

## Zber klinických údajov a biologických vzoriek na využitie v základnom a aplikovanom výskume

Petra Hirjaková, Marianna Jagelková, Michal Lichvár, Ľubomír Arnold, Gabriel Minárik  
MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o., Nitra

Biobanking je neoddeliteľnou súčasťou mnohých vedeckých alebo klinických štúdií. Cieľom článku je informovať o aktuálnom stave realizovaných štúdií, súbore údajov a biologických vzoriek získaných v rámci projektov Medirex Group Academy, n. o. (BIOMEDIRES II., PreveLynch, Promedicov, DIACOVID) na použitie v súčasnom, ale aj budúcom základnom a aplikovanom výskume, ako aj definovať nové perspektívy a rozvojové stratégie pre vzniknutú biobanku biologických vzoriek a klinických údajov. V článku uvádzame príklady zbieraných anamnestických a klinických dát a diskutujeme výhody, resp. nevýhody súčasne využívaného prístupu zberu vzoriek a údajov pre lepšie nastavenie realizácie klinických štúdií v budúcnosti.

**Kľúčové slová:** klinická štúdia, výskum, biobanka, biologické vzorky

### Collection of clinical data and biological samples for use in basic and applied research

Biobanking is an integral part of many scientific or clinical studies. The article aims to inform about the current state of studies, a set of data and results obtained thanks to the Medirex Group Academy projects (BIOMEDIRES II., PreveLynch, Promedicov, DIACOVID) for use in current and future basic and applied research and to define future perspectives and development strategies for the established biobank of samples and clinical data. In the article, we present examples of collected anamnestic and clinical data and discuss various advantages or disadvantages of the currently used approach of collecting samples and data for a better adjustment of the results of studies in the future.

**Keywords:** clinical study, research, biobank, biological samples

NewsLab, 2023; roč. 14 (1): 21 – 27

### Úvod

Výber dizajnu štúdie je najdôležitejším krokom v metodológii výskumu<sup>(1,2)</sup>. Vhodný dizajn štúdie zaručuje dosiahnutie cieľov výskumu, preto je pri výbere dizajnu štúdie potrebné zväžiť niekoľko faktorov: formulovaná výskumná hypotéza, spôsob výberu účastníkov, spôsob zberu dát a odberu vzoriek<sup>(1,3)</sup>. Najpoužívanejší dizajn štúdie na skúmanie genetického a environmentálneho základu komplexného ochorenia je prípadová kontrolná štúdia. Takéto typy štúdií zahŕňajú vyšetrenie všetkých prípadov ochorenia (prípady) v porovnaní s reprezentatívnou vzorkou bez ochorenia (kontrolou). Prípady a kontroly sa zvyčajne skúmajú retrospektívne na dôkaz genetických a iných rizikových faktorov, ktoré existovali pred vypuknutím choroby, a tak pravdepodobne prispeli k rozvoju tohto ochorenia<sup>(4)</sup>. Viaceré štúdie tohto typu sme realizovali aj v neziskovej organizácii Medirex Group Academy (MGA, n. o.) v priebehu rokov 2020 – 2023. Tie sú súčasťou vedeckovýskumných projektov zameraných predovšetkým na oblasť onkológie (BIOMEDIRES II, PreveLynch) a oblasť infekčných a civilizačných ochorení (Promedicov, DIACOVID).

Projekt BIOMEDIRES II. je špecificky zameraný na problematiku karcinómu endometria a endometriálnych patológií vedúcich k vzniku karcinómu endometria. Cieľom projektu je nájsť potenciálne nové diagnostické, prognostické alebo terapeutické biomarkery detegovateľné pomocou tekutej biopsie, poukazujúce na riziko vzniku/rozvoja rakoviny endometria. Pri hľadaní biomarkerov sa plánuje využitie

umelej inteligencie, ktorá bude analyzovať výsledky získané viacerými laboratórnymi metódami predovšetkým z oblasti genomiky, proteomiky alebo glykomiky a bude ich porovnávať s dostupnými anamnestickými, klinickými a histologickými údajmi. Súčasťou projektu je klinická štúdia zameraná na získanie klinických vzoriek a dát pacientok s endometriálnou patológiou a karcinómom endometria<sup>(5)</sup>.

Projekt PreveLynch má za cieľ podrobne preskúmať problematiku dedičných nádorových ochorení spôsobených Lynchovým syndrómom a preskúmať predpokladané genetické pozadie vyššej prevalencie vybraných typov nádorových ochorení v slovenskej populácii špecificky so zameraním na kolorektálny karcinóm. Dôležitým cieľom projektu je vývoj menej invazívnych metód skríningu rakoviny založených na tekutej biopsii. Zavedenie neinvasívnych skríninových testov zahŕňajúcich inovatívne metódy by zlepšilo včasný záchyt jedincov s vyšším rizikom vzniku kolorektálneho karcinómu alebo iných typov karcinómov asociovaných s Lynchovým syndrómom, čo by malo za následok celkové zlepšenie zdravotného stavu bežnej populácie<sup>(6)</sup>.

Štúdia VA-COVID-19 podporuje dva projekty – Promedicov a DIACOVID. Oba projekty sú zamerané na ochorenie COVID-19 a súvisiace infekčné a civilizačné choroby. Hlavným cieľom projektu Promedicov je vytvorenie (univerzálneho) systému pre včasnú a rýchlu detekciu, identifikáciu a diagnostiku nových infekčných ochorení s pandemickým potenciálom, implementovaný v pilotnej fáze v priamej sú-

vislosti s aktuálnou pandémiou COVID-19. Cieľom projektu DIACOVID je prostredníctvom výskumu závažných civilizačných ochorení (diabetes mellitus, zápalové črevné ochorenia) a ich komplikácií spôsobených akútnymi ochoreniami dýchacích ciest zameraných na vírusové ochorenia (ako modelové ochorenie posluži COVID-19) získať také poznatky, ktoré umožnia podporu a rozvoj laboratórných a klinicky aplikovateľných inovatívnych postupov pre personalizovanú diagnostiku a terapiu takýchto pacientov<sup>(7,8)</sup>.

Do uvedených projektov boli pod odborným dohľadom garantov projektov navrhnuté klinické štúdie s ohľadom na naplnenie stanovených vedeckých cieľov. Získané vzorky pacientov a ich klinické údaje boli uložené v data- a biobanke MGA, z ktorej spolupracujúce výskumné inštitúcie (Vedecký park UK, Slovenská akadémia vied, Geneton, s. r. o.) mohli žiadať o výdaj týchto vzoriek a dať na výskum podľa ich stanovených vedeckovýskumných aktivít v projekte. Celkovo bolo k dnešnému dňu do uvedených štúdií zapojených 4 346 participantov s rôznymi diagnózami (endometriálne patológie, karcinóm endometria, kolorektálny karcinóm, Lynchov syndróm, COVID-19, diabetes mellitus, zápalové črevné ochorenia, kontrolné skupiny zdravých jedincov) a v biobanke uskladnených celkovo 18 958 vzoriek rôzneho typu materiálu (venózna krv, stolica, nazofaryngálny výter, natívne tkanivo, FFPE bločky). V článku opisujeme aktuálny stav realizovaných klinických štúdií, uvádzame príklady získaných anamnestických a klinických dát, biologických vzoriek na použitie v základnom a aplikovanom výskume.

## Metódy

### **Etické komisie a informovaný súhlas pacienta**

Klinické štúdie boli pred samotnou realizáciou schválené príslušnou multicentrickou a lokálnou etickou komisiou zapojených klinických pracovísk. Pre všetky štúdie bola multicentrickou etickou komisiou Etická komisia Bratislavského samosprávneho kraja (EK BSK), ktorá vydala kladné stanoviská pod unikátnym číslom pre jednotlivé štúdie (BIOMEDIRES II. – 06196/2020/HF; PreveLynch – 09834/2020/HF; VA-COVID-19 (DIACOVID a Promedicov) – 03228/2021/HF). Medzi zapojené nemocničné pracoviská patrila Fakultná nemocnica Trenčín, Nemocnica Agel, Východoslovenský onkologický ústav, Národný onkologický ústav, Univerzitná nemocnica Bratislava, Nemocnica sv. Michala, Univerzitná nemocnica Milosrdní bratia, Všeobecní fakultní nemocnice Praha). Všetci pacienti pred zapojením do štúdie podpísali informovaný súhlas, v ktorom boli uvedené všetky informácie týkajúce sa výskumu, odberového protokolu a využitia poskytnutých informácií a vzoriek na výskumné účely.

### **Zber anamnestických a klinických údajov**

Od participantov zapojených v štúdiách sme získavali viacero typov informácií. Okrem anamnézy, ktorá pozostávala zo základných fyziologických a antropometrických údajov sa zbierali aj informácie o zdravotnom stave participanta, jeho klinickej histórii, užívaní liečiv, rodinnej anamnéze, rôzne sociodemografické ukazovatele až po výsledky laboratórných a experimentálnych vyšetrení. Všetky anamnestické a klinické údaje boli získavané predovšetkým dotazníkovou formou. Niektoré časti dotazníkov mohli účastníci vyplňať sami, išlo

najmä o časti, ktoré obsahovali otázky zamerané na životný štýl participanta, sociálnodemografické charakteristiky participanta. Ďalšiu časť tvorili otázky zamerané na klinickú anamnézu participanta a tieto časti vyplňali spoločne so zaraďujúcim lekárom, prípadne so sestrou. Pri vybraných diagnózach pacientov, napr. v prípade endometriálneho karcinómu, kolorektálneho karcinómu, sa zbierali aj údaje z biopsie, ktoré boli získané z histopatologického vyšetrenia realizovaného v rámci štandardného diagnosticko-liečebného postupu u pacienta. Niektorým skupinám pacientov boli urobené aj odbery na biochemické, sérologické a imunologické vyšetrenia. Výsledky týchto vyšetrení sa taktiež zbierali a zapisovali do elektronického systému na správu a manažment štúdií.

### **Odberový protokol**

#### *BIOMEDIRES II.*

Odberový protokol pre pacientky zapojené do štúdie BIOMEDIRES II. pozostával z venózných odberov krvi a odberu tkaniva endometria vykonaného v rámci štandardných diagnosticko-liečebných postupov na základe stanovenej diagnózy. Od pacientok s patológiou endometria bolo pred kyretážou získaných 3x 10 ml krvi odobranej do EDTA Vacutainer skúmaviek určených na proteomické a genomické analýzy a po kyretáži a ukončení diagnostického procesu boli z patologického pracoviska získané FFPE bločky zdravého a patologického tkaniva. Pacientky s diagnózou, resp. podozrením na karcinóm endometria absolvovali odber pred zákrokom (hysterektómiou) pozostávajúci z venózneho odberu krvi (3x 10 ml EDTA Vacutainer) a odberu krvi po zákroku (3x 10 ml krvi EDTA Vacutainer). Po operácii boli z tkaniva maternice odobrané vzorky natívneho zdravého a nádorového tkaniva endometria do 2 ml skúmaviek (Eppendorf) so stabilizačným roztokom DNA/RNA Shield (Zymo Research) a po ukončení diagnostického procesu boli z patologického pracoviska získané FFPE bločky zdravého a nádorového tkaniva endometria.

#### *PreveLynch*

Do štúdie PreveLynch boli zapojené 3 skupiny pacientov – kontrolná skupina zdravých jedincov z populácie, pacienti s primárne diagnostikovaným kolorektálnym karcinómom, pacienti s Lynchovým syndrómom a ich rodinní príslušníci. Odberová schéma sa líšila vzhľadom na danú skupinu pacientov. Kontrolná skupina absolvovala venózny odber krvi 3x 10 ml do skúmaviek EDTA Vacutainer určený na proteomické a genomické analýzy a odber stolice 1x 10 ml do skúmavky so stabilizačným roztokom DNA/RNA Shield (Zymo research). Rovnakú odberovú schému absolvovali aj pacienti s Lynchovým syndrómom a ich rodinní príslušníci. Pacienti s diagnózou kolorektálneho karcinómu absolvovali odber krvi pred operáciou a po nej (resekcii čreva) v množstve 3x 10 ml EDTA Vacutainer, odber stolice 1x 10 ml do skúmavky s roztokom DNA/RNA Shield (Zymo research) pred zákrokom. Zároveň boli od týchto pacientov získané aj vzorky zdravého a nádorového natívneho tkaniva čreva a FFPE bločky.

#### *Promedicov*

Pacienti s rozdielnym priebehom COVID-19 boli súčasťou štúdie VA-COVID-19 a projektu Promedicov. V prípade COVID-19 pozitívnych pacientov bez ohľadu na priebeh sa vy-

konali opakované odbery krvi do biobanky (1x 5 ml krvi do sérum gélovej skúmavky, 1x 10 ml krvi do EDTA skúmavky) a nazo- a orofaryngálny výter (1x skúmavka s viRNAtrap médiom) v troch termínoch po diagnostikovaní infekcie. V týchto termínoch im bol zároveň urobený súbor biochemických, sérologických a imunologických vyšetrení na sledovanie vývoja infekcie. Pacientom, u ktorých sa infekcia nepotvrdila, boli odobrané len vzorky výteru, ktoré ostali po diagnostike a boli odoslané do biobanky v skúmavke s viRNAtrap médiom. Pacienti s postkovidovým syndrómom absolvovali odber 1x 10 ml krvi do EDTA skúmavky, ktorá bola uskladnená v biobanke na genomické analýzy.

#### DIACOVID

Do štúdie DIACOVID boli zaradení pacienti, u ktorých bol primárne diagnostikovaný diabetes mellitus (DM) a/alebo zápalové črevné ochorenie (IBD) (Ulcerózna kolitída alebo Crohnova choroba). Okrem uvedených diagnóz bolo pre týchto pacientov ďalším inklúznym kritériom prekonanie ochorenia COVID-19. Súčasťou štúdie bol aj nábor jedincov do kontrolnej skupiny, u ktorých bol anamnesticky vylúčený DM alebo IBD a ktorí prekonal COVID-19. Všetci pacienti absolvovali venózný odber krvi 3x 10 ml do EDTA Vacutainer skúmavky a odber stolice 1x 10 ml do skúmavky s roztokom DNA/RNA Shield (Zymo Research). Pacienti s IBD absolvovali navyše odber natívneho tkaniva, ktoré bolo získané biopticky pri endoskopickom vyšetrení indikovanom v rámci štandardných diagnosticko-liečebných postupov.

#### Primárne spracovanie a archivácia vzoriek v biobanke

Po doručení vzoriek do laboratória boli niektoré vzorky primárne spracované podľa štandardizovaného protokolu. Krv-

né vzorky odobraté do EDTA Vacutainer skúmavky určené na proteomické a genomické analýzy boli spracované jednokrokovou (2 200 g, 10 min, 4 °C) a dvojkrokovou (2 200 g, 10 min, 4 °C; 16 000 g, 10 min, 20 °C) centrifugáciou a krvné vzorky odobraté do sérum gélovej skúmavky boli spracované jednokrokovou centrifugáciou (3 000 g, 10 min, 4 °C). Po centrifugácii boli vzorky uchované v podobe alikvot plnej krvi (2-3x 500 µl), plazmy (proteomika – 2x 500 µl, zvyšné alikvoty po 1 800 µl; genomika – 2x 680 µl, zvyšné alikvoty po 1 800 µl) alebo séra (2x 1 ml). Vzorky stolíc a výterov boli pripravené do podoby 1 ml alikvot a uskladnené v biobanke. Natívne tkanivá a FFPE bločky boli uskladnené bez primárneho spracovania.

#### Výsledky

##### Aktuálny stav náboru pacientov v klinických štúdiách

#### BIOMEDIRES II.

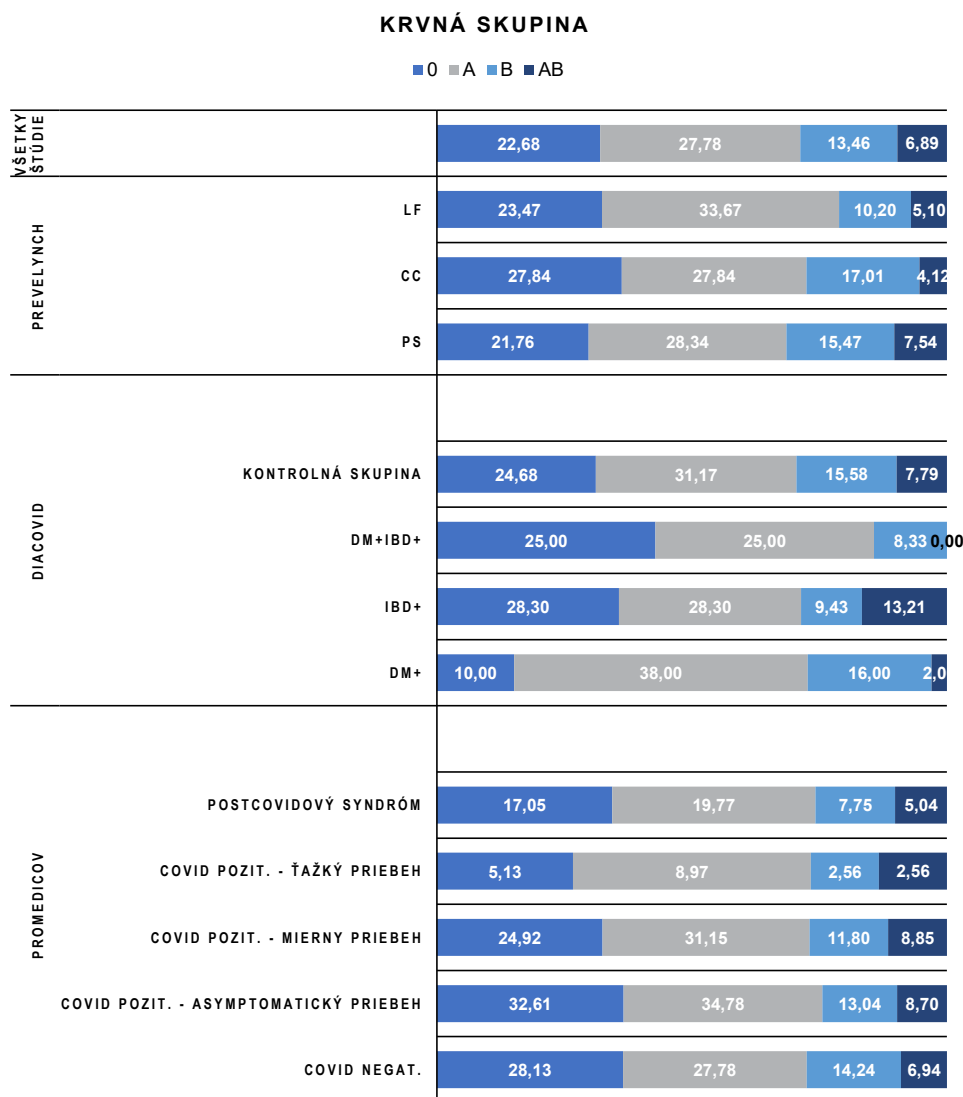
Nábor pacientov do štúdie BIOMEDIRES II. začal v novembri 2020. Od tohto obdobia sme do štúdie postupne zapájali rôzne klinické pracoviská z celého Slovenska. Nábor pacientov do vetvy endometriálne patológie (EP) prebiehal v 6 gynekologických ambulanciách/pracoviskách (Bari group, s. r. o., GyneCare, spol. s r. o., Gyneka, s. r. o., GYN. CENTRUM, spol. s r. o., Nemocnica Agel Košice Šaca, a. s., Nemocničná, a. s. – gynekologická ambulancia, Univerzitná nemocnica Bratislava-Ružinov – onkogynekologická ambulancia). Pacientky s diagnózou endometriálneho karcinómu boli zaradené na špecializovaných onkogynekologických pracoviskách v 5 nemocniciach (Nemocnica Agel Košice-Šaca, Východoslovenský onkologický ústav, Fakultná nemocnica Trenčín,

**Tabuľka 1.** Súbor vybraných základných fyziologických a antropometrických anamnestických informácií (pohlavie, vek, výška, váha, obvod pásu, BMI) zbieraných u pacientov v realizovaných štúdiách (aktualizované k 31. 3. 2023).

	Skupina pacientov	Počet zaradených pacientov	Počet pacientov s kompletným dotazníkom	Pohlavie				Priemerný vek Medián (cm)	Priemerná výška Medián (cm)	Priemerná váha Medián (kg)	Obvod pásu Medián (cm)	BMI
				Muž		Žena						
		N	N	N	%	N	%					
BIOMEDIRES II.	EP	1508	1503	0	0,00 %	1503	100,00 %	48	165	73	x	x
	EC	268	257	0	0,00 %	257	100,00 %	66	164	83	x	x
Preve-Lynch	PS	1034	998	350	35,07 %	648	64,93 %	29	171,5	65,5	78	22
	CC	194	161	84	52,17 %	77	47,83 %	63	170	78	80	26
	LF	98	97	32	32,99 %	65	67,01 %	46	168	70	80	24
DIACOVID	DM+	50	48	25	52,08 %	23	47,92 %	49,5	174	88,5	94	27,5
	IBD+	53	52	29	55,77 %	23	44,23 %	39	176	77,5	90	24
	DM+IBD+	12	11	5	45,45 %	6	54,55 %	55,5	172	90	100	28
	Kontrolná skupina	154	153	37	24,18 %	116	75,82 %	34	170	68	81	22
Promediov	COVID negat.	288	281	146	51,96 %	135	48,04 %	40	175	78	80	25
	COVID pozit. - asymptomatickí	46	46	26	56,52 %	20	43,48 %	42	176,5	78	89	25
	COVID pozit. - mierny priebeh	305	305	126	41,31 %	179	58,69 %	39,5	172	75	88	24
	COVID pozit. - ťažký priebeh	78	75	43	57,33 %	32	42,67 %	63,5	170	88	0	29
	Postcovidový syndróm	258	256	138	53,91 %	118	46,09 %	58	172	90	107	30
<b>Všetky štúdie</b>		<b>4346</b>	<b>4243</b>	<b>1041</b>	<b>24,53 %</b>	<b>3202</b>	<b>75,47 %</b>	<b>48</b>	<b>171</b>	<b>79</b>	<b>81</b>	<b>26</b>

EP – Endometriálna patológia; EC-Endometriálny karcinóm; PS – Populačná štúdia; CC – kolorektálny karcinóm, LF – Lynchove rodiny; DM + – pacienti s diabetes mellitus; IBD+ – pacienti so zápalovým črevným ochorením; DM+IBD+ – pacienti s diabetes mellitus a zápalovým črevným ochorením

**Graf 1.** Zastúpenie krvných skupín u pacientov podľa štúdie a zaradenia do skupiny v štúdiu a celkové zastúpenie krvných skupín bez ohľadu na zaradenie do štúdie prípadne skupiny v štúdiu (aktualizované k 31. 3. 2023).



EP – Endometriálna patológia; EC – Endometriálny karcinóm; PS – Populačná štúdia; CC – kolorektálny karcinóm, LF – Lynchove rodiny; DM + – pacienti s diabetes mellitus; IBD+ – pacienti so zápalovým črevným ochorením; DM+IBD+ – pacienti s diabetes mellitus a zápalovým črevným ochorením

Všeobecní fakultní nemocnice Praha, Národní onkologický ústav). Do konca marca 2023 v štúdiu evidujeme zaradených 1 508 pacientok s endometriálnou patológiou a 268 pacientok s karcinómom endometria (**tabuľka 1**).

### PreveLynch

Nábor pacientov do štúdie PreveLynch bol spustený v máji 2021 v gastroenterologickom centre v Bratislave (IBD centrum). Toto centrum zabezpečuje nábor pacientov do populačnej vetvy štúdie a tiež do vetvy pacientov s Lynchovým syndrómom. V populačnej vetve je zaradených 1 034 pacientov a vo vetve Lynchove rodiny 96 pacientov (stav k 31. marcu 2023). Pacienti s diagnózou kolorektálneho karcinómu boli zaradovaní do štúdie na chirurgických klinikách 6 nemocníc (Nemocnica Agel Košice-Šaca, Univerzitná nemocnica s poliklinikou Milosrdní bratia, Národní onkologický ústav, Univerzitná nemocnica sv. Michala, Univerzitná nemocnica

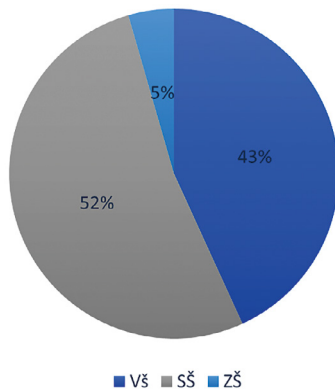
Bratislava-Kramáre, Fakultná nemocnica Trenčín). Súčasťou tejto vetvy štúdie je 194 pacientov (stav k 31. marcu 2023) (**tabuľka 1**).

### Promedicov

Nábor pacientov s diagnózou COVID-19 začal v apríli 2021. Pacientov s bezpríznakovým a miernym prejavom ochorenia, prípadne kontrolnú skupinu COVID negatívnych sme získavali prostredníctvom odberových centier Medirex, a. s., 2 nemocničné pracoviská zabezpečovali nábor pacientov s ťažkým priebehom COVID-19 (Univerzitná nemocnica Bratislava-Kramáre, Univerzitná nemocnica Bratislava-Ružinov). Sanatórium Dr. Guhra v Tatranskej Polianke bolo zapojené do nábora pacientov s postkovidovým syndrómom. Nábor pacientov je ukončený a aktuálny stav počtu zaradených pacientov v jednotlivých skupinách predstavuje 288 COVID negatívnych, 48 COVID pozitívnych asymptomatických, 305



**Graf 2.** Najvyšší typ dosiahnutého vzdelania u pacientov zaradených v štúdiách bez ohľadu a typ štúdie alebo skupinu pacientov v štúdií.



VŠ – vysoká škola; SŠ – stredná škola; ZŠ – základná škola

COVID pozitívnych s miernym priebehom, 78 COVID pozitívnych s ťažkým priebehom a 258 pacientov s postkovidovým syndrómom (**tabuľka 1**).

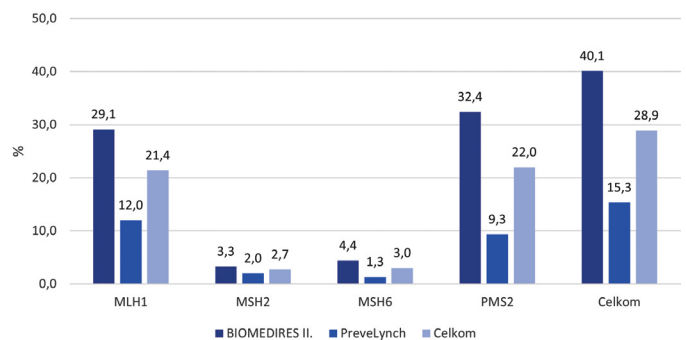
#### DIACOVID

Nábor pacientov do štúdie DIACOVID sa začal v júni 2022 v gastroenterologickom centre IBD a na internej klinike Univerzitnej nemocnice Bratislava-Ružinov. V tejto štúdií aktuálne evidujeme 50 pacientov s diagnózou DM, 53 pacientov s IBD, 11 pacientov s IBD a DM a 154 pacientov v kontrolnej skupine (stav k 31. marcu 2023) (**tabuľka 1**).

#### Analýza vybraných anamnestických a klinických údajov

Súčasťou odberovej schémy u všetkých pacientov bolo získanie anamnestických a klinických informácií prostredníctvom anamnestického dotazníka, ktorý vyplňal samotný pacient, prípadne lekár s pacientom, ak išlo o zložitejšie typy otázok ako napríklad klinická alebo rodinná anamnéza. Pri realizácii bolo naším cieľom získať čo najkonzistentnejšie dáta o pacientoch naprieč štúdiami, aby sme v prípade potreby vedeli tieto dáta porovnávať aj medzi pacientmi z rôznych štúdií a získali sme tak viac informácií aj pre prípadné použitie v budúcom výskume. Príkladom rovnakých dát, ktoré sa zbierali naprieč štúdiami, sú základné antropometrické a fyziologické informácie o účastníkovi. Na účely tohto článku sme si vybrali na porovnanie niekoľko základných údajov o participantovi, ako je pohlavie, vek, výška, váha, obvod pása, BMI. Detailné výsledky z analýzy týchto údajov u participantov zaradených v jednotlivých štúdiách a skupinách, ako aj sumárne výsledky za všetky štúdie sú zhrnuté v **tabuľke 1**. Hoci celkovo bolo do štúdií zaradených 4 346 participantov, anamnestický dotazník k 31. marcu 2023 vyplnilo 4 243 pacientov. Z analyzovaných informácií vyplýva, že v súbore zaradených pacientov máme 75,47 % žien a 24,53 % mužov. Priemerný vek pacientov v súbore je 48 rokov. Priemerná výška pacientov je 171 cm, hmotnosť 79 kg, obvod pása 81 cm a BMI 26. V štúdií BIOMEDIRES II. sa údaje ako obvod pása, BMI a krvná skupina nezberali. Tieto údaje plánujeme v budúcnosti využiť pri koreláciách s výsledkami experimentálnych analýz a budú primárne vyhodnocované na úrovni jednotlivých štúdií.

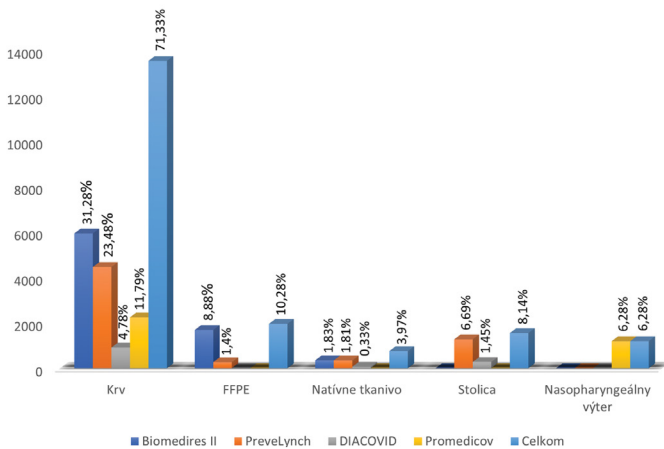
**Graf 3.** Príklad vybraných sledovaných klinických údajov u pacientov s endometriálnym a kolorektálnym karcinómom zo štúdie BIOMEDIRES II. a PreveLynch – Strata expresie proteínov MMR systémom detegovaná na základe výsledkov imunohistochemického vyšetrenia.



Súčasťou základných fyziologických a antropometrických informácií, ktoré sa u pacientov zisťovali, bola aj krvná skupina a vzdelanie. V súbore máme najvyšší podiel pacientov s krvnou skupinou A (27,78 %) a 0 (22,68 %), menej sa vyskytujú pacienti s krvnou skupinou B (13,46 %) a najmenej so skupinou AB (6,89 %). Podrobné rozdelenie výskytu krvných skupín u pacientov zaradených v jednotlivých vetvách štúdií nájdete v **grafe 1**. Ďalším sledovaným parametrom bolo vzdelanie. Z analýzy vyplýva, že 52 % participantov uviedlo ako svoje najvyššie dosiahnuté vzdelanie stredoškolské, 43 % dosiahlo vysokoškolské vzdelanie a 5 % pacientov ukončilo základné vzdelanie (**graf 2**).

V štúdiách sme zbierali aj vybrané demografické a klinické informácie dotazníkovou formou, medzi ktoré patrila podrobná klinická anamnéza pacienta so zameraním na akútne alebo prekonané ochorenia, absolvovanie transfúzie, transplantácie, užívané liečivá, podrobná rodinná anamnéza. Všetky tieto informácie budú vyhodnocované a korelované s výsledkami jednotlivých štúdií a niektoré z nich môžu byť v budúcnosti vyhodnocované medzi štúdiami. Pri každej zo štúdií sa zbierali aj štúdiivo špecifické dáta, ktoré sa vzťahovali len na určitú skupinu/skupiny participantov s danou diagnózou. Na účely tohto článku sme si vybrali ako príklad zbieraných klinických dát výsledky imunohistochemického (IHC) vyšetrenia *mismatch repair* proteínov (MMR), ktoré bolo realizované u pacientov s kolorektálnym karcinómom a s karcinómom endometria v rámci štandardných diagnosticko-liečebných postupov a výsledky tohto vyšetrenia zapísal na účely štúdie vyšetrujúci patológ formou vyplnenia bioptického nálezu do informačného systému. Imunohistochemické vyšetrenie MMR proteínov slúži na primárnu selekciu potenciálnych prípadov s Lynchovým syndrómom. Najčastejšie sa vyšetruje strata expresie Mlh1, Msh6, Msh2 a Pms2 MMR proteínov. Neprítomná expresia jedného alebo viacerých MMR proteínov môže poukazovať na Lynchov syndróm, a preto je potrebné na potvrdenie/vylúčenie diagnózy Lynchovho syndrómu vykonať genetickú analýzu<sup>(9)</sup>. V štúdií BIOMEDIRES II. sme mali k dispozícii výsledky imunohistochemického vyšetrenia 182 pacientov s endometriálnym karcinómom a v štúdií PreveLynch boli tieto výsledky dostupné u 150 pacientov

**Graf 4.** Počet a percentuálne zastúpenie primárnych vzoriek v biobanke MGA podľa typu biologického materiálu zozbieraného v priebehu 4Q/2020 - 1Q/2023 z klinických štúdií BIOMEDIRES II., PreveLynch, DIACOVID, Promedicov.



s kolorektálnym karcinómom. Stratu expresie aspoň jedného z proteínov MMR systému sme detegovali u 73 pacientok zo štúdie BIOMEDIRES II. a u 23 pacientov zo štúdie PreveLynch. Celkovo bola strata expresie niektorého z MMR proteínov detegovaná u 28,9 % pacientov z celkového počtu pacientov s dostupným výsledkom IHC. Najčastejšie bola detegovaná strata expresie proteínu Mlh1 (21,4 %) a proteínu Pms2 (22 %). Menej častá bola strata proteínu Msh6 (3 %) a Msh2 (2,7 %) (**graf 3**). Vzorky týchto pacientov boli vybrané na celogenómovú analýzu, ktorá sa vykonáva v rámci predmetných štúdií. Táto analýza by mala diagnózu Lynchovho syndrómu potvrdiť alebo vylúčiť.

### Aktuálny stav vzoriek v biobanke

V súčasnosti (k 31. marcu 2023) je biobanka úložiskom 18 958 rôznych biologických vzoriek (krv, stolica, nazofaryngálny výter, natívne tkanivo, FFPE bločky) uskladnených vo forme alikvot získaných od 4 346 pacientov zúčastňujúcich sa na projektoch BIOMEDIRES II., PreveLynch, Promedicov a DIACOVID. Prvé vzorky sa začali zbierať v novembri 2020 (štúdia BIOMEDIRES II.), v máji 2021 (štúdia PreveLynch), v apríli 2021 (štúdia Promedicov) a v júni 2022 (štúdia DIACOVID). V biobanke je uskladnených 13 523 krvných vzoriek, 1 949 FFPE, 1 544 vzoriek stolíc, 1 190 vzoriek nazo- a orofaryngálnych výterov a 752 vzoriek natívnych tkanív. Percentuálne zastúpenie vzoriek v biobanke je znázornené v **grafe 4**. Zber a uchovávanie vzoriek v biobanke pokračuje počas celého trvania jednotlivých projektov. Archivovaný biologický materiál sa postupne využíva na rôzne typy analýz (genomika, proteomika, glykomika, sérológia, imunológia, histológia). Doteraz bolo pre participujúce partnerské výskumné organizácie (Slovenská akadémia vied, Vedecký park Univerzity Komenského, Medirex Group Academy, Geneton, s. r. o.) uvoľnených viac ako 2 500 alikvot na genomickú a proteomickú analýzu zo vzoriek výterov, plazmy, plnej krvi, natívnych vzo-

riek zdravého a nádorového tkaniva. Výsledky realizovaných experimentálnych analýz sú aktuálne vo fáze spracovania a budú súčasťou odborných publikácií, ktoré budú postupne publikované v priebehu rokov 2023, 2024 a 2025.

### Diskusia

Pri realizácii akéhokoľvek klinického výskumu je dôležité zvážiť, aké údaje a vzorky má zmysel zbierať na overenie hypotézy a dosiahnutie cieľov predmetného výskumu. Zbierať príliš veľa údajov je niekedy kontraproduktívne a môže predstavovať zbytočnú záťaž pre účastníkov štúdie, ako aj viesť k zberu údajov, ktoré nebudú použité, analyzované a prezentované vo vedeckej publikácii. Preto je dôležité pred začatím každej štúdie identifikovať skupiny dát, ktoré sú v kontexte skúmanej problematiky zaujímavé, majú význam a prínos pre následnú analýzu, a to výrazne pomôže nastaviť optimálny a efektívny spôsob zberu dát<sup>(10)</sup>. Zo skúseností z realizovaných štúdií sme zistili, že najlepšou formou zberu dát pre klinické štúdie, ktoré najčastejšie realizujeme, je dotazníková forma. Pri niektorých štúdiách boli dotazníky pripravené príliš detailne, zdĺhavo a odborne, čo negatívne ovplyvnilo mieru ich vyplnenia účastníkmi štúdie. Do budúcnosti by sme sa chceli zamerať na skrátenie a zjednodušenie anamnestických a klinických dotazníkov, aby sme získali čo najviac podstatných informácií v čo najlepšej možnej kvalite. Pri realizácii štúdií sa osvedčilo využitie elektronického systému, do ktorého mali prístup lekári, ktorí vedeli dotazník, ale aj iné informácie vyplniť priamo elektronicky, čo umožnilo okamžitý prístup k dátam pre koordinátorov jednotlivých štúdií, ale aj participujúcich vedcov. S využívaním elektronického systému by sme chceli pokračovať aj pri ďalších štúdiách. Pri nastavovaní odberových schém, ktorých súčasťou bol zber biologického materiálu do biobanky, by v budúcnosti bolo prínosné prekonzultovať návrh odberovej schémy s odborníkmi, klinikmi, ktorí budú spolupracovať na nábore pacientov tak, aby boli odbery robené pre výskum čo najviac v súlade so štandardnými diagnosticko-liečebnými postupmi a tak, aby bola fyzická, ale aj časová záťaž pre zapojeného pacienta a lekára čo najmenšia a čo najmenej narušala ich štandardné postupy. Naším dlhodobým cieľom je pokračovať v budovaní biobanky biologických vzoriek a klinických dát, preto plánujeme v realizácii ďalších klinických štúdií pokračovať a ďalej pracovať na vylepšovaní a optimalizovaní procesov zberu dát, vzoriek a biobankingu.

### Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Výskum progresívnych metód diagnostiky COVID-19 a biomarkerov umožňujúcich skorú detekciu jedincov so zvýšeným rizikom ťažkého priebehu ochorenia, kód ITMS: 313011ATA2, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

## LITERATÚRA

1. Omair A: Selecting the appropriate study design for your research: descriptive study designs. *J Health Spec.* 2015, 3: 153–156. 10.4103/1658-600X.159892
2. Gange SJ, Golub ET: *Study Design. Infectious Disease Epidemiology: Theory and Practice*, 3rd Edition. Nelson KE, Williams CM (ed): Jones & Bartlett Learning, Burlington; 2014. 45–76.
3. Bickman L, Rog DL: *Applied Research Design: A Practical Approach. The SAGE Handbook of Applied Social Research.* Bickman L, Rog DL (ed): SAGE Publications, London; 2009. 3–46. 10.4135/9781483348858.n1
4. Manolio TA, Bailey-Wilson JE, Collins FS. Genes, environment and the value of prospective cohort studies. *Nat Rev Genet.* 2006 Oct; 7(10): 812–820. doi: 10.1038/nrg1919. PMID: 16983377.
5. <https://www.medirexgroupacademy.sk/projekt/biomedires-ii/>
6. <https://prevelynch.sk/>
7. <https://www.medirexgroupacademy.sk/projekt/promedicov-19/>
8. <https://diacovid.sk/>
9. Umar, A., et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004. 96(4): p. 261–268.
10. Saczynski JS, McManus DD, Goldberg RJ. Commonly used data-collection approaches in clinical research. *Am J Med.* 2013 Nov; 126(11): 946–950. doi: 10.1016/j.amjmed.2013.04.016. Epub 2013 Sep 16. PMID: 24050485; PMCID: PMC3827694.

**Mgr. Petra Hirjaková**MEDIREX GROUP ACADEMY, *n. o.*

Novozámocká 67, 949 05 Nitra

e-mail: [Petra.Nemcova@medirexgroup.sk](mailto:Petra.Nemcova@medirexgroup.sk)