tvoria výnimku z pravidla súčasnej celosvetovej deprivatizácie náboženstva a sociálnej desekularizácie. Toto je odôvodnené tým, že sa štátne útvary sa per se definujú ako sekulárne – v zmysle nenáboženské, či „odsúvajúce akúkoľvek formu religiozity do privátnej sféry.“ (Berger, 1999, in Nešpor, 2007, s. 17)

## Vzťah štátu a cirkvi v súčasnosti

Úvodom tejto časti nášho rozboru sa podujmeme komparovať existujúcu právnu úpravu niekdajších bratských národov, teda Českej a Slovenskej republiky v otázkach vzťahu štátnomocenského aparátu voči náboženským skupinám existujúcim a pôsobiacim na území týchto štátov. Vychádzajúc zo znenia nášho ústavného textu je potrebné skonštatovať, že sme považovaní za „zvrchovaný, demokratický a právny štát, neviazaný na nijakú ideológiu, ani náboženstvo.“ (Ústava Slovenskej republiky č. 460/1992 Zb., čl. 1 ods. 1). Zo systematického hľadiska považujeme definovanie vzťahu štátneho mechanizmu voči akýmkoľvek kultúrnym, filozofickým, ale i náboženským smerom hneď v znení úvodného článku Ústavy za vhodné, presvedčivé a racionálne odôvodniteľné. Priznanie hodnotovej neutrality, indiferencie či rámca racionálnej koexistencie svetskej a duchovnej sféry považujeme zvlášť v súčasne hodnotovo roztrieštenej spoločnosti za nesmierne podstatné. Český

ústavodarca však pri riešení otázky nastolenia limitov vplyvu náboženských skupín na celospoločenské dianie postupoval z legislatívno-technického hľadiska značne odlišne. V úvodnom ustanovení právneho textu najvyššej právnej sily totiž o bezprostrednom vzťahu k náboženským skupinám nepadá ani zmienka. Na druhej strane však treba postrehnúť, že logickým výkladom textuálneho znenia „*právní stát založený na úctě k právům a svobodám člověka a občana*“ (Ústava Českej republiky č. 1/1993 Sb., čl. 1 ods. 1) možno jednoznačne dospieť k uznaniu akéhosi relativistického „*ži a nechaj žiť.*“ Medzi práva a slobody človeka, ako ľudskej bytosti, totiž bez ohľadu na existenciu, či neexistenciu štátoobčianskeho zväzku s určitým štátnym útvarom dozaista patrí aj právo slobody náboženského vierovyznania. V našich podmienkach možno ukotvenie tohto subjektívneho práva vnímať ako súčasť širšej rubriky označenej ako „*sloboda myslenia, svedomia a presvedčenia.*“ (Ústava SR č. 460/1992 Zb., čl. 24). Keď pátrame po výslovnom ukotvení imperatívu náboženskej neutrality Českej republiky ako štátneho zriadenia, dopracujeme sa k nemu gramatickým výkladom ustanovenia Listiny základných práv a slobod, kde je obsiahnuté: „*Stát je založen na demokratických hodnotách a nesmí se vázat ani na výlučnou ideologii, ani na náboženské vyznání.*“ (Jáger, 2010, s. 2851) V tejto súvislosti je ešte podstatné podotknúť, že zo systematického pohľadu je samotná Listina ex constitutione (čl. 3 Ústavy ČR) súčasťou tunajšieho ústavného poriadku, teda je jej priznaná rovnaká právna sila a vážnosť ako normám samotnej Ústavy ČR.

Záverom tejto časti, pred zhodnotením dostupných štatistických údajov budeme venovať pozornosť taktiež vzťahu a vnímaniu slobody vierovyznania vo svetle noriem (primárne) hospodársko-ekonomického zoskupenia štátov súčasného Starého kontinentu. Predovšetkým je potrebné skonštatovať, že sociálna, kultúrna a náboženská pluralita je v európskom priestore vnímaná ako jej vlastné historické dedičstvo a súčasť jej stáročnej kultúrnej identity. Je objektívnym faktom, že do dnešných dní v Európe možno rozpoznať štáty „*s vysokou úrovní jednak kulturnej a náboženskej plurality a rozmanitosti, a súčasne politickej i ekonomickej stability, ako povedzme Švajčiarsko.*“ (Opatrný, 2021, s. 15) Uvedený príklad však možno považovať z nášho pohľadu za výsostne vzácny a to aj s odkazom na osud historických príkladov multietnických štátnych útvarov. Ako jeden príklad za všetky si dovoľujeme uviesť osud Habsburskej monarchie, kde počas dlhých temer štyroch storočí „*dokázali síce vzájomne koexistovať katolícki, pravoslávni a protestantskí veriaci spoločne s príslušníkmi moslimského vierovyznania.*“ (ibid. s. 17) Avšak opätovne je z historických prameňov známy výsledok tejto koexistencie, a teda rozpad a zánik spomínaného štátneho útvaru a vznik nových, na národnom princípe postavených štátnych útvarov.

Pre európske prostredie je ďalej možné skonštatovať prítomnosť odlišného vzťahu k náboženstvu a spiritualite v jednotlivých európskych krajinách s odôvodnením týchto odlišností v snahe o kultúrnu a národnostnú emancipáciu vlastného národného štátu. Ako príklad nám môže slúžiť situácia Poľskej republiky, geopoliticky situovanej v prostredí medzi primárne protestantskou časťou SRN, teda Saskom a pravoslávnu Ruskou federáciou. Je len a len prirodzené, že intenzívny vplyv katolíckeho náboženstva v týchto geopolitických reáliách je odôvodnený snahou o identifikáciu vlastnej národno-kultúrnej identity podobne, ako možno obdobný proces pozorovať v prípade „*čoraz väčšmi sekularizovaného svetonázoru v Českej republike.*“ (Václavík, 2010, s. 53)

V záverečnej časti príspevku pristúpime k prezentácii a zhodnoteniu štatistických údajov zozbieraných a analyzovaných v medzinárodnej komparatívnej štúdií Dany Hamplové z prelomu tisícročí. (Hamplová, 2000) Podstatou týchto dát je jednak nadštátna sumarizácia a komparácia intenzity náboženského vyznania jednotlivých krajín, ale, nemenej podstatne aj následne postrehnúť intenzitu vonkajšieho prejavu a zdieľania vlastného náboženského presvedčenia s inými podobne nábožensky presvedčenými jednotlivcami.

Tab. 6: Krajina podľa náboženského vierovyznania

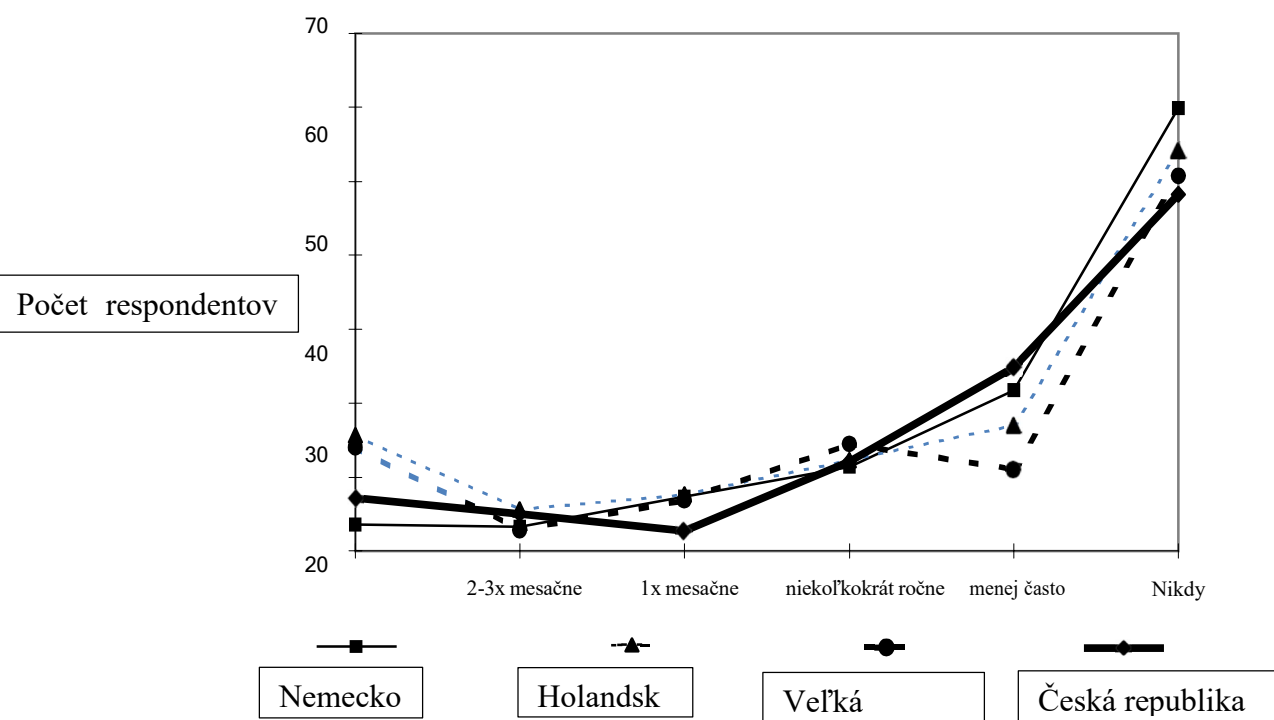
Štát	Vyznanie kresťanské					Bez vyznania alebo neuvedené			
	kresťanské					nie			
	áno								
	rímsko- katolícke	abs.	ostatné	abs.	v %	abs.	v %	abs.	
Česká republika	45,7	559	7,8	95	0,6	8	45,9	562	
Filipíny	85,0	1020	12,8	153	2,1	26	0,1	1	
Irská republika	93,0	935	3,6	36	1,7	17	1,7	17	
Itálie	93,1	914	0,1	1	0,7	7	6,1	61	
Maďarsko	73,1	691	21,5	250	0,5	5	4,9	54	
Nemecko (NDR)	5,7	84	29,1	431	1,0	15	64,2	956	
Nemecko (SRN)	42,7	573	44,7	602	2,0	27	10,6	144	
Nizozemí	22,1	360	19	310	3,5	58	55,4	907	
Norsko	0,6	9	90,5	1346	2,8	42	6,1	109	
Nový Zéland	13,6	138	54,3	529	0,8	32	31,3	371	
Polsko	96,0	1012	-	-	0,8	8	3,2	43	
Rakousko	81,1	798	6,8	67	2,0	20	10,1	99	
Rusko			30,6**	838	1,3	34	68,1	2092	
Severní Irsko	34,0	275	54,7	461	0,2	2	11,1	100	
Slovinsko	82,8	1693	4,0	83	2,2	45	11,0	293	
USA	26,4	359	59,4	807	4,0	54	10,2	139	
Velká Británie	11,1	139	49,7•	618	2,5	35	36,7	465	

Zdroj/Popis/Vysvetlivky: ISSP 1991 – zahraničné dáta a ISSP 1998 - dáta za Českú republiku (in: Hamplová, 2000, s. 16).

\* Zahŕňa 3,3 % príslušníkov gréckokatolíckeho vierovyznania

\*\* Pravoslávna cirkev

• Z toho 37,4 Anglikánska cirkev

**Graf 7:** Graf 1 - Frekvencia účasti na bohoslužbách podľa krajín (Skupina sekularizovaných krajín)

Zdroj: ISSP 1991 - zahraničné dáta a ISSP 1998 - dáta za Českú republiku.

Z prezentovaných dát možno odpozorovať značné rozdiely jednak medzi krajinami strednej a východnej Európy a na druhej strane stojacimi príkladmi južnej, či severnej časti Starého kontinentu, najmä Talianskej a Írskej republiky, kde sa fenomén rímskokatolíckej viery rozšíril v značne intenzívnejšej miere. Avšak spomínané rozdiely možno badať aj medzi susediacimi krajinami, čo je možno ešte zarážajúcejšie. Ako sme však v tomto príspevku načrtli, aj príklad vzájomne susediacich štátov – teda Českej a Poľskej republiky a vplyvu náboženského presvedčenia na život v spoločnosti je možné plne odôvodniť geopolitickými súvislosťami formovania vlastného, národného povedomia.

## Záver

V predkladanom príspevku bolo našim zámerom venovať pozornosť často prehliadanej, no zaiste nie nepodstatnej problematike sekularizácie a náboženskej slobody na pozadí národnej identity v podmienkach kontinentálnej Európy. Naša pozornosť bola partikulárne zameraná na geografické prostredie európskych štátov s osobitou pozornosťou venovanou najmä komparácii Slovenskej a Českej právnej úpravy, ale aj analýze štatistických dát zaoberajúcich sa otázkou rozšírenia fenoménu náboženského vyznania na kontinentálnej úrovni. Našou snahou bolo poskytnúť čitateľovi nielen podrobný prehľad o zmenách v historickom nahliadaní na pojem sekularizácie štátu a súvisiacich pojmov, ale tiež zohľadniť aj interdisciplinárnu skúmanú problematiku a zahrnúť do príspevku aj poznatky teológie, filozofie, či sociologických výskumov.

## Literatúra

Fasora, L., Hanuš, J., Malíř, J. et al.. Sekularizace českých zemí v letech 1848-1914. 1. vyd. Brno: CDK, 2007. 138 s. ISBN 978-80-7325-117-8.

Gažík, P. Vybrané state z dejín filozofie a náboženstva. Žilina: Fakulta prírodných vied Žilinskej univerzity v Žiline, 2008, s. 36–37). in Turčan, M.: Ľudské práva v kontexte kresťanskej teológie dnes. Praha: Advent-Orion, 2021. 270 s. ISBN 978-80-7172-525-1.

- Gehrig, R. B., Opatrný, M., Birher, N. et al.: *Spiritualita, etika a sociální práce*. 1. vyd. Freiburg: Frei dok plus, 2021. 270 s. ISBN 978-3-928969-89-5.
- Hamplová, D.: *Náboženství a nadpřirozeno ve společnosti - Mezinárodní srovnání na základě empirického výzkumu ISSP (International Social Survey Programme)*. Praha: Sociologický ústav AV ČR, 2000. 64 s. ISBN 80-85950-79-0.
- Hlavinková, L.: *Socialismus jako sekularizovaná společnost „Být věřícím“ v době socialismu – případová studie*. Pardubice: Pantheon. 2, 2007. s. 62-71.
- JÄGER, P.: *Quae sunt Caesaris, Caesari : Náboženské odkazy v judikatuře*. In Radovan Dávid - David Sehnálek - Jiří Valdhans. *Dny práva – 2010 – Days of Law*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita. s. 2848-2860. ISBN 978-80-210-5305-2. 2010.
- Káčer, M.: *Opodstatnenie procesnej spravodlivosti*. *Právny obzor*, 104, 2021, č. 5. s. 333 – 344.
- McLeod, H.: *Sekularizace v západní Evropě*. 1. vyd. Brno: CDK, 2008. 367 s. ISBN 978-80-7325-161-1.
- Nešpor, Z.: *Paradoxy sociálního a politického působení náboženství v „sekularizované“ Evropě - Sociální studia*. *Fakulta sociálních studií Masarykovy univerzity*, 3/ 2007. S. 17–30. ISSN 1214-813X.
- Nietzsche, F.: *Tak pravil Zarathustra*. Praha: Vyšehrad, 2021. 304 s. ISBN 978-80-7601-481-7.
- Partridge, Ch.: *Vievy a vyznania - Nový sprievodca náboženstvami sveta*. 1. vyd. Bratislava: Slovart, 2006. 496 s. ISBN 80-8085-132-8.
- Sheldrake, P.: *Spiritualita a historie. : Úvod do studia dějin a interpretace křesťanského duchovního života*. 1. vyd. Brno: Centrum pro studium demokracie a kultury, 2003. 231 s. ISBN 80-7325-017-9.
- Slovník cudzích slov (akademický)*. 2., doplnené a prepracované vyd. Spracoval kolektív autorov pod vedením V. Petráčkovej a J. Krausa. Preklad Ľ. Balážová, J. Bosák, J. Genzor, I. Ripka, J. Skladaná. Ed. Ľ. Balážová – J. Bosák. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo – Mladé letá 2005. 1054 s. ISBN 80-10-00381-6. (online). dostupné na: <https://slovník.juls.savba.sk/?w=spiritualita&s=exact&c=Gc0a&cs=&d=scs#>
- Taylor, C. A. *Sekulární věk*. 1. vyd. Praha: Filosofia, 2013. 566 s. ISBN 978-80-7007-393-3.
- Ústava České republiky č. 1/1993 Sb.
- Ústava Slovenskej republiky č. 460/1992 Zb.
- Václavík, D. *Náboženství a moderní česká společnost*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2010. 243 s. ISBN 978-80-247-2468-3.
- Valčo, M.: *Sekularizácia ako výzva pre tradičné náboženstvá Európy podľa Charlesa Taylora*. In *Historia Ecclesiastica*, IX, 2018, 1.
- Zemánek, L.: *Metaphysical Foundations of Liberal Democracy* *FILOZOFIA*, 77, 2022, No 2, s. 71-84.

# K ŠTYLISTICKÝM ASPEKTOM VÁLKOVÝCH PREKLADOV VERLAINA

*Translation of Verlaine's Poems by M. Válek and Its Stylistic Features*

Samuel Vahovský

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Filozofická fakulta*

**Abstrakt:** Príspevok sa venuje vybraným stylistickým, ako aj poetologickým aspektom prekladu dvoch vybraných prekladov básní francúzskeho symbolistického básnika Paula Verlaine z pera básnika a prekladateľa Miroslava Válka. Cieľom príspevku je poskytnúť na príklade daných básní ucelenejší pohľad na Váľkov prekladateľský rukopis a zároveň poukázať na kvalitu jeho tvorivých básnických a prekladateľských zručností. V podrobnejšej analýze rozoberáme oba z vybraných textov a identifikujeme a obhajujeme všetky posuny, ku ktorým v texte došlo, prípadne navrhuje vlastné riešenie tam, kde došlo v preklade k negatívnemu posunu.

**KPúčové slová:** *Verlaine, Válek, preklad, štýl, posun*

**Abstract:** The paper aims to analyse selected stylistic and poetic features of the translation of two of the poems of French symbolism author Paul Verlaine, done by a poet and a translator, Miroslav Válek. It also aims to give a more general view, based on the two exemplary translations, on the specific trace of Miroslav Válek as a poetry translator, as well as to emphasise the quality of his poetic and translation abilities. In a more detailed analysis, we focus mainly on the style of the given poems and we identify and justify the movement towards the lack and the abundance that happened in the course of the translation, while providing our own translation varieties of verses where such movement happened towards the lack.

**Keywords:** *Verlaine, Válek, translation, style, movement*

Z množstva básnikov, ktorí svojou tvorbou kreovali kánon svetovej literatúry patrí Paul Verlaine medzi tých, ktorých meno by nechýbalo v zozname žiadneho z literárnych vedcov, v mnohých prípadoch ani v zozname laickej čitateľskej obce. Osobitosť Verlainovej poetiky spočíva nie len v ukotvení symbolistických poetických črt, akými sú osobité vnímanie spoločenskej i celkovej vonkajšej reality, hudobnosť, polysémantickosť, či výrazné využívanie symbolov, ale aj v pohlcujúcej, ba až hypnotickej úprimnosti a čistote osobného vyznania. Michal Bartko v doslove k prvému slovenskému výberu z Verlainovej poézie ho nazýva najmelancholickejším z prekliatych, o čom nepochybne svedčí nie len osobitosť jeho poézie, ale aj búrlivý a citovo hlboko prežívaný život (Verlaine, 1969).

Verlaine strávil skoršiu časť svojho života v usporiadanom meštiackom rodinnom prostredí, oženil sa, mal deti a riadne zamestnanie. Zlomom v jeho osobnom i tvorivom živote boli postoje k Parížskej komúne, ktoré ho stáli jeho úradnícke miesto v mestskej rade, ako aj stretnutie s mladým básnikom Arthurom Rimbaudom, ktoré len ťažko možno označiť za iné než osudové. Vzájomný obdiv a priateľstvo, ktoré prerástlo do omnoho intímnejšieho vzťahu, primali Verlaine opustiť rodinu a vydať sa s Rimbaudom na cestu po Európe. Je pochopiteľné, že Verlaine iba ťažko znášal odchod milovaného priateľa zo svojho života, čo vyústilo do hnevliivých až zúrivých reakcií, akými bol aj incident, pri ktorom Verlaine Rimbauda postrelil. Zdrvený a opustený sa Verlaine vrátil do Paríža, no jeho manželka ho odmietla prijať. Zvyšok života strávil v plytkých spojeniach s pochybnými ženami a alkoholom, pohyboval sa takmer výlučne medzi kostolom a krčmou, pričom obe miesta navštevoval rovnako pravidelne; na jednom utápal svoj žiaľ a osamenie, na druhom hľadal pokánie a pokoj svojej ubolenej mysle v kajúcnych modlitbách. Zomrel chudobný, opustený a užialený vo veku päťdesiatjeden rokov (Verlaine, 1969).

Vo svojej poézii vychádzal z princípov silnejúceho symbolizmu, ktorý sa vo svojej prvej podobe nazýva parnasizmom, a z osobitej poézie Charlesa Baudelaira. Prvá Verlainova zbierka *Saturnské básne* (1866) bola najvýraznejšie ovplyvnená práve parnasizmom, ktorý hlásal čistotu a precíznosť umenia, *l'art pour l'art*. Týmto formálne precíznym umením sa v poézii vyznačili najmä básnici ako

Sully Prudhomme či Stéphane Mallarmé, ktorých diela sú dnes rovnakou súčasťou jadra svetovej lyriky, akou aj tvorba Paula Verlaine. Ten však už v spomínanej prvej zbierke venuje výrazný priestor hudobnosti, melodickosti verša a prírodným motívom, čím dokázal u čitateľa vzbudiť silný zmyslový aj citový zážitok. Melodicky sprostredkovaná zážitkovosť sa ešte umocnila v jeho druhej zbierke *Galantné slávnosti* (1869) a v tretej zbierke venovanej svojej manželke s názvom *Dobrá pieseň* (1870), ktorou v nás dokázal vzbudiť takú lásku a obdiv k nej, ako to dokázal pred ním azda len sám veľký Pierre de Ronsard (Verlaine, 1977).

Ďalšiu zbierku vydal Verlaine po búrlivých eskapádach s Rimbaudom, ktoré vyústili do spomínanej streľby a Verlainovho pobytu vo väzení, v roku 1874 pod názvom *Romance bez slov*. V tejto zbierke uňho dochádza k výraznejšiemu odklonu od predošlých vplyvov a začína sa éra subjektívnej lyriky vo využitých básnických prostriedkoch. Bezprostrednosť jeho citového vnímania sa pretavila do odklonu od parnasistickej požiadavky dokonalosti formy a položila dôraz na väčšiu uvoľnenosť a bezprostrednosť formy; verš sa metricky uvoľňuje, rýmy nahrádza asonancia, hudobnosť sa dostáva do úplného popredia (Verlaine, 1969).

Pobyt vo väzení vyústil do ďalších zbierok s názvom *Múdrosť* (1880), *Láska* (1888) a osobitne *Kedysi a nedávno* (1884), v ktorých Verlaine konečne vyznáva svoje skutočné ja, ja jednoduché a v tej spoločnosti stratené, nepochopené, no ani nechápajúce. Divokosť a surovosť jeho povahy, ktoré sa miesili s miernosťou a citlivosťou, dokázali unikátnou veršovou a melodickou podobou dotvoriť to, kým Verlaine-básnik bol a možno aj túžil vždy byť. Do svojej smrti publikoval ďalších päť básnických zbierok, v ktorých sa striedavo oddával erotickým motívom a vyznával vieru v Boha, ktorej sa oddal počas pobytu vo väzení (Verlaine 1977).

Slovenskému čitateľovi bola Verlainova poézia takmer storočie dostupná iba fragmentárne v slovenskom či českom jazyku. Prvý a jediný celistvejší, hoci stále obsahovo pomerne chudobný výber pod názvom *Božská láska* v preklade popredného básnika, politika a prekladateľ Miroslava Válka vyšiel až v roku 1969 vo vydavateľstve Tatran. V roku 1977 vyšiel tento výber doplnený o Váľkove preklady niekoľkých ďalších básní a o preklad niekoľkých sprievodných textov od Michala Bartka pod názvom *Vôňa tvojho tela*. Poslednej reedície sa Verlainova poézia dočkala v roku 1996 pod rovnakým názvom (Válek, 1977).

Váľkov preklad nemožno všeobecne označiť za iný než nadmieru osobitý a prinajmenšom taký hypnotizujúci, akým sú dodnes Verlainove básne. Dôkazom tejto kongeniálnej prekladateľskej práce je dozaista aj skutočnosť, že za uplynulých sedemdesiatpäť rokov sa Verlaine nového, celistvejšieho prekladu svojej poézie nedočkal. Určite je legitímne tvrdiť, že k tejto skutočnosti prispel aj faktor istého strachu, ktorý pociťuje každý prekladateľ, siahajúci po tvorbe autora, ktorá už do daného jazyka preložená bola; obavy, že nedokáže zhotoviť preklad prinajmenšom rovnako kvalitný, zvučný a presný, akým je jeho predchodca. Po prvom prečítaní Váľkových prekladov je nesporné, že taká obava je namieste.

Jednou z najvýraznejších a najčítanejších Verlainových básnických skladieb je báseň *Il pleut dans mon cœur*. Z hľadiska štýlu je táto báseň zvlášť pozoruhodná v slovenskom preklade. Začína sa veršami: „*Il pleure dans mon cœur/ comme il pleut sur la ville*“ (Verlaine, 1977, s. 39), čo doslovne možno preložiť ako: *plače mi v srdci / ako prší na mesto*. Verlaine sa tu pohráva nie len s rozdielnosťou v primárnych prepozíciách *dans* (v) a *sur* (na), ale aj s veľkou podobnosťou verba *pleurer* (plakať) a *pleuvoir* (pršať). Válek zmenil povahu tejto zdanlivej dvojznačnosti z verba na substantívnu podobu opozície *plač – dážď*, medzi ktorými je takisto istá miera zvukovej podobnosti – vokál *a* v sonante a mäkký konsonant v kóde. Problém zostávajúceho verba, ktorý si tu žiada zhodné riešenie pre oba verše, Válek vyriešil verbom *padat'* použitým iba v jednom verši, čím vznikol menej priamy, no o to nápaditejší prekladový variant: „*Plač padá cez srdce / ako dážď cez tmú mesta*“ (Verlaine, 1977, s. 39); ambiguita slovesa *padat'* pridala prekladu na emocionálnosti, zážitkovosti, apelatívniosti a imaginatívniosti. Kontrast prepozícií síce prekladateľ nezachoval, no nahradil ho veľmi nezvyčajne, predložkou *cez*. O Váľkovej motivácii v tejto otázke možno rozhodne iba špekulovať, no pravdepodobnou príčinou je zachovanie rýmovky, ktorá sa opakuje v prvom, treťom aj štvrtom verši. V opozícii s touto teóriou stojí skutočnosť, že prekladový problém bolo možné vyriešiť aj v tesnejšom



spojení so zdrojom, teda nie-len zachovaním kontrastu prepozícií, ale aj ponechaním singularnej formy substantíva *langueur* (trápenie/bolesť skôr emočná/melanchólia) v treťom verši, ktoré Válek zamenil za plurálnu formu slova *úzkost'*: „*úzkosti nesúce / zasa žiaľ pre srdce*“ (Verlaine, 1977, s. 39); originál: „*quelle est cette langueur / qui pénètre mon cœur*“ (Verlaine, 1977, s. 39), v doslovnom preklade – *čo je to za bolesť / čo mi preniká/prebodáva srdce*). Za jeden z možných prekladových variantov považujeme toto znenie: *plač padá do srdca / ako dažď na strechy mesta / odkiaľ mi prichádza / bolesť zas do srdca?...* Ďalší posun v preklade badať v zrušení otázky o povahe pocitu, ktorý Válek nahradil skôr všeobecnou opytovacou vetou; v nej badať skôr strach než nárek či pochybnosť, ktoré možno interpretovať z Verlainovho znenia. Hoci je rozdiel v ich povahe výraznejší, ich rozdiely v stupni sú vyvážené, čím sa znamenite zachovala emocionálnosť autorovej výpovede (Bergson 1970).

Druhá strofa básne dokonale ilustruje genialitu Válkových prekladateľských zručností. Prvý, druhý a štvrtý verš strofy sú preložené takmer doslovne, no zachovávajú hudobnosť a zvukovú podobnosť s originálom. V treťom verši, v pôvodnom znení: „*pour un cœur qui s'ennuie*“ (Verlaine, 1977, s. 39), v doslovnom preklade – *pre srdce, čo sa trápi*, Válek transponoval podmet zo srdca na kvapku, teda si prepožičal obraz z predošlých veršov a zosilnil emocionálnosť a zážitkovosť výpovede umocnením opakovania motívu padajúceho dažďa v paralele s padajúcimi slzami záramutku; *bolí ma kvapka každá...* Srdce v pôvodine nevystupuje syntakticky len v pozícii podmetu, ale aj predmetu, čím sa tretí verš odčleňuje od zvyšku strofy; prvé dva verše opisujú padajúci dažď, posledný verš je podobne ako prvý zvolaním (*ó, melódia dažďa*). Ústredím básne sa teda stáva verš tretí ako syntakticky aj sémanticky odlišná jednotka, čo sa v preklade zachovalo napriek zmene podmetu a objektu vety zo srdca (o ktorom možno sotva pochybovať, že by patrilo niekomu inému než autorovi) na lyrický subjekt nahradený pronomínálnou formou v predmete a zamlčaným podmetom. Zintenzívnením subjektívnosti výpovede dosiahol Válek väčší emočný náboj verša a výraznejšiu sémantickú gradáciu bez neželaného „dotvárania“ autorskej podoby básnického textu.

V tretej strofe môže pozorný čitateľ vidieť stopy prekladateľovej hĺbkovej interpretácie textu a výraznejšie manévrovanie v syntaktickej štruktúre. V prvom verši sa proti autorovej konštrukcii oznamovacej vety (*Il pleure sans raison...*), ktorú tu možno interpretovať ako konštatovanie či povzdych žiaľu a zúfalstva, objavuje Válek rozkazovací spôsob (*Len plač, plač, bez príčin...*), ktorý indikuje výčitku. Podobne badať odklon v druhom verši, kde lexikálne prepojenie syntaktických jednotiek Válek mení z Verlainovho *dans* (v) na spojku *a*, napriek nápadnej podobnosti veršov so začiatkom prvej strofy; pre porovnanie: „*Il pleure dans mon cœur / comme il pleut sur la ville...*“ (Verlaine, 1977, s. 39) a „*Il pleure sans raison / dans ce cœur qui s'écœure...*“ (Verlaine, 1977, s. 39). Pochopenie týchto zásahov do textu prichádza v treťom verši, kde prichádza prchké a vyčítavé gesto (*Quoi! Nulle trahison?*), ktoré výčitku transponuje do posledného verša (*Ce deuil est sans raison.*), čím delí báseň z pohľadu emocionálnosti na dva celky; na povzdych plný žiaľu a bolesti v prvých dvoch veršoch a na búrlivú výčitku v treťom a štvrtom verši strofy. Válek túto rovnováhu zachováva v zamenenej podobe; výčitku presúva na začiatok strofy a transponuje ju do troch veršov namiesto Verlainových dvoch, no zároveň ju v prvom verši mierne oslabuje, čím dosiahol výraznejšiu gradáciu emocionálnosti a subjektívnosti, ktorá speje k návratu od „emocionálnej vzbury“ späť do bolesti srdca.

Záverečná strofa básne je syntakticky najplynulejšia a dosahuje emočný klimax výpovede. Verše: „*C'est bien le pire peine / de ne savoir pourquoi, / sans amour et sans haine, / mon cœur a tant de peine!*“ (Verlaine, 1977, s. 39), v doslovnom preklade – *Je to ten najhorší trest / nevedieť prečo / bez lásky a bez nenávisti / ma srdce tak bolí*. Válek graficky rozčlenil na dve samostatné vety, hoci ich prepojenie je dvojznačné; pôvodné grafické členenie báseň tak striktné nedelí. Slovenský preklad: „*A srdce bez nádeje; I prečo, to netuším. I Nelúbi, zášť v ňom nie je, I len trpí bez nádeje!*“ (Verlaine, 1977, s. 39) vynecháva motív trestu z prvého verša strofy a nahrádza ho obrazom beznádeje. Na prvý pohľad by sa mohlo javiť toto riešenie ako výrazne ochudobňujúce, no v kontexte výrazu aj významu pôvodnej básne je kľúčová polysémantickosť použitého substantíva *peine* v prvom a poslednom verši strofy. Kým na začiatku strofy sa prekladá ako trest, na konci sa odhaľuje jeho druhotný význam bolesť. Válek túto dvojznačnosť nemohol ponechať v rýmovej pozícii, keďže pre tento význam nie

je možné nájsť primeraný ekvivalent. Každý prekladateľ by tu teda stál pred výzvou, ktorý z významov daného výrazového prostriedku uprednostniť a ako kompenzovať spôsobený úpadok. Válek toto verbum nahradil substantívom *nádej*, ktoré Verlaine priamo nespomína v celej básni, no je zároveň veľmi príznakové a emocionálne nabité, čím sa v preklade kompenzuje určité ochudobnenie. Obraz bolesti, ktorý je v poslednom verši kľúčový Válek nahradil verbom *trpieť* a zosilnenie v podobe pôvodného výrazu *tant* docielil spojku *len* na začiatku verša. Moduláciou do obrazu nádeje dokázal efektívne kompenzovať straty v apelatívnosti a sugestívnosti obrazu trestu a podfarbiť záver básne ako vyvrcholenie autorovho úsilia sprostredkovať autentický emocionálny zážitok.

Ďalším príkladom Válekovej intuitívnej práce so slovom, rytmom a hudobnosťou verša je báseň *Chanson d'automne*, ktorá sa vyznačuje hravou a rýchlou dikciou a výrazným hudobným princípom. Aj táto báseň je značne melancholicky ladená: „*Les sanglots longs / des violons / blessent mon cœur / d'une langueur / monotone...*“ (Verlaine, 1977, s. 12). Válek tu majstrovsky pracuje so slovom a rýmom, preklad je prinajmenšom rovnako zvučný ako pôvodná báseň, čo prekladateľ dosiahol eufonickou obmenou vokálu *o* na vokál *i* s variáciou jeho dĺžky, a hravo graduje emočné vypätie naprieč veršami aj strofami: „*Ten nárek zlý, / keď do huslí / jeseň kvíli, / sklúčuje, / srdcu je / zle v tej chvíli...*“ (Verlaine, 1977, s. 12). Možno tu vidieť, že prekladateľ ponechal význam slova *sanglots* (vzlyky/náreky) a vynechal časový aspekt z prvého verša, ten však kompenzuje v treťom verši (*jeseň kvíli*). Zároveň zachováva presah veršovej štruktúry v druhom verši, čím podobne ako Verlaine napomáha väčšej plynulosti básnickej výpovede. V druhej strofe posunul významovo aj štruktúrne Válek jediný verš, a to štvrtý (*Je me souviens*), ktorý presunul v preklade do piateho verša v znení *škoda pomyslieť*, čím výrazne exponoval emocionálnosť výpovede lyrického subjektu, ako aj motív ľútosti. Celé záverečné trojveršie možno doslovne preložiť takto: *spomínam si / na niekdajšie dni / a plačem...*, pričom v ňom autor ľútosť vyjadruje menej explicitne, ako je to v preklade (Verlaine 1969).

Posledná strofa prináša mierne oslabenie apelatívnosti a emocionálnosti v závere, hoci Válekovo riešenie obrazu *feuille morte* (suché lístie) je verným prekladovým ekvivalentom daného výrazu. Pozitívom pôvodného výrazu pre básnickú výpoveď je obraz smrti ukotvený v slove *morte*, ktorého primárnym sémantickým odkazom je smrť. Cez obraz suchého lístia sa v slovenskom jazyku čitateľ o niečo ťažšie presunie k obrazu smrti, ktorým Verlaine zakončuje túto báseň, čo nemožno vyčítať prekladateľovi. Opäť je však nevyhnutné vyzdvihnúť Válekovo hravosť a prácu s veršom a rýmom. V každej strofe došlo k formálnej desegmentácii a následnej reorganizácii veršovej štruktúry, všetky zásahy však možno označiť za nanajvýš oprávnené. Pôvodné znenie: „*Et je m'en vais / au vent mauvais / qui m'emporte / deçà, delà, / pareil à la / feuille morte*“ (Verlaine, 1977, s. 12) možno doslovne preložiť ako *A ja idem / do krutého vetra / čo ma ponesie / sem a tam / tak ako / suché lístie*. Válekovo riešenie desegmentáciou ponechalo pôvodnú plynulosť a dikciu výpovede s malou vsuvkou v podobe obrazu *pozdĺž ciest*: „*Do víchric zlých / idem a v nich / sem-tam iste / bude ma niešť / jak pozdĺž ciest / suché lístie*“ (Verlaine, 1977, s. 12). Spomínanú vsuvku možno obhájiť potrebou rýmového člena, a keďže Verlaine strávil väčšinu svojho tvorivého obdobia v Paríži, nemožno tento lokalizačný prídavok označiť za neoprávnený či neadekvátny. Podobne ako posledná strofa, celý preklad plynie s neuveriteľnou ľahkosťou, dikcia je dôsledne dodržaná a napriek päťdesiatročnej histórii znie do dnešných dní tento, ako aj ostatné Válekove preklady Verlaine, nanajvýš súčasne (Verlaine 1977).

## Záver

Prekladať poéziu Paula Verlaine nie je a nikdy nebola ľahká úloha. Dravosť, s akou sa vedel Verlaine rozohniť v návale hnevu pretavil do rovnakej dravosti, ktorou sa jeho básne dostávajú do mysli i do srdca jeho čitateľov. A taká poézia nie je nikdy na preklad jednoduchá ani prívetivá. Miroslav Válek sa tejto úlohy zhostil pred päťdesiatimi rokmi a dodnes sa nenašiel prekladateľ, ktorý by na jeho prácu nadviazal, prípadne do nej zasiahol aj iným spôsobom. Geniálnosť, hravosť, sugestívnosť, emocionálnosť, hudobnosť sú len niektoré z aspektov, ktoré mali Paul Verlaine a Miroslav Válek spoločné, a ktoré predurčili Válekovo prekladateľskú cestu.

Druhý výber z Verlaineovej poézie obsahuje Válek preklad šesťdesiatich básní, čo predstavuje nepatrný zlomok jeho rozsiahleho a unikátneho básnického diela. Každý jeden z tých prekladov je hoden samostatnej analýzy, či už z hľadiska poetologických špecifik alebo štýlového hľadiska. Vybrané básnické ukážky boli snahou o reprezentatívnu ukážku práce Miroslava Válka so štýlom a jeho variáciami aj na takej nepatrnej výrazovej ploche, akou je napríklad druhá z analyzovaných básní.

Zastávame názor, že prekladateľ umeleckej literatúry stojí na počiatku svojej tvorivej dráhy, vedome či nevedome, pred zásadným rozhodnutím. Buď bude verný autorovi textu a s pokorou, v tichosti bude tohto autora „učiť náš jazyk a našu reč“, aby tak nezameniteľné verše autora mohli získať svoju novú podobu, alebo prenechá priestor svojmu egu a bude sa uberať cestou hľadania čo najoriginálnejších riešení, čím ľahko, a takmer isto, dospeje k tvorbe parafráz či ponášok na autorovu báseň namiesto tvorby skutočných prekladov. Miroslav Válek svojou rozsiahlou prekladovou tvorbou dokázal, že existuje aj tretia možnosť; docieľiť väčšiu otvorenosť a uvoľnenosť v preklade bez zásahu vlastnej ctižiadosti, čím vzniká preklad s výrazným prekladateľovým rukopisom, no pôvodný text tým v ničom nechudobňuje, ale hlas, ktorý mu tým prepožičal znie najprirodzenejšie ako len „nevlastný“ hlas môže znieť. Michal Bartko vo svojom doslove k prvému vydaniu Verlaineovej poézie v slovenčine píše: „*Prirodzené na tomto všetkom je azda iba to, že sa na tlmočenie Verlaineovej poézie podujal básnik, svojimi počiatkami predsa len tkvejúci blízko symbolizmu, ktorého citové fondy a tvorivé ašpirácie vyvierajú kdesi tu, ale viac v našom ako francúzskom jeho vzore; básnik, ktorý v svojej vlastnej tvorbe odvážne zostupuje do kadlubu slovenského jazyka, váži jeho citové i výrazové hodnoty a možnosti práve tak ako i jeho hudobnosť.* (Verlaine 1969, s. 79).

## Literatúra

BERGSON, Henri, 1970. Filozofické eseje. Preklad Anton VANTUCH. Bratislava: Slovenský spisovateľ. ISBN 13-72-089-70.

VÁLEK, Miroslav, 1977. Preklady. Bratislava: Slovenský spisovateľ. ISBN 72-102-77.

VERLAINE, Paul, 1969. Božská láska. Preklad Miroslav VÁLEK. Bratislava: Tatran. ISBN 61-977-69.

VERLAINE, Paul, 1977. Vôňa tvojho tela. Preklad Miroslav VÁLEK, Michal BARTKO. Bratislava: Slovenský spisovateľ. ISBN 72-083-77.

**JARNÁ ŠKOLA DOKTORANDOV UPJŠ 2024**  
*Zborník vedeckých príspevkov*

**Zostavovateľka:** prof. MVDr. Monika Halánová, PhD.

**Vydavateľ:** Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach  
Vydavateľstvo ŠafárikPress

**Rok vydania:** 2024  
**Rozsah strán:** 339  
**Rozsah:** 28,67 AH  
**Vydanie:** prvé

ISBN 978-80-574-0329-6 (e-publikácia)

