

Ročník XIV.

newslab

časopis laboratórnej medicíny

2

2023

**Optimalizácia procesov a zvyšovanie výkonu
diagnostických laboratórií v kontexte pandémie
COVID-19**

Optimizing processes and increasing the performance
of diagnostic laboratories in the context of the
COVID-19 pandemic

Umelá inteligencia v onkológii
Artificial Intelligence in Oncology

**Biochemical Markers as Predictors of IVF Success:
A Machine Learning Approach**

Aplikácia strojového učenia pri analýze biochemických
parametrov z pohľadu predikcie úspešnosti IVF liečby

**Využitie syndrómového panelu PCR pri laboratórnej
diagnostike infekcií dolných dýchacích ciest
a porovnanie s bakteriologickou kultiváciou**

The use of the PCR syndrome panel in the laboratory
diagnostics of lower respiratory tract infections and
comparison with bacteriological culture



Milí čitatelia,

koniec roku 2023 a začiatok nového roku so sebou prináša nové globálne výzvy, ktoré si vyžadujú pozornosť a spoločné úsilie vedeckej komunity. Zmena klímy, nové infekčné choroby a udržateľné využívanie obmedzených zdrojov patria medzi naliehavé problémy, ktoré si vyžadujú inovatívne riešenia. Vedci musia pri riešení týchto výziev prevziať aktívnu úlohu a spolupracovať s tvorcami zákonov, vedúcimi predstaviteľmi priemyslu a verejnosťou na vypracovaní stratégií založených na dôkazoch, ktoré podporujú dlhodobú udržateľnosť.

Jednou z charakteristických črt súčasného vedeckého prostredia je rýchle tempo technologického pokroku. Najmodernejšie technológie, napríklad umelá inteligencia, editácia génov CRISPR a kvantová výpočtová technika, spôsobujú revolúciu v prístupe k výskumu. Tieto nástroje nielenže rozširujú naše možnosti, ale kladú aj etické otázky, ktoré si vyžadujú dôkladné zváženie. Pri zavádzaní týchto technologických zázrakov je nevyhnutné, aby vedecká komunita uprednostňovala zodpovedné a transparentné postupy a zabezpečila, aby prínosy inovácií boli bez toho, aby boli ohrozené etické normy.

Hranice medzi vedeckými disciplínami sú čoraz priepustnejšie. Uvedomujeme si hodnotu kombinácie odborných znalostí z rôznych oblastí pri riešení problémov. Súčasnosť nám ponúka vzrušujúcu príležitosť prelomiť siločiary a podporiť spoluprácu, ktorá prekračuje tradičné disciplinárne hranice. Verím, že len takto dokážeme riešiť globálne výzvy od klimatických zmien až po krízy v oblasti verejného zdravia holistickejším a komplexnejším prístupom.

V duchu rozširovania poznatkov v prospech všetkých musí vedecká komunita naďalej presadzovať postupy otvorenej vedy. To zahŕňa transparentné podávanie správ, zverejňovanie údajov a publikovanie s otvoreným prístupom, čím sa zabezpečí, že výsledky výskumu budú prístupné celosvetovému publiku. Podporou kultúry otvorenosti a spolupráce môžeme urýchliť tempo objavov a maximalizovať vplyv nášho spoločného úsilia.

V mene redakčného tímu vyjadrujeme vďaku autorom, recenzentom a čitateľom, ktorí prispeli k úspechu časopisu Newslab. Nech sa budúci rok nesie v znamení ešte väčších pokrokov v oblasti medicínskeho výskumu, spolupráce a inovácií. Prajem vám všetkým zdravý a úspešný nový rok.

S úctou

„Newslab“

Milí priatelia, vážení čitatelia,

s vetami, ktoré ste si práve prečítali, môžeme len súhlasiť. Sú napísané jasne, zrozumiteľne a dotýkajú sa nás všetkých. Ich autorom však nie je žiaden člen redakčnej rady časopisu ani významná vedecká osobnosť. Vznikli v elektronických obvodoch umelej inteligencie ako odpoveď na jednoduchú úlohu „napísať úvodník do posledného tohoročného čísla vedeckého časopisu Newslab“.

Keď som sa pred písaním tohto príhovoru zamýšľal nad tým, aký bol rok 2023, čo nového a prevratného nám priniesol, napadlo mi toho veľa. Predsa len po kovidovom spomalení sa vedecká komunita nadýchla oveľa voľnejšie a začala sa venovať aj iným témam, ktoré boli v minulých rokoch oveľa viac v úzadí a v ktorých nové poznatky len čakali na zverejnenie. Bola schválená prvá liečba pomocou CRISPR-based génovej intervencie, čo významným spôsobom posúva nielen hranice možností v medicíne pri liečbe mnohých chorôb, ale aj hranice etických noriem. To, čo bolo ešte včera len predmetom vedecko-technického snívania spisovateľov fantastiky, sa stáva skutočnosťou. Čoraz viac prenikáme do problematiky bakteriómu a máme víziu

pochopenia toho, ako významne nás ovplyvňuje spolunažívanie všetkých organizmov od najväčších až po tie najmenšie. Významné pokroky sa publikovali v oblasti neuromedicíny, ukazujú sa nové perspektívne cesty prevencie a liečby neurodegeneratívnych chorôb. Podarilo sa opísať mapu prepojenia neurónov a pochopiť architektúru ich prepojenia v mozgu drozofily, čo je objav významný pre budúce experimentálne a teoretické štúdie neurónových obvodov. Prvý mozog, ktorého zapojenie poznáme, 3 016 neurónov, 548 000 synapsí. Publikované boli nové objavy v oblasti prenatálneho testovania. Lepšie chápanie správania cirkulujúcich nádorových buniek prináša víziu, že v budúcnosti budeme schopní efektívne zabrániť šíreniu rakoviny.

Rok 2023 priniesol aj významné prelomy na pôde umelej inteligencie, ktorá sa stáva dostupnou pre všetkých. Platformy ChatGPT a ďalšie aplikácie umelej inteligencie majú potenciál prelomovo ovplyvniť správanie človeka. Čoraz ťažšie bude odlíšiť pôvod písaného textu, samotná hodnota textu môže klesať. Sme svedkami jednej z najvýznamnejších premiien ľudstva v celej jeho histórii a rok 2023 sa zapíše do dejín rovnako ako prvé nástroje, oheň, objav kola, spracovania kovov, objav parného stroja, elektrickej energie a štiepenie atómu. Všetko nám to prináša veľa dobrého. Sú to skutočne nástroje, ktoré nám pomáhajú. Je to však aj zodpovednosť a uvedomenie človeka. Mocné nástroje môžu byť pôvodcom utrpenia a chaosu.

Aj umelá inteligencia už len za jeden rok svojej všeobecnej dostupnosti jednoznačne preukázala, že dokáže pomôcť človeku hľadať a triediť informácie a spracovávať ich. Nesie však aj možnosť zavádzať ho a zahrnúť nepresnými a klamlivými informáciami. Máme v rukách nástroj, ktorý nevyhnutne budí rešpekt. Len budúcnosť ukáže, či sa naučíme nájsť správne hranice využitia umelej inteligencie a zachovať si kritické myslenie, schopnosť analyzovať a riešiť problémy ako neoddeliteľnú súčasť našej ľudskej identity.

Pevne verím, že sme na začiatku novej éry ľudstva a že nám to pomôže včas si uvedomiť globálne problémy, ktorým budeme musieť my a naše deti v blízkej budúcnosti čeliť, a nájsť efektívne riešenia. Prajem nám všetkým pevné zdravie a úspešný nový rok.

Prajem vám príjemné čítanie.

Pavol Janega
MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.

List redaktorovi/redakcii

- Letter to the Editor. Ameloblastoma-like features in non-invasive urothelial carcinomas (List redaktorovi. Vlastnosti podobné ameloblastómu u neinvazívnych uroteliálnych karcinómov)** 99
Michal Zámečník, MD, Tomáš Sedláček MD, Peter Kohútek, MD, MPH, Ondrej Ondič, MD, FIAC

Pôvodné práce

- Optimalizácia procesov a zvyšovanie výkonu diagnostických laboratórií v kontexte pandémie COVID-19** 101
Gabriel Minárik, Renata Lukačková, Zuzana Dindová, Ondrej Kwašný
- Biochemical Markers as Predictors of IVF Success: A Machine Learning Approach** 106
Anton Mateašík, Martin Berki, Tomáš Závodník, Martin Donoval, Michal Mičjan
- Využitie syndrómového panelu PCR pri laboratórnej diagnostike infekcií dolných dýchacích ciest a porovnanie s bakteriologickou kultiváciou** 110
Oxana Šulíková, Alena Donauerová, Katarína Kollárová

Prehľadové práce

- Umelá inteligencia v onkológii** 114
Martin Demeter, Milan Zatroch
- Hastisety ako potenciálne alergény** 120
Jakub Steinhübel, Vojtech Boldiš, František Ondriska, Marcela Bastlová, Radka Reháková
- Intraindividuálna variabilita sérových koncentrácií AMH u neplodných žien** 124
Silvia Toporcerová
- Nový pohľad na hodnotenie kvality embryí z kultivačného média** 127
Zuzana Badovská, Silvia Toporcerová, Miroslava Popelková, Marek Kl'oc, Dana Glovová, Dominika Remešová, Katarína Balasičová, Miroslava Rabajdová

Kazuistiky

- Kazuistika neurosyfilisu u 50-ročného pacienta 15 rokov po sérologickej confirmácii infekcie *Treponema pallidum*** 131
Oxana Šulíková, Alena Koščálová
- Elastofibroma in the rearfoot. Report of a rare case** 134
Michal Zámečník, MD, Juraj Masaryk, MD

Systematický prehľad

- Biomarkery nádorových ochorení prostaty a ich korelácia s multiparametrickým MRI vyšetrením** 137
Dávid Kocan, Pavol Janega

Ročník 14, 2023, číslo 3
Vychádza 3x ročne
Dátum vydania: december 2023

Redakčná rada:

Šéfredaktorka:

RNDr. Elena Tibenská, PhD.

Členovia:

Dr. Domenico Pangallo, DrSc.
Dr. Boris Klempa, DrSc.
RNDr. Martin Radina
prof. MUDr. Milan Buc, DrSc.
prof. RNDr. Ján Turňa, CSc.
Ing. Pavol Sulo, CSc.
Dr. Bálint Nagy, PhD.
Dr. Branislav Zagrapan, PhD.
Dr. Tomas Kovacic
Dr. Gabriela Gubo
Dr. Štefan Lukáč
Mgr. Peter Baráth, PhD.
RNDr. Ján Radvánszky, PhD.
Dr. Jaroslav Bojňanský
Dr. Katarína Vlniešková

Vydavateľ:

MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.

Sídlo vydavateľa a adresa redakcie:

MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.
Novozámocká 1/67, 949 05 Nitra
redakcia@newslab.sk, www.newslab.sk
IČO: 37 98 68 05

Výkonná redaktorka:

Mgr. Martina Šoltésová

Technická redaktorka:

Ing. Danica Paulenová

Grafická úprava:

Ing. Lukrécia Schiller

Všetky články sú plne recenzované.

Registrácia MK SR pod číslom EV 5164/15

ISSN 1338-9661 (tlačené vydanie)

ISSN 2454-0021 (online)

Časopis je indexovaný v Bibliographia medica Slovaca (BMS).

Citácie sú spracované v CiBaMed.

Citacia skratka: Newslab

Na informačné a nekomerčné účely je dovolené články v publikácii newslab voľne a bezplatne sťahovať, kopírovať, distribuovať, tlačiť, prehľadávať a odkazovať na ne. Je však potrebné, ak je to podľa spôsobu použitia možné, uvádzať ich autora a zdroj. Použitie článkov na iné účely a iným spôsobom je možné len so súhlasom vydavateľa.

Vydavateľ nenesie zodpovednosť za údaje a názory autorov jednotlivých článkov či inzerátov.

Letter to the Editor

Ameloblastoma-like features in non-invasive urothelial carcinomas

(List redaktorovi

Vlastnosti podobné ameloblastómu u neinvazívnych uroteliálnych karcinómov)

Michal Zámečník, MD^{1,2}, Tomáš Sedláček MD^{1,3}, Peter Kohútek, MD, MPH⁴, Ondrej Ondič, MD, FIAC^{5,6}¹Medicyt s. r. o., Laboratory of Surgical Pathology, Trenčín, Slovak Republic²AGEL, a. s., Laboratory of Surgical Pathology, Nový Jičín, Czech Republic³MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o., Bratislava, Slovak Republic⁴Department of Urology, Faculty Hospital, Trenčín, Slovak Republic⁵Department of Pathology, Medical Faculty in Pilsen, Charles University, Prague, Czech Republic⁶Molecular Genetics Department, Bioptical Laboratory s. r. o., Pilsen, Czech Republic

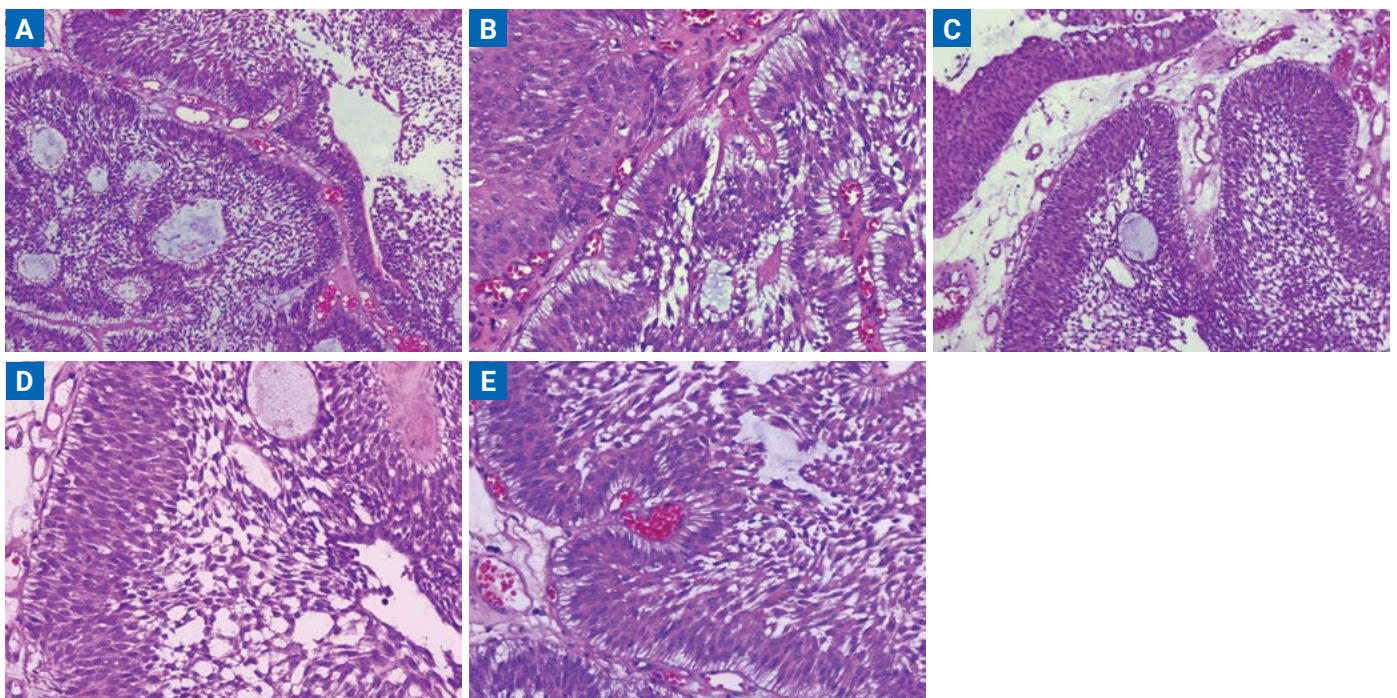
Newslab, 2023; roč. 14 (2): 99-100

To the editor:

recently, we described ameloblastoma-like features in a case of non-invasive urothelial carcinoma (UC)⁽¹⁾. The ameloblastoma-like pattern is characterized by reversed polarization of basal cells and loose network-like arrangement of the cells in inverted lobules⁽²⁻⁴⁾. We wondered if these features are not focally present in some areas of common UCs. Therefore, we searched for them in series of 56 consecutive UCs that had been examined in our practice in last 7 months (our reported case is included in the series). The series contains

35 cases of low-grade noninvasive UC, 12 cases of high-grade non-invasive UCs, 4 cases of mixed low-grade/high-grade noninvasive UC, and 5 cases of invasive UC. Ameloblastoma-like pattern (**figure 1**) were seen in 4 cases (all four were males, aged 59, 64, 69 and 70 years, respectively). One case contained ameloblastoma-like areas in one third of the tumor, and additional 3 cases contained only rare ameloblastoma-like foci, representing maximum 3% of the tumor volume. Three of four tumors with ameloblastoma-like pattern were low-grade UCs. Remaining one UC was mixed low-grade/

Figure 1. The ameloblastoma-like pattern in urothelial carcinomas, with typical reversed polarization of basal cells and network-like arrangement of the epithelium. Plates **B** and **C** show also areas of conventional low-grade UC (upper left part in both photomicrographs). The morphology in plate **A** resembles less common odontogenic ameloblastoma of adenoid type (for good comparison of morphology, please access free <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9187834/>)



high-high grade UC, but ameloblastoma-like pattern was seen only in low-grade areas of this tumor.

Thus, the ameloblastoma-like features were found in 4 of 56 cases of UC (7.1%), and they were always associated with low-grade inverted-appearing morphology and with non-invasive nature of the tumor. In the case of mixed low-grade/high-grade UC, the ameloblastoma-like areas were limited to the low-grade part of the tumor.

Common odontogenic ameloblastoma contains frequently BRAF mutation, whereas this mutation is rare in conventional UCs of the urinary bladder⁽⁵⁻⁸⁾. Therefore, we attempted to perform in Bioptical lab. Pilsen an examination for BRAF and other alterations by kit for NGS - Accel-Amplicon Plus EGFR Pathway Panel (SWIFT bioscience) in 3 of our cases. One case was negative for BRAF, EGFR, KRAS, and NRAS. In additional 2 tumors, DNA was too altered and, unfortunately, the analysis was not possible.

In sum, our results indicate that: (1) ameloblastoma-like patterns are present in several percent of UCs, in our se-

ries it was 7.1%. So they are not extremely rare, and surgical pathologist can see them sometimes in her/his practice; (2) ameloblastoma-like areas were always associated with low-grade non-invasive morphology; (3) from histogenetic viewpoint, ameloblastoma-like features does not contradict tumor origin from transitional non-odontogenic epithelium (even some sinonasal ameloblastomas derive from transitional epithelium of the mucosa and not from enamel organ remnants)⁽³⁾; (5) BRAF mutation that is common in odontogenic ameloblastoma was not found in our one case. Of course, additional genetic studies of these tumors are needed. Preliminary, we do feel that ameloblastoma-like structure represents a morphologic curiosity that is caused by synchronous occurrence of intercellular edema and reversed polarity of basal cells (both features are often present in UCs as isolated finding). However, the question of genetic alterations (and their biologic consequence) similar to those of common odontogenic ameloblastomas remains still open.

REFERENCES

1. Zamecnik M, Kohutek P. Urothelial carcinoma of the bladder with adamantinoid (ameloblastoma-like) features. Case report. *NewsLab* 2023; 1: 52-54.
2. da Silva LAM, Filho SRC, Saraiva MJD, et al. Clinical, radiographic and histopathological analysis of craniopharyngiomas and ameloblastomas. a systematic review. *Head Neck Pathol* 2022; 16(4): 1195-1222.
3. Harada H, Kimura S, Kimura Y, et al. Sinonasal ameloblastoma: A case report focusing on histogenesis and related morphological characteristics. *Oral and Maxillofacial Surgery Cases*, 2020, 6.4: 100201.
4. Jayasooriya PR, Abeyasinghe WAMUL, Liyanage RLPR, et al. Diagnostic enigma of adenoid ameloblastoma: Literature review based evidence to consider it as a new subtype of ameloblastoma. *Head Neck Pathol* 2022; 16(2): 344-352.
5. Ji YD, Johnson DN, Faquin WC, et al. Utility of BRAF V600E immunohistochemistry in the diagnosis of mandibular ameloblastomas. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2023; S0901-5027(23)00136-4.
6. Boulalas L, Zaravinos A, Delakas D, et al. Mutational analysis of the BRAF gene in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int J Biol Marker* 2009; 24(1): 17-21.
7. Stoehr R., Brinkmann A., Filbeck T., et al. No evidence for mutation of BRAF in urothelial carcinomas of the bladder and upper urinary tract. *Oncol Rep* 2004; 11(1): 137-141.
8. Mochizuki H, Breen M. Comparative aspects of BRAF Mutations in canine cancers. *Vet Sci* 2015; 2(3): 231-245.

M. Zamecnik, MD

Medicyt, s.r.o., lab. Trencin
Legionarska 28, 91171 Trencin, Slovak Republic
e-mail: zamecnikm@seznam.cz

Optimalizácia procesov a zvyšovanie výkonu diagnostických laboratórií v kontexte pandémie COVID-19

Gabriel Minárik¹, Renata Lukačková², Zuzana Dindová^{1,3}, Ondrej Kwašný^{1,3}

¹MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o., Nitra, Slovenská republika

²Medirex, a. s., Bratislava, Slovenská republika

³Spadia Lab, a. s., Oddelenie molekulárnobiologických metód, Laboratórium klinickej mikrobiológie, Ostrava, Česká republika

Rýchla a vysokovýkonná laboratórna diagnostika sa v čase celosvetovej pandémie ukázala ako jeden z hlavných nástrojov monitorovania a hodnotenia priebehu pandemických vln. Okrem toho bola jedným z nosných pilierov rozhodovania pri nastavovaní protipandemických opatrení na lokálnej aj národnej úrovni. V krátkom čase tak bolo potrebné vykonať dovedy bezprecedentné počty laboratórnych diagnostických testov v čo najkratšom čase. Nábeh schopností laboratórií realizovať potrebné množstvá analýz však bol do značnej miery limitovaný celosvetovou zlou dostupnosťou, resp. neexistenciou štandardizovaných automatizovaných laboratórnych riešení, a preto v rôznych laboratóriách vznikali unikátne funkčné zostavy, ktoré bolo potrebné vytvoriť a ich chod optimalizovať tak, aby spĺňali požiadavky použitia v rutinnej klinickej laboratórnej praxi. V rámci nášho širšieho tímu spolupracovníkov zo Slovenska a z Českej republiky boli vytvorené dve vysokovýkonné pracoviská, ktoré umožnili dosiahnuť denné počty analyzovaných vzoriek plne porovnateľných so špecializovanými riešeniami od popredných výrobcov laboratórnych systémov.

Kľúčové slová: SARS-CoV-2, COVID-19, diagnostika, automatizácia, testovanie s vysokou priepustnosťou

Optimizing processes and increasing the performance of diagnostic laboratories in the context of the COVID-19 pandemic

During the global pandemic, high throughput laboratory diagnostics proved to be one of the main tools for monitoring and evaluating the course of pandemic waves. In addition, obtained results were used as one of the pillars of decision-making when setting up anti-pandemic measures at the local and national levels. In a short period, it was necessary to carry out an unprecedented number of laboratory diagnostic tests in the shortest possible time. However, the onset of the ability of laboratories to perform the required amounts of analyses was limited mainly by global poor availability or due to the absence of standardized, automated laboratory solutions, and therefore unique solutions were created in various laboratories, which had to be not only created but also optimized so that their operation met the requirements of use in routine clinical laboratory practice. As part of our wider team of collaborators from Slovakia and the Czech Republic, two high throughput laboratories were created, which achieved daily performances fully comparable to specialized solutions from leading manufacturers of laboratory systems.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, diagnostics, automation, high throughput testing

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 101-105

Úvod

Pandémia koronavírusu SARS-CoV-2 spôsobujúca ochorenie COVID-19 bola spojená s bezprecedentnou situáciou týkajúcou sa nielen kritického dosahu na nemocničnú sféru zdravotníckeho systému, ale aj na klinické diagnostické laboratóriá, ktoré prakticky zo dňa na deň museli riešiť rôzne typy problémov spojených so zabezpečením potrebných testovacích kapacít pri dodržaní všeobecne požadovaných princípov správnej laboratórnej praxe. Medzi najvypuklejšie problémy patrila absencia jasne definovaných laboratórnych postupov pre vyžadovaný typ plošného populačného testovania z pohľadu stanovených „zlatých štandardov“, nedostatok základných pomôcok pre odber biologického materiálu

a odberových miest, nedostatok certifikovaných vyšetrovacích súprav a asociovaného laboratórneho prístrojového vybavenia a v neposlednom rade nedostatočné kapacity laboratórií, ktoré by mali vybudovanú infraštruktúru určenú na prácu v režime s vysokou priepustnosťou analýz. Takáto situácia pretrvávala značné časové obdobie na národnej aj globálnej úrovni a viedla k značnej fragmentácii a heterogenite v spôsoboch, ako sa s týmito spomenutými problémami vyrovnávať v laboratórnej praxi. Hoci aj v raných fázach prepuknutia pandémie globálneho rozsahu boli známe a funkčne automatizované laboratórne riešenia, problémom bola ich nedostupnosť na svetovom trhu, keďže záujem o ich využívanie zo dňa na deň prudko narástol a ich výroba nedokázala

la pokryť všeobecné požiadavky. To bol hlavný dôvod, prečo laboratória na celom svete museli začať zostavovať laboratorné systémy z aktuálne dostupných zariadení a výsledkom bola ich veľká heterogenita a tiež vznik špecifických požiadaviek na optimalizáciu a nastavovanie takýchto často unikátnych riešení, ktoré mali zároveň spĺňať požiadavky na čo najlepšiu ekonomickú a pracovnú efektívnosť.

Cieľ práce

V našej práci sa budeme zaoberať špecificky oblasťou optimalizácie laboratorných procesov a zvyšovania výkonu diagnostických laboratórií do podoby umožňujúcej dosiahnuť čo najvyššiu priepustnosť laboratórií optimálnou a v danom čase efektívnou kombináciou manuálneho a automatizovaného spracovania a analýzy patientskych vzoriek. Na splnenie tejto požiadavky vznikol tím, ktorý hľadal nové riešenia a inovoval procesy pri každej relevantnej príležitosti. Tím vznikol aj vďaka úzkej spolupráci dvoch partnerských diagnostických laboratórií – Medirex, a. s. (Slovensko), a Spadia Lab, a. s. (Česká republika), a prezentované výsledky poskytujú informácie z oboch pracovísk, keďže s ohľadom na regionálne a laboratorné špecifiká vznikli dve čiastočne odlišné riešenia. Preto táto správa opisuje účelovo vytvorené (čiastočne) automatizované laboratorné riešenia, ktoré boli navrhnuté tak, aby zvládali vysokú priepustnosť klinických vzoriek s maximálnou efektívnosťou a automatizáciou a minimálnymi požiadavkami na vyškolených laboratorných špecialistov v rámci každodennej rutínnej prevádzky.

Materiál a metódy

Odber vzoriek

V rámci pandémie COVID-19 sa v najväčšej miere používali štandardizované metódy odberu klinických vzoriek pre akútne respiračné vírusové ochorenia a za „zlatý štandard“ sa vo všeobecnosti považoval nazofaryngálny ster. V skorších fázach testovania sa kombinoval aj s orofaryngálnym sterom, pričom sa zaužívalo vloženie oboch odberových tampónov do jednej skúmavky s odberovým médiom, ktoré následne bolo používané v rámci laboratorných analýz ako primárna vzorka. Neskôr sa ako nosná odberová metóda používal už len samotný nazofaryngálny ster. V menšom zastúpení a zároveň najmä v kontexte menej invazívneho a od vyškoleného odberového personálu nezávislého spôsobu testovania vybraných skupín jedincov (deti predškolského alebo školského veku) bol používaný aj odber slín, ktoré buď v neriedenej alebo riedenej podobe boli ďalej používané ako primárna vzorka pri následných laboratorných analýzach.

Extrakcia nukleových kyselín

V raných fázach rutinného diagnostického testovania SARS-CoV-2, keď v mnohých laboratóriách neexistovala infraštruktúra umožňujúca automatizáciu, bola extrakcia nukleových kyselín realizovaná prostredníctvom zaužívaných kolónkových kitov, ktorých použitie sa však vyznačuje vysokou manuálnou prácnosťou a viackrokovým pracovným protokolom. S ohľadom na postupné vybavenie laboratórií automatickými extraktormi sa prechádzalo na automatizáciu kolónkových kitov a postupom času sa všeobecne akceptovaným priemyselným štandardom stalo využívanie kitov

obsahujúcich magnetické partikuly. Práve tento spôsob extrakcie spolu s dobrou dostupnosťou relatívne konštrukčne a ovládateľnosťou jednoduchých automatických systémov pracujúcich v štandardizovanom 96-jamkovom formáte viedol k tomu, že sa stal v našich krajinách najpoužívanejším. Samostatnou kapitolou v oblasti automatizácie diagnostiky SARS-CoV-2 sa stali protokoly nevyžadujúce krok extrakcie nukleových kyselín s priamou detekciou vírusovej nukleovej kyseliny z odberového média⁽¹⁾. Tie sa však v našich laboratóriách v rutínnej diagnostike nevyužívali.

RT-qPCR

V čase, keď sa pandemická vlna dostala prvýkrát na naše územie, boli už vo svete dostupné relatívne štandardizované a validované protokoly pre detekciu SARS-CoV-2 v klinických vzorkách na základe štúdií publikovaných všeobecne akceptovanými autoritami (napr. protokol odporúčaný WHO⁽²⁾), ktoré metodicky odkazovali na metódu RT-qPCR a aj preto sa na celosvetovej úrovni stala metóda RT-qPCR detekcie SARS-CoV-2 všeobecne používaným a akceptovaným „zlatým štandardom“⁽³⁾. Treba však podotknúť, že hoci sa aj v následnom období v odbornej verejnosti rozšírili nielen tieto originálne, ale aj modifikované alebo alternatívne protokoly, rovnako využívali ako nosnú metódu RT-qPCR. Tá si však vo všeobecnosti vyžaduje špecifické laboratorné vybavenie v podobe realtime PCR cyklov, ktoré sú síce relatívne často používané v molekulárnogenetických laboratóriách, preto bolo možné relatívne rýchlo prevziať takto dostupné protokoly, často už v podobe komerčne dostupných kitov, a používať ich bez ďalšieho zdržania v rutinných diagnostických laboratóriách.

Manažment vzoriek – laboratorný informačný systém

Neoddeliteľnou súčasťou príjmu, spracovania vzoriek a vyhodnotenia ich analýz je v diagnostických laboratóriách manažment informácií v laboratornom informačnom systéme – LIS. V mnohých laboratóriách sú zavedené na mieru vytvorené LIS systémy, ktoré reflektujú históriu a aktuálne potreby daného laboratória, pričom na ich pozadí sú výkonnými komponentmi komplexné a robustné softvérové riešenia, ktorých zmeny si často vyžadujú nielen samotné úpravy v týchto softvéroch, ale aj ich detailné testovanie, keďže diagnostická sféra z pohľadu citlivosti spracúvaných informácií musí podliehať najvyššej úrovni ochrany takýchto dát. Podobne pre minimalizáciu rizika zámery vzoriek sú vzorky ideálne už na odberových miestach označené unikátnymi, pseudoanonymnými a nezameniteľnými identifikátormi, ktoré vzorku sprevádzajú celým procesom od odberu po vydanie výsledku, resp. jeho štatistické vyhodnotenie a reportovanie národnej autorite. Zároveň a špecificky v prípadoch, medzi aké patrila aj pandémia COVID-19 a s ňou spojená potreba výmeny informácií s centrálnymi inštitúciami reprezentujúcimi národné authority, ktoré hrali hlavnú úlohu nielen v monitoringu priebehu pandémie, ale najmä v manažmente protipandemických opatrení, bolo nevyhnutné upraviť funkcionality LIS systémov tak, aby výmena týchto informácií prebiehala paralelne a bez nežiaduceho časového zdržania. Aj táto úloha zamestnala v každom diagnostickom laboratóriu IT špecialistov. Je pochopiteľné, že už spomenuté identifikátory museli byť v laboratóriu používané na vstupe a následne výstupe z jednotlivých komponentov aj v rámci laboratória, teda napr. už pri

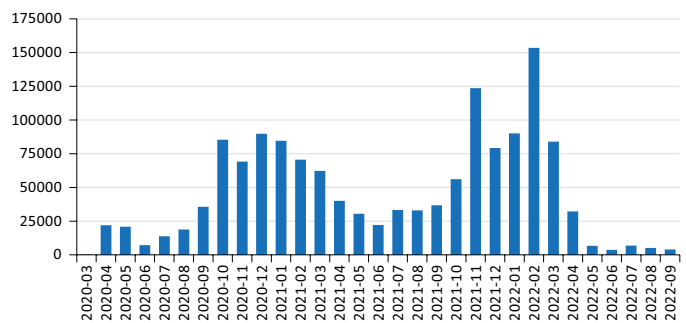
úvodnom formátovaní primárnych vzoriek do 96-jamkového formátu, ak následne došlo k automatizácii jednotlivých krokov spracovania vzoriek (Medirex, a. s.), resp. aj pri kompletom spracovaní vzoriek jednotným a plne automatizovaným riešením (Spadia Lab, a. s.). V oboch prípadoch sa vzorky čo najskôr v rámci celého procesu od odberu vzoriek až po ich prvý kontakt s analyzačným laboratóriom označovali čiarovými kódmi, ktoré celý proces a jeho čiastočnú alebo plnú automatizáciu zjednodušili a minimalizovali potenciálne riziko zámeny vzoriek, ktoré sú najčastejšie zdrojom problémov pri manuálnom spracovaní a analýze vzoriek. S týmto cieľom boli LIS systémy upravené tak, aby bolo možné používať na získanie informácií o vzorkách prichádzajúcich do laboratórií na formátovanie buď manuálne čítačky čiarových kódov, alebo sa ideálne čiarové kódy načítavali vo formátovacích pipetovacích automatoch, čo potenciálnu zámenu vzoriek pri ich spracovaní prakticky úplne vylúčilo. Následne celý proces spracovania vzoriek, ako aj príprava parciálnych protokolov, ktoré boli súčasťou rutinných laboratórnych procesov, prebiehal prostredníctvom LIS funkcií až po vydanie výsledku po jeho kontrole dedikovanými laboratórnymi špecialistami. Takto vydaný výsledok bol prostredníctvom automatizovaných IT služieb odosielaný okamžite nielen klientom (pacient, lekár, klinika), ale aj do národných informačných systémov, v ktorých sa dáta tohto typu zbierali zo všetkých laboratórií v rámci Slovenska – Národné centrum zdravotníckych informácií (NCZI) a Českej republiky – Informačného systému infekčných nemocí (ISIN). Len vďaka doprogramovaniu príslušných funkcionalít bolo možné zvyšovať výkon diagnostických laboratórií a zabezpečiť aktualizáciu informácií v národných databázových centrách.

Výsledky a diskusia

Laboratóriá Medirex, a. s.

Kapacita laboratórií sa s pribúdajúcimi požiadavkami na vyšetrovanie vzoriek a narastajúcim počtom zariadení, ako aj s prechodom až na trojzmený režim práce postupne zvyšovala. Postupné navyšovanie počtu zariadení – pipetorov, izolátorov a RT-qPCR cyklov si v priebehu fungovania laboratórií vyžadovalo optimalizáciu priestorového usporiadania laboratórií. Laboratóriá sa nachádzali na troch miestach v rámci Slovenska – v Bratislave, Košiciach a Nitre, pričom laboratóriá s najvyšším denným výkonom, ktoré boli automatizované v najvyššej miere, boli práve v Nitre. Vo finálnej podobe tieto laboratóriá obsahovali dva BSL2 laminárne boxy pre primárne formátovanie vzoriek do 96-jamkového formátu v manuálnom režime, tri izolačné automaty KingFisher Flex (ThermoFisher Scientific, USA) na extrakciu nukleových kyselín, jeden pipetovací systém Opentrons OT2 (Opentrons, USA) na prípravu PCR platní, tri realtime PCR systémy QuantStudio 5 a jeden systém QuantStudio 6 (Life Technologies, USA) pre samotnú RT-qPCR. V laboratóriách v Bratislave a v Košiciach bolo rovnako zavedené manuálne formátovanie primárnych vzoriek do 96-jamkových platní, ale extrakcia nukleových kyselín bola realizovaná s ohľadom na rôzne počty spracovávaných vzoriek cez automatické systémy KingFisher Flex (ThermoFisher Scientific), Zybío EXM3000 a Zybío EXM6000 (Zybío, Čína). V laboratóriách v Bratislave bol na prípravu PCR platní dostupný aj pipetovací systém Agilent

Obrázok 1. Prehľad počtov analyzovaných vzoriek v SARS-CoV-2 diagnostických laboratóriách spoločnosti Medirex, a. s., v období od marca 2020 do septembra 2022.

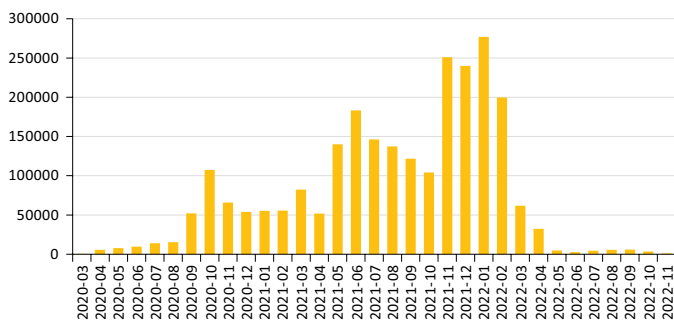


Bravo (Agilent, USA). RT-qPCR sa realizovali v Bratislave a Košiciach na troch systémoch 7500 Fast Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA), troch systémoch Roche LightCycler 480 (Roche, USA) a troch systémoch QuantStudio 5 (Applied Biosystems). Práve takáto rôznorodosť laboratórneho vybavenia a lokalizácia laboratórií v troch miestach neumožnili väčšiu úroveň automatizácie celého procesu v takom rozsahu, ako keby bolo testovanie úplne centralizované, Zároveň na dosiahnutie maximálnej flexibility, rešpektujúc aj potrebu čo najkratšieho času potrebného na vydanie výsledku, bola laboratórna práca realizovaná v čiastočne manuálnom móde. Z pohľadu počtov vzoriek bolo v období od marca 2020 do septembra 2022 realizovaných v laboratóriách Medirex, a. s., 1 420 572 testov. Za sledované obdobie bolo najviac testov vykonaných na prelome januára a februára 2022, keď bolo za štyri týždne analyzovaných 195 589 vzoriek. V trojzmennej prevádzke len v laboratóriách v Nitre bolo možné vyšetriť > 9 000 vzoriek denne (obrázok 1).

Laboratóriá Spadia Lab, a. s.

Kapacita laboratória sa s pribúdajúcim počtom zariadení a s prechodom na dvojzmený režim postupne zvyšovala. Podobne ako v laboratóriách Medirex, a. s., si zavedenie a zvyšovanie počtu jednotlivých kľúčových zariadení – pipetorov, izolátorov a cyklov časom vyžadovalo priestorové preusporiadanie laboratórií. Laboratóriá sa však centralizovali a boli lokalizované v Ostrave. Zároveň s centralizáciou laboratórií boli navyše odberové súpravy unifikované primárne na vzorky, ktoré obsahovali špeciálne inaktivačné odberové médium, čo umožnilo laboratóriám Spadia Lab, a. s., spracúvať vzorky od prvého kontaktu bez potreby zabezpečenia laboratórnych opatrení na úrovni BSL2. Toto prinieslo aj ďalšie nadväzujúce benefity, napríklad možnosť unifikácie a plnej automatizácie už prvého kroku formátovania vzoriek z odberových skúmaviek do 96-jamkových platní v tzv. otvorenom automatickom pipetovacom systéme, čo umožnilo výrazne zvýšiť dennú kapacitu laboratórií bez potreby spustiť trojzmenú prevádzku pri požadovanom výkone aj nad 10 000 vzoriek denne. Laboratóriá v optimalizovanom režime obsahovali prakticky plne automatizovanú linku, ktorá obsahovala tri pipetovacie systémy na formátovanie primárnych vzoriek Biomek i5 (Beckman Coulter). Extrakcia nukleových kyselín prebiehala v štyroch automatických extraktoroch KingFisher Flex (Thermo Scientific), do ktorých boli predpripravené re-

Obrázok 2. Prehľad počtov analyzovaných vzoriek v SARS-CoV-2 diagnostických laboratóriách spoločnosti Spadia Lab, a. s., v období od marca 2020 do novembra 2022.



akčné platničky prostredníctvom pipetovacieho systému Bio-mek i7 (Beckman Coulter), ktorý tiež predpripravil RT-qPCR reakčné platničky, do ktorých sa s použitím pipetovacieho systému Agilent Bravo (Agilent) preniesli vzorky extrahovaných nukleových kyselín. Takto pripravené platne sa vložili do jedného z osemnástich RT-qPCR cyklov Biorad CFX96, resp. CFX Opus 96 (Biorad).

Využitím automatizácie bolo možné postupne zvýšiť počty vyšetrených vzoriek za jednotlivé mesiace od začiatku pandémie SARS-CoV-2 aj s ohľadom na nárast požiadaviek z odberových miest. Z pohľadu počtov vzoriek bolo v období od marca 2020 do novembra 2022 realizovaných v laboratóriách Spadia Lab, a. s., 2 499 921 testov. Maximálna kapacita laboratória bola dosiahnutá v období november 2021 až január 2022, keď bolo mesačne vyšetrených priemerne viac ako 250 000 vzoriek, čo zodpovedá dennému priemeru > 10 000 vzoriek (**obrázok 2**).

Automatizácia testovania vo všeobecnosti zvyšuje odolnosť laboratórií proti výpadkom spojeným s nedostupnosťou pracovnej sily, ktorá je problematická predovšetkým v čase pandémie, keď je zabezpečenie potrebného počtu zamestnancov limitované napr. aj rizikami spojenými s pracovnou neschopnosťou či náhlym výpadkom pracovníkov väčšieho rozsahu z dôvodu aplikácie protipandemických opatrení. S nižšími požiadavkami na personál je menej pravdepodobné, že kapacita bude ovplyvnená nestálosťou v otázkach pracovnej sily, špeciálne v prípade manuálnej prevádzky. Okrem toho v časoch, keď kapacita klesá, automatizovaný pracovný tok znižuje riziko nedostatočného využitia pracovnej sily a s tým súvisiace zbytočne vysoké náklady na pracovnú silu. Vhodnou alternatívou k nami prezentovaným tzv. *home-made* riešeniam sú aj profesionálne jednoúčelové uzatvorené diagnostické systémy. V rámci pandémie COVID-19 sa najmä v rozvinutých krajinách vo významnej miere využívali práve takéto alternatívy, pričom treba podotknúť, že často poskytovali porovnateľné denné kapacity, aké boli dosiahnuté v našich laboratóriách. Príkladom je riešenie od spoločnosti Thermo Fisher Scientific Amplitude solution, ktoré umožňuje spracovať asi 8 000 vzoriek za 24 hodín⁽⁴⁾. Zaujímavou alternatívou je aj možnosť vybudovať špeciálne mobilné jednoúčelové laboratória Huo-Yan Air Laboratory, ktoré sa pri testovaní na SARS-CoV-2 úspešne využívali v čínskych veľkomestách. Ich kapacita presahovala 10 000 vzoriek denne a veľkou výhodou je možnosť ich vybudovania v podstate na „zelenej

lúke“ a v expresnom čase do 24 hodín⁽⁵⁾. Unikátnym prípadom zvyšovania výkonu je extrémne špecializovaná automatická linka LGC Biosearch Technologies' SARS-CoV-2 testing system založená na platforme Nexar, umožňujúca dosiahnuť pri optimálnom nastavení až 150 000 testov v rámci jedného dňa s minimalizáciou potrebných manuálnych úkonov⁽⁶⁾. Využitie takýchto systémov a laboratórií v regionálnom meradle je však limitované a v prípade, že sa skokovo znížia počty vzoriek, ktoré je potrebné v krátkom čase analyzovať, je ich prevádzka extrémne neflexibilná a ekonomicky nerentabilná. Dôležitým parametrom, ktorý je spojený so zavedením automatizácie do laboratórnych procesov, je aj obmedzenie výskytu falošných výsledkov (falošne pozitívnych aj falošne negatívnych) spôsobených predovšetkým ľudským faktorom. Miera výskytu v prípade využívania manuálnych úkonov do značnej miery koreluje s odolnosťou a skúsenosťou laboratórneho personálu, pričom oba tieto komponenty boli v čase pandémie podrobené extrémnym nárokom, keďže sa často testovalo v laboratóriách pracujúcich vo viaczmennej prevádzke a zároveň na jej zabezpečenie bolo nevyhnutné akceptovať zaradenie aj menej skúsených pracovníkov. V tejto súvislosti je potrebné zmieniť sa, že pravdepodobne najčastejšie sa mohli vyskytnúť falošne pozitívne výsledky v kontexte vzájomnej krížovej kontaminácie vzoriek pri ich odbere a balení v odberových centrách, vyliatím obsahu skúmavky a jeho kontaktu s inými skúmkami počas jej transportu, príjmu v laboratóriu či rozliatia a kontaminácie pracovníka pri manipulácii so vzorkami v rámci ich prípravy na formátovanie/reformátovanie a kontaminácie ďalších vzoriek týmto pracovníkom. Naopak, falošne negatívne výsledky je možné pri spracovaní získať najčastejšie v dôsledku nekvalitného odberu (do 30 % falošne negatívnych prípadov), nenapipetovaním vzorky do skúmavky, z ktorej sa realizuje extrakcia nukleových kyselín alebo RT-qPCR analýza, prípadne pri spojení dvoch vzoriek do jednej skúmavky, pričom tá druhá zostane prázdna a analýza z nej ďalej pokračuje⁽⁷⁾.

Toto vyhodnotenie ukazuje, že čiastočná alebo plná automatizácia pracovných procesov umožnila obom laboratóriám nielen významné zvýšenie laboratórnych testov, ale dokonca sa so svojimi kapacitami dostať na takú úroveň, keď boli kompletne schopné pokryť požiadavky zo strany objednávateľov testov, resp. ju udržať ešte aj s dostatočnou rezervou, pre prípadne ďalšie zvyšovanie takýchto požiadaviek, ak by to bolo potrebné. S ohľadom na regionálne špecifiká vo vybavení personálnymi kapacitami aj dostupnosťou laboratórnej automatizácie sa v oboch laboratóriách zabezpečili riešenia, ktoré mali potenciál byť vo veľkom rozsahu nasadené aj počas budúcich pandémieí alebo v iných prípadoch naliehavej potreby verejného zdravia. Po ďalších modifikáciách zároveň pre relatívnu univerzálnosť využitých riešení môžu byť komponenty automatizovaného systému zaradené v rámci súčasnej infraštruktúry týchto zdravotníckych laboratórií tak, aby boli k dispozícii na budúce použitie, ak by sa vyžadoval opakované rýchly nábeh a škálovateľnosť testovacej kapacity.

Záver

Schopnosť rýchlo a presne identifikovať infikovaných jedincov, ktorých karanténa je pre šírenie pandémie rozhodujúca, je kritická nielen počas globálnych pandémieí. Au-

tomatizované testovanie s vysokou priepustnosťou pre rýchle otestovanie významného podielu populácie umožňuje rýchle reagovanie národných autorít s dosahom na manažment protipandemických opatrení, a to v prípade náhleho prepuknutia epidémie na lokálnej aj globálnej úrovni. Počas pandémie COVID-19 sa extrémne urýchlili inovácie v laboratórnej automatizácii diagnostického testovania a zrýchlila sa schopnosť monitorovať a v prípade možností aj obmedzovať prenos vírusu aplikáciou cielených protipandemických opatrení. Tieto možnosti sa vyvíjali paralelne so schopnosťou laboratórií modifikovať svoje procesy v nadväznosti na požiadavky vysokopriepustného testovania zohľadňujúce aktuálnu situáciu v danom regióne. Zároveň sa preukázalo, že aj s ohľadom na limity spôsobené okrem iného rozdielnou dostupnosťou komplexných automatizovaných riešení alebo ich jednotlivých komponentov je možné dosiahnuť porovnateľné výsledky využitím rôznych dizajnov a dopracovať sa k porovnateľným výkonnostným kapacitám využitím rôznych prístupov so zachovaním všeobecne akceptovateľných

laboratórnych štandardov, hoci si to vyžaduje intenzívne zapojenie laboratórnych a IT špecialistov. V oboch laboratóriách boli vďaka ich skúsenostiam a dostupnosti špecialistov z rôznych laboratórnych oblastí realizované pre daný región optimalizované riešenia aj s dostatočnou rezervou pre prípadný náhly nárast požiadaviek pri opakovaní podobnej situácie, akej sme boli aktívnymi účastníkmi počas doznievajúcej pandémie COVID-19.

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. Kriegova E, Fillerova R, Kvapil P. Direct-RT-qPCR Detection of SARS-CoV-2 without RNA Extraction as Part of a COVID-19 Testing Strategy: From Sample to Result in One Hour. *Diagnostics* (Basel). 2020 Aug 18; 10(8): 605.
2. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf>
3. Jonguitud-Borrego N, Malci K, Anand M, Baluku E, Webb C, Liang L, Barba-Ostria C, Guaman LP, Hui L, Rios-Solis L. High-throughput and automated screening for COVID-19. *Front Med Technol*. 2022 Sep 15; 4: 969203.
4. <https://www.labmate-online.com/article/laboratory-products/3/thermo-fisher-scientific-uk-ltd/rapid-covid-19-testing-enabled-by-advanced-laboratory-automation-and-lims/2906>
5. <https://www.prnewswire.com/news-releases/bgi-supports-saudi-arabia-to-establish-six-huo-yan-laboratories-to-enable-covid-19-testing-for-30-of-the-population-in-the-next-8-months-301047527.html>
6. <https://www.lgcgroup.com/newsroom-and-blog/news-and-blog/nexar-provides-significant-pcr-testing-capacity-at-rosalind-franklin-laboratory/>
7. Soufan G, Berro N, Nahle S, Darwish M, Ghaddar M, Makki M, Younes M, Sater FA. Lab practices that improve coronavirus disease 2019 detection accuracy using real-time PCR. *JBIM Evid Implement*. 2022 Sep 1; 20(3): 172-179.

RNDr. Gabriel Minárik, PhD.

MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o.

Novozámocká 67, 949 05 Nitra

e-mail: Gabriel.Minarik@medirex.sk

Biochemical Markers as Predictors of IVF Success: A Machine Learning Approach

Anton Mateašík, Martin Berki, Tomáš Závodník, Martin Donoval, Michal Mičjan
Institute of Electronics and Photonics, Faculty of Electrical Engineering and Information Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovakia

The success of in vitro fertilization (IVF) treatments is influenced by a complex interplay of multiple factors, including patient-specific biochemical parameters. In this study, a machine learning approach is used to analyze the biochemical markers of the patient undergoing IVF. A dataset of 28 patients undergoing IVF treatments was collected, comprising a range of 21 biochemical parameters. Traditional logistic regression, support vector machines, decision trees and random forests classification were applied to analyze and model the data. The feature selection and dimensionality reduction techniques has been used to identify the most relevant and informative markers for IVF prediction. Subsequently, the various sets of selected marker values have been used to train and predict IVF success outcomes, and to evaluate performance of classification models in terms of accuracy, sensitivity, and specificity depending on the selected markers or features. The results have shown that it is possible to formulate a certain probability of IVF based on these markers, and that most of the used classification models required a smaller number of markers. As for the performance, the best results were achieved by the SVM and decision trees approaches, which achieved 70-80 % prediction accuracy using several parameters less than 6.

Keywords: in vitro fertilization, machine learning, binary classification

Aplikácia strojového učenia pri analýze biochemických parametrov z pohľadu predikcie úspešnosti IVF liečby
Úspešnosť IVF liečby je ovplyvnená komplexnou súhrou faktorov vrátane biochemických parametrov špecifických pre pacienta. V tejto štúdií sa analyzovalo 21 biochemických markerov séra 28 pacientov podstupujúcich IVF pomocou strojového učenia. Na analýzu a modelovanie údajov bola použitá tradičná logistická regresia, metóda podporných vektorových strojov, metóda rozhodovacích stromov a metóda náhodných lesov. Na identifikáciu najsignifikantnejších a informatívnych markerov na predpovedanie IVF sa použili techniky výberu príznakov a redukcie dimenzie dát. Následne sa rôzne súbory hodnôt vybraných markerov použili na tréning a predpovedanie výsledkov IVF a na vyhodnotenie výkonnosti klasifikačných modelov z hľadiska presnosti, citlivosti a špecifickosti v závislosti od vybraných markerov alebo znakov. Výsledky ukázali, že na základe týchto markerov je možné formulovať určitú pravdepodobnosť IVF úspešnosti, pričom väčšina použitých klasifikačných modelov vyžadovala menší počet markerov, ako bolo vo vstupnej dátovej množine. V súvislosti s výkonnosťou dosiahla najlepšie výsledky metóda SVM a metóda rozhodovacích stromov, ktoré nadobudli presnosť predpovedí v rozmedzí 70 – 80 % pri použití menej ako 6 biochemických parametrov.

Kľúčové slová: in vitro fertilizácia, strojové učenie, binárna klasifikácia

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 106-109

Introduction

In vitro fertilization (IVF) is a widely used assisted reproductive technology that aims to help infertile couples conceive⁽¹⁾. However, the success rate of IVF is low and varies depending on numerous factors, such as the quality of oocytes, sperm, embryos, and the endometrium⁽²⁾. Therefore, there is a need for reliable methods to predict the outcome of IVF and improve its efficiency. One of the possible methods is to analyze the biochemical parameters of the patient undergoing IVF⁽³⁾. However, the analysis of the biochemical parameters is challenging, as they are influenced by many factors, such as age, body mass index, lifestyle, and medication of the patients. Moreover, the biochemical parameters are often correlated with each other, and their individual effects on the IVF outcome are difficult to isolate⁽⁴⁾. Therefore, a machine learning approach is needed to handle the complexity and the

high dimensionality of data types, and to identify the most relevant and informative markers for IVF prediction⁽⁵⁾. Machine learning is a branch of artificial intelligence that uses algorithms to learn from data and make predictions or decisions. Machine learning can be applied to various types of data, such as numerical, categorical, textual, or image data, and can perform various tasks, such as classification, regression, clustering, or recommendation⁽⁶⁾.

There are studies in the literature that show how machine learning can be used to predict the outcome of IVF using different combinations of various parameters collected at various stages of process and of various type^(7,8). In this study, a machine learning approach was used to analyze solely the set of biochemical parameters of the patient undergoing IVF, and to classify them into pregnant or non-pregnant groups based on their biochemical profiles. The traditional logistic

regression, support vector machines, decision trees and random forests classification methods have been applied to analyze and model the data. To estimate an importance of biochemical parameters, feature selection and dimensionality reduction techniques was applied to identify the most relevant and informative feature markers for IVF prediction. The various sets of selected marker values were then utilized to train and predict IVF success outcomes, and to evaluate the performance of the classification models in terms of accuracy, sensitivity, and specificity depending on the selected markers or features. The results of the different machine learning approaches, and their implications for IVF decision making and counseling are discussed.

Materials and Methods

The study used a dataset consisting of 21 biochemical parameters obtained from 28 patients on the day of egg transfer. The patients' age and body mass index were also considered, making 23 input parameters in total. Out of the 28 patients, 13 achieved successful IVF outcome and 15 did not.

The input parameters were processed using classical statistical analysis and the mean \pm standard deviation values were determined for each parameter. The correlation and possible statistically significant differences were determined by Pearson's chi-square test and parametric Student's t-test. P value < 0.05 was considered as threshold for statistical significance.

To predict the success of the IVF process, four machine learning methods were used - logistic regression (LR), support vector machines (SVM), decision trees (DT), and random forests (RF). For each method, dataset was ran-

domly divided into the training set (70 %), and the test set (30 %).

To analyze the impact of individual input parameters on the prediction, models were trained with different selections of parameters, and thus feature vectors of varying size. The parameter selection was performed using the Recursive Feature Elimination method (REF), which can determine the ranking of parameters according to their significance for the classifier accuracy used in the study⁽⁹⁾. For each classification method, feature vectors of different sizes from 1 to 10 were successively selected using RFE, and a corresponding model was trained for each feature vector. For each trained model, the accuracy, sensitivity, and specificity were determined.

The data processing, model training, and analysis were performed using python and scikit library.

Results

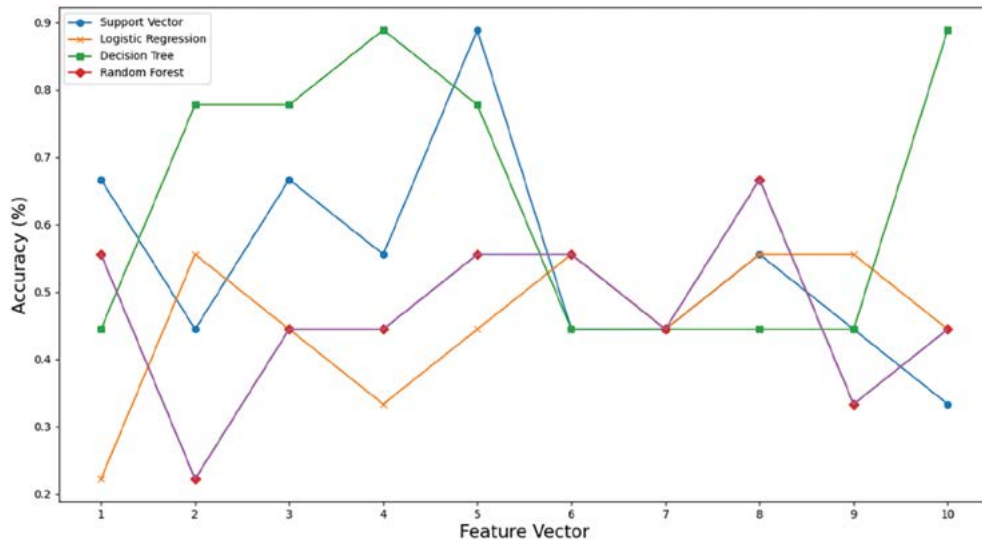
For the statistical analysis, the dataset was split into two groups based on the success or failure of egg transfer. **Table 1** shows the summary of the parameters with their mean values. Comparison of the groups and statistical testing with a t-test and Pearson's chi-square test did not differ significantly in any parameters.

Classification models were trained first with all parameters. The predictive ability of these models was very low (prediction accuracy below 20 %). In the next step, subsets of parameters were selected for training, gradually from 1 to 10 parameters. Which parameter should be included in the set was determined by its ranking by the RFE method. For each classification algorithm, and for each set a model was trained and the prediction accuracy of this model was determi-

Table 1. List of all parameters used in study. The total number of patients were 28, 15 with negative IVF outcome and 13 with positive IVF outcome.

Parameter	Label	Negative (mean \pm std)	Positive (mean \pm std)
Age	AGE	36.73 \pm 4.61	37.31 \pm 4.50
Body Mass Index	BMI	24.56 \pm 5.61	26.11 \pm 5.07
Serum glucose (mmol/l)	S-Glu	5.32 \pm 1.05	4.98 \pm 0.89
Homocysteine in plasma (umol/l)	P-HCY	10.07 \pm 2.63	10.57 \pm 3.45
TSH (mIU/l)	TSH	2.87 \pm 2.38	1.62 \pm 0.86
T4 free in serum (pmol/l)	S-ft4	15.19 \pm 4.01	16.79 \pm 1.28
aTG (kIU/l)	S-aTG	69.37 \pm 103.91	15.14 \pm 4.50
aTPO (kIU/l)	S-aTPO	109.14 \pm 182.74	43.65 \pm 111.61
DHEA-sulfate in serum (umol/l)	S-DHEAS	4.10 \pm 2.66	4.06 \pm 2.60
Serum testosterone (nmol/l)	S-TST	0.56 \pm 0.47	0.46 \pm 0.46
Free testosterone (pmol/l)	S-ftST	2.45 \pm 1.82	2.47 \pm 1.56
SHBG (nmol/l)	S-SHBG	117.20 \pm 53.48	97.92 \pm 59.20
Ratio TST/SHBG (%)	FAI	0.73 \pm 1.36	0.71 \pm 0.96
Serum progesterone (nmol/l)	S-PROG	112.43 \pm 38.87	110.67 \pm 31.73
Serum prolactin (ug/l)	S-PRL	11.14 \pm 5.79	15.52 \pm 8.64
Serum FSH (IU/l)	S-FSH	2.52 \pm 1.40	2.37 \pm 1.22
Anti-Mullerian hormone (ug/l)	AMH	3.01 \pm 3.73	2.68 \pm 3.11
LH (IU/l)	S-LH	3.70 \pm 2.85	4.69 \pm 3.91
Serum estradiol (pmol/l)	S-E2	848.43 \pm 536.98	664.58 \pm 362.79
17-OH-progesterone in serum (nmol/l)	S-HPRO	6.30 \pm 2.50	5.83 \pm 2.09
Serum insulin (mIU/l)	S-Inz	21.84 \pm 26.08	24.79 \pm 15.67
Vitamin D Total	S-vit. D	32.97 \pm 9.11	34.54 \pm 10.28
Insulin resistance	HOMA	5.48 \pm 6.95	6.24 \pm 4.37

Graph 1. Accuracy of predictions of four classification models (LR, SVM, DT and RF) trained with different sized feature sets (Feature Vector).



ned. The dependency of accuracy on size of selected sets of parameters is shown on **Graph 1**. Sets of parameters determined by the RFE method differed for individual classification algorithms, and no significant trend was shown in the selection. **Table 2** shows feature vectors for each classification algorithm for which maximum prediction accuracy was achieved.

Discussion

The study focused on the possibility of applying machine learning methods to predict the IVF outcome from biochemical parameters of patients on the day of egg transfer. Four machine learning methods were used - logistic regression, support vector machines, decision trees, and random forests. These methods were reported as convenient choice to build prediction models for IVF outcomes considering various number of clinical parameters (features)^(10,11). This study demonstrated that the methods mentioned can predict IVF outcomes using only biochemical parameters. However, the prediction accuracy differs among techniques and is influenced by the number of parameters used. The SVM and DT methods achieved the highest score by using 5 and 4 parameters, respectively. The remaining two methods RL and RF showed overall low prediction accuracy across of all selected feature sets. However, the reliability of the prediction needs to be carefully discussed. The present study’s prediction accuracy is limited due to the scarcity of data, which significantly decreased the precision of all the methods used. Parameters such as age and BMI, for example, were

shown to be insignificantly associated, which contrasts with works that highlight their significance^(8,12). This fact may be explained by the limited amount and structure of the data, where the variability of these two parameters did not exhibit a significant impact on predictive ability. The presented results basically show that it is technically possible to create predictions based on biochemical parameters. The essentially indirect dependence of accuracy and number of characters, as seen on **Graph 1**, points out that even a large number of biochemical parameters can have a limited impact on the predictive performance of classification, because the trend in the data is captured only with a smaller limited number of parameters⁽¹²⁾. In addition, no relationship was demonstrated between the selection of a smaller set of parameters and used different classification methods, what may indicate that considering only biochemical parameters is not sufficient to make a reliable prediction as there is a lack of some significant markers featuring potential prediction-making patterns in patient’s data. This fact suggests that solely biochemical parameters can have limited role in building effective predictors in future work and predictors with more diverse inputs are needed.

Conclusion

Machine learning methods can be applied to the analysis of biochemical markers of IVF patients with a focus on the pure prediction of the success of egg transfer, but for a robust prediction it is not sufficient, and it is necessary to include other diagnostic parameters.

Table 2. The feature vectors (or subset of input biochemical parameters) for that particular classification method have achieved the highest accuracy of prediction of IVF outcome. The name of particular feature corresponds to name from Table 1.

Classifier	Feature Vector	Accuracy	Sensitivity	Specificity
Support Vector	TSH S-ftST FAI S-PRL S-HPRO	89 %	67 %	83 %
Logistic Regression	TSH FAI	56 %	50 %	60 %
Decision Tree	S-PRL AMH S-LH S-E2	0.89 %	67 %	83 %
Random Forest	TSH S-ft4 S-aTG S-aTPO S-SHBG S-PRL S-E2 S-ln	0.67 %	60 %	75 %

Data availability statement

All collected and used data adhered to both Slovak national data protection regulations and the European General Data Protection Regulation (GDPR). Any patient-related information has been anonymized to ensure confidentiality.

Ethics statement

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethical committee of Košice Self-Governing District under the identifier 5259/2022/ODDZ-16668 from April 26, 2022. All patients have filled in the questionnaires with relevant information regarding their health status and signed informed consent.

Acknowledgement

This article was supported thanks to the generous support under the Operational Program Integrated Infrastructure for the project: "Support of research and development capacities focused on the digital transformation of clinical and laboratory procedures in the provision of health care" ITMS code: 313011BWX3 co-financed by the European Regional Development Fund.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená Výskumnou agentúrou Slovenskej republiky v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt „Podpora výskumno-vývojových kapacít zameraných na digitálnu transformáciu klinických a laboratórnych postupov pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti“ ITMS kód: 313011BWX3 spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

REFERENCES

1. Niederberger C, Pellicer A, Cohen J, et al. Forty Years of IVF. *Fertil Steril* (2018) 110(2): 185-324.
2. van Loendersloot LL, van Wely M, Limpens M, et al. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 2010; 16(6): 577-589.
3. Szymusik I, Kosinski P, Kosinska-Kaczynska K, et al. The first trimester aneuploidy biochemical markers in IVF/ICSI patients have no additional benefit compared to spontaneous conceptions in the prediction of pregnancy complications. *Journal of Perinatal Medicine* 2017; 46(9): 953-959.
4. Vander Borgh M, Wyn C. Fertility and infertility: definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry* 2018; 62: 2-10.
5. Gheselle S, Jacques C, Chambost J, et al. Machine learning for prediction of euploidy in human embryos: in search of the best-performing model and predictive features. *Fertility and Sterility* 2022; 117(4): 738-746.
6. Obermeyer Z, Emanuel EJ. Predicting the Future - Big Data, Machine Learning and Clinical Medicine. *N Engl J Med* 2016; 375(13): 1216-1219.
7. <https://ivfresources.org/biochemical-pregnancy-and-ivf>
8. Liu R, Bai S, Jiang X, et al. Multifactor prediction of embryo transfer outcome based on machine learning algorithm. *Frontiers in Endocrinology* 2021; 12: 1-10.
9. https://scikit-learn.org/stable/auto_examples/feature_selection/plot_rfe_with_cross_validation.html
10. Goyal A, Kuchana M, Ayyagari KPR. Machine Learning Predicts Live-Birth Occurrence Before in-Vitro Fertilization Treatment. *Sci Rep* (2020); 10(1): 20925.
11. Raef B, Maleki M, Ferdousi R. Computational Prediction of Implantation Outcome After Embryo Transfer. *Health Inf J* (2020); 26(3): 1810-1826.
12. Jia W, Sun M, Lian J, et al. Feature dimensionality reduction: a review. *Complex Intell. Syst.* 2022; 8: 2663-2693.

Ing. Michal Mičjan, PhD.

Oddelenie organickej a lekárskej elektroniky
Fakulta elektrotechniky a informatiky
Slovenská technická univerzita v Bratislave
Ilkovičova 3, 841 04 Bratislava
e-mail: michal.micjan@stuba.sk

Využitie syndrómového panelu PCR pri laboratórnej diagnostike infekcií dolných dýchacích ciest a porovnanie s bakteriologickou kultiváciou

Oxana Šulíková, Alena Donauerová, Katarína Kollárová

Oddelenie klinickej mikrobiológie, Medirex a.s.

Na identifikáciu vyvolávateľov infekcií dolných dýchacích ciest sa rutinne využíva kultivácia, sérologická diagnostika a molekulárnobiologické metódy. V práci bola porovnaná metóda PCR (panel multiplex PCR) s kultiváciou baktérií. V roku 2022 bolo na PCR diagnostiku pomocou FILMARRAY® Pneumonia plus Panel indikovaných 148 vzoriek, ktoré mali zároveň bakteriologickú kultiváciu z identického materiálu. Zhoda v zmysle negatívneho výsledku PCR/kultivácia, resp. pozitívneho s detekciou rovnakého infekčného agensu bola pozorovaná v 110 prípadoch. V 35 prípadoch bola metóda PCR senzitívnejšia ako kultivácia. V 18 prípadoch bola pozorovaná čiastočná zhoda (detekcia vyššieho počtu baktérií pomocou PCR) a v 17 prípadoch bola kultivácia negatívna. V 3 prípadoch (7 izolátov) bola kultivačná metóda citlivejšia ako PCR. Rýchla PCR diagnostika je efektívna najmä u kriticky chorých pacientov a optimálne je používať ju v kombinácii s kultivačným vyšetrením.

Kľúčové slová: infekcie dolných dýchacích ciest, molekulárna analýza, BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel

The use of the PCR syndrome panel in the laboratory diagnostics of lower respiratory tract infections and comparison with bacteriological culture

Cultivation, serological diagnosis and molecular biological methods are routinely used to identify the causative agents of lower respiratory tract infections. The PCR method (multiplex PCR panel) was compared with the bacterial culture technique. In 2022, 148 samples were examined in parallel by FILMARRAY® Pneumonia plus Panel PCR and bacteriological cultivation. Matched negative results of PCR/culture or positive results with detection of the same infectious agent were observed in 110 cases. In 35 cases, the PCR analysis was more sensitive than the cultivation method. In 18 cases, a partial concordance (detection of a higher number of bacteria by PCR) was observed, and in 17 cases, the culture was negative. In 3 cases (a total of 7 isolates), the culture method was more sensitive than PCR. Rapid PCR diagnostics is effective, especially in critically ill patients; and it is optimal to use it in combination with a culture examination.

Keywords: lower respiratory tract infections, molecular analysis, BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 110-113

Úvod

Infekcie dolných dýchacích ciest sú časté ochorenia, ktoré nadväzujú alebo sprevádzajú infekcie horných dýchacích ciest. Sú celkovo závažnejšie ako infekcie horných dýchacích ciest. Patrí k nim laryngitída (subglotická časť laryngu) a tracheitída, diftéria, pertussis, akútna bronchitída, akútna exacerbácia chronickej bronchitídy, bronchiolitída, respiračný syncytiálny vírus, hantavírusový pľúcny syndróm a pneumónie⁽¹⁾. V etiológii sa najčastejšie uplatňujú vírusy (adenovírus, vírus chrípky typu A, B, vírus parainfluenzy, RSV, SARS-CoV-2 a iné) a baktérie (*Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, bakteriálne superinfekcie napr. *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*). V prípade chronickej obštrukčnej choroby pľúc bývajú „spúšťačom“ pneumónie vírusy, na ktoré následne nasadá bakteriálna infekcia (napr. *Streptococcus pneumoniae*, neopuzdrené kmene *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae*)⁽²⁾.

V diagnostike okrem anamnézy a klinického obrazu je kľúčové mikrobiologické vyšetrenie (kultivácia a PCR vyšetrenie z materiálov, ako je nazofaryngeálny výter, spútum, aspirát z dolných dýchacích ciest, bronchoalveolárna laváž; event. sérologické vyšetrenie), vyšetrenie iných laboratórnych parametrov (krvný obraz, biochemické vyšetrenie, cytológia BAL) a zobrazovacie vyšetrenia (Rtg hrudníka, CT vyšetrenie).

Cieľom práce bolo poukázať na význam aj úskalia molekulárnej analýzy v diagnostike infekcií respiračného systému.

Súbor

V roku 2022 (v období 12 mesiacov) bolo paralelne vyšetrených pomocou FILMARRAY® Pneumonia plus Panel PCR a kultivačne 148 vzoriek odobratých z dolných dýchacích ciest u 148 pacientov (1 pacient = 1 vzorka). Vyšetrené materiály boli bronchoalveolárna laváž, odsatý sekret z dýchacích ciest alebo spútum. Bola porovnávaná metóda PCR pomocou BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel s paralelne realizovaným bakteriálnym kultivačným

Tabuľka 1. Detekcia mikroorganizmov / génov rezistencie voči antimikrobiálnym látkam vo FilmArray Pneumonia Panel plus

Baktérie (semikvantitatívne)
• <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex
• <i>Enterobacter cloacae</i> complex
• <i>Escherichia coli</i>
• <i>Haemophilus influenzae</i>
• <i>Klebsiella aerogenes</i>
• <i>Klebsiella oxytoca</i>
• <i>Klebsiella pneumoniae</i> group
• <i>Moraxella catarrhalis</i>
• <i>Proteus</i> spp.
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
• <i>Serratia marcescens</i>
• <i>Staphylococcus aureus</i>
• <i>Streptococcus agalactiae</i>
• <i>Streptococcus pneumoniae</i>
• <i>Streptococcus pyogenes</i>
Atypické baktérie (kvalitatívne)
• <i>Chlamydia pneumoniae</i>
• <i>Legionella pneumophila</i>
• <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Vírusy
• Adenovírus
• Koronavírus (229E, HKU1, NL63, OC43)
• Middle East respiratory syndrom Coronavirus MERS-CoV
• Ľudský metapneumovírus
• Ľudský rinovírus/enterovírus
• Influenza A vírus
• Influenza B vírus
• Parainfluenza vírus
• Respiračný syncytiálny vírus
Gény rezistencie voči antimikrobiálnym látkam
Karbapenemázy:
• IMP
• KPC
• NDM
• OXA-48-like
• VIM
ESBL:
• CTX-M
Rezistencia voči meticilínu:
• <i>mecA/C</i> and MREJ (MRSA)

vyšetrením. Ako negatívne boli hodnotené nielen výsledky bez nálezu baktérií, ale aj detekcia bežnej ústnej mikrobiálnej flóry (pravdepodobne kontaminácia mikroflórou z horných dýchacích ciest pri odbere materiálu z dolných dýchacích ciest).

Metóda

BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel je kvalitatívna/semikvantitatívna multiplex PCR, ktorá umožňuje detekciu nukleových kyselín viacerých respiračných vírusov a baktérií a vybraných génov rezistencie proti antimikrobiálnym látkam. Analyzovaný materiál zahŕňa spúta (indukované alebo vykašľané, resp. endotracheálny aspirát) a bronchoalveolárnu laváž. Súprava FILMARRAY® Pneumonia plus Panel je uzavretý jednorazový systém, ktorý obsahuje všet-

ky činidlá potrebné na prípravu vzorky, reverznú transkripciu, polymerázovú reťazovú reakciu (PCR) a detekciu s cieľom izolovať, amplifikovať a detegovať nukleovú kyselinu z viacerých patogénnych mikroorganizmov. Počas spracovania systém BIOFIRE® FILMARRAY® extrahuje a purifikuje všetky nukleové kyseliny zo vzorky pomocou technológie magnetických guľôčok, vykoná „nested“ multiplexnú PCR a pomocou údajov krivky teploty topenia deteguje a generuje výsledok pre každý cieľ na platničke FILMARRAY® Pneumonia plus Panel⁽³⁾.

Spektrum vyšetovaných patogénnych mikroorganizmov v BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel je zhrnuté v **tabuľke 1**.

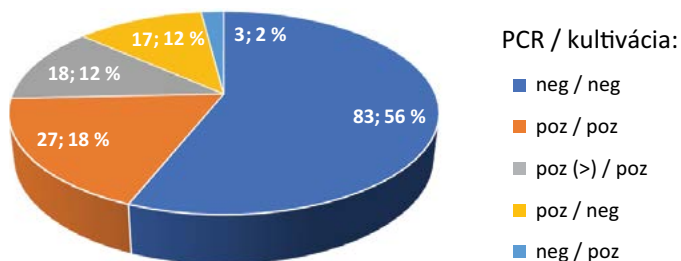
Kultivačné vyšetrenie sa realizovalo na kultivačných médiách, ako je krvný agar, McConkeyov agar, čokoládový agar s bacitracínom a Chromagar (príp. Sabouraudov agar; mykologický nález nebol hodnotený).

Výsledky

V období 12 mesiacov v roku 2022 bolo paralelne vyšetrených 148 vzoriek z dolných dýchacích ciest (od 148 pacientov) pomocou syndrómového multiplex panelu PCR (BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel) a kultivačne. Celkovo bola pozorovaná úplná zhoda (v zmysle negatívnych, resp. pozitívnych výsledkov) v 110 prípadoch, čo predstavuje 74 % (83 vzoriek (56 %) bolo zhodne negatívnych a v 27 (18 %) vzorkách bolo detegované rovnaké bakteriálne agens). V 35 prípadoch (24 %) bola citlivejšia metóda PCR (v 18 vzorkách (12 %) bolo metódou PCR detegovaných viac druhov mikroorganizmov ako pri kultivácii a v 17 prípadoch (12 %) bol výsledok kultivácie negatívny). U 3 vzoriek (2 %) bol pozorovaný pozitívny kultivačný nález (spolu 7 izolátov) napriek negatívnejmu výsledku PCR (**graf 1**).

Z pozorovaného spektra baktérií (**tabuľke 1** – Baktérie semikvantitatívne) boli najčastejšie zastúpené *Pseudomonas aeruginosa* (22), *Staphylococcus aureus* (19), *Klebsiella pneumoniae* group (15), *Streptococcus pneumoniae* (14) a *Haemophilus influenzae* (11). Z ďalších bakteriálnych druhov boli prítomné *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex, *Enterobacter cloacae* complex, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus agalactiae*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella aerogenes*. V **grafe 2** je zobrazený počet detekcií jednotlivých sledovaných baktérií pomocou PCR vs. kultivačným vyšetrením. Metódou PCR sme v 1 prípade detegovali DNA *Legionella pneumophila* (nehodnotené), ktorá sa

Graf 1. Porovnanie detekcie vybraných druhov baktérií metódou FILMARRAY® Pneumonia plus Panel (PCR) vs. bakteriologickým kultivačným vyšetrením



Tabuľka 2. Zoznam mikroorganizmov, detegovaných buď v PCR paneli alebo kultivačne, ktoré nebolo možné porovnať

A) Detekcia ostatných mikroorganizmov v PCR paneli	Počet
Legionella pneumophila	1
Rhinovirus/Enterovirus	19
Parainfluenza vírus	7
RSV	4
Adenovirus	3
Influenza A	3
Coronavirus	2
B) Izolácia baktérií neprítomných v PCR paneli	Počet
Stenotrophomonas maltophilia	5
Enterococcus faecium	2
Enterococcus faecalis	1

Tabuľka 3. Zoznam detegovaných mikroorganizmov u pacientov s kombinovanou infekciou

Pac. č.	Vírus	Baktéria
1	Rhinovirus/Enterovirus	<i>M. catarrhalis</i> , <i>S. pneumoniae</i>
2	Rhinovirus/Enterovirus	<i>M. catarrhalis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>
3	Rhinovirus/Enterovirus	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i>
4	Rhinovirus/Enterovirus	<i>M. catarrhalis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>
5	Rhinovirus/Enterovirus	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i>
6	Rhinovirus/Enterovirus	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>
7	Rhinovirus/Enterovirus	<i>P. aeruginosa</i> , <i>K. aerogenes</i>
8	Rhinovirus/Enterovirus + Parainfluenza	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>
9	Rhinovirus/Enterovirus + Parainfluenza	<i>M. catarrhalis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>
10	Rhinovirus/Enterovirus + RSV	<i>K. oxytoca</i>
11	Rhinovirus/Enterovirus + RSV + Parainfluenza	<i>S. aureus</i> , <i>K. oxytoca</i>
12	Influenza A	<i>Acinetobacter spp.</i>
13	Influenza A	<i>M. catarrhalis</i>
14	Influenza A + Parainfluenza	<i>S. aureus</i> , <i>K. oxytoca</i>
15	Parainfluenza	<i>K. pneumoniae group</i> , <i>E. cloacae complex</i> , <i>S. marcescens</i>
16	Coronavirus	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter spp.</i>

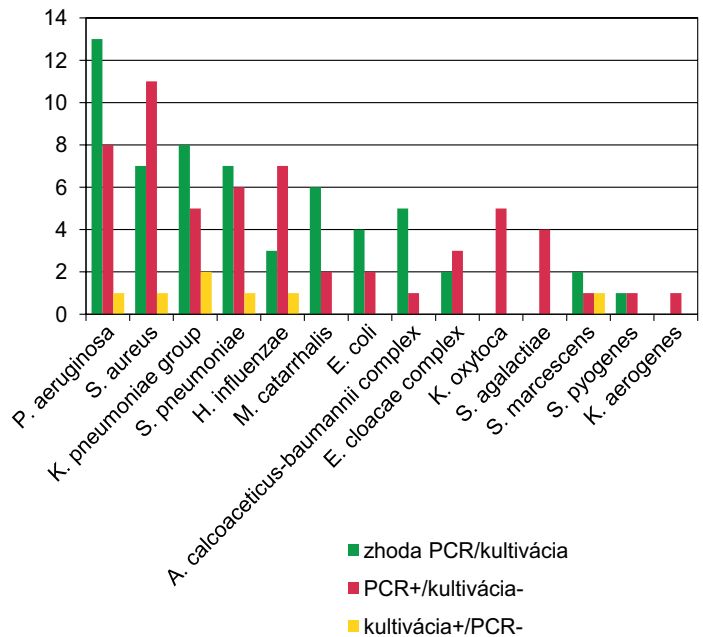
v našom laboratóriu bakteriologickou kultiváciou nevyšetruje. Naproti tomu boli vykultivované aj niektoré baktérie, ktoré nie sú zahrnuté v PCR paneli (**tabuľka 2**).

V 30 vzorkách (20 %) bol v PCR paneli zistený pozitívny nález vírusov spolu 38 vírusových agens (**tabuľka 2** – časť A), z toho v 16 prípadoch išlo o kombinovanú (vírusovú a bakteriálnu) infekciu (**tabuľka 3**). Najčastejšie bol vo vzorkách prítomný rinovírus/enterovírus v počte 19 prípadov. Z ďalších to boli vírus parainfluenzy (7 prípadov), RSV (4 prípady), adenovírus (3 prípady), vírus chrípky typu A (3 prípady) a koronavírus (zo skupiny 229E, HKU1, NL63, OC43) (2 prípady).

Záver a diskusia

BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia plus Panel poskytuje možnosť detegovať nukleovú kyselinu 16 významných patogénnych bakteriálnych mikroorganizmov/komplexov (vráta

Graf 2. Porovnanie počtu pozitívnych detekcií metódou PCR vs. bakteriologickou kultiváciou u vybraných mikroorganizmov



ne 7 génov antimikrobiálnej rezistencie), 2 atypických baktérií a 9 vírusov. Jednou z najväčších výhod metódy je rýchlosť a jednoduché spracovanie vzorky (príprava vzorky trvá asi 2 min a celý proces je ukončený do 80 min).

Význam multiplex PCR panelu spočíva v rýchlom odlíšení bakteriálnej infekcie/koinfekcie pri ochoreniach dolných dýchacích ciest (a vyhnutie sa nevhodnej preskripcii antibiotík) od vírusovej etiológie^(4,5). Vyšetrenie bronchoalveolárnej laváže PCR metódou u pacientov s pneumóniou a rizikom gramnegatívnej infekcie skracuje dĺžku neadekvátnej antibiotickej terapie o 45 %⁽⁶⁾. Vzhľadom na vyššie ekonomické náklady je určený najmä pre pacientov z anestéziologicko-resuscitačných oddelení, JIS, oddelení patologických novorodencov, koronárnych jednotiek a ďalších.

Pri manažmente pacientov je potrebné brať do úvahy i predchádzajúce kultivačné nálezy a podanú antibiotickú liečbu. Metóda PCR má vysokú citlivosť a schopnosť zachytiť veľmi malé množstvo nukleovej kyseliny, tzn. aj z nevitálnych a rozpadnutých zvyškov baktérií. Táto skutočnosť by mohla byť jednou z príčin pozitívnych PCR výsledkov pri negatívnej kultivácii, resp. detekcie viac druhov infekčných agens oproti kultivácii v 35 vzorkách (24 %). Opačný prípad nastal v našom súbore v troch prípadoch (pozitívna kultivácia vs. negatívna PCR) (**graf 2**). Možným vysvetlením by mohla byť predanalytická fáza – odberová technika, napr. iná porcia materiálu pri odbere BAL, či rozdeľovanie materiálu do viacerých skúmaviek bez dostatočného premiešania vzorky. Pri detekcii viacerých druhov mikroorganizmov je tiež potrebné brať do úvahy odberovú techniku, napr. odber spúta, nesprávnu techniku odsávania sekrétu a horšiu spoluprácu pacienta napr. u detí.

Nevýhodami syndrómového PCR panelu sú okrem vyššej ceny vyšetrenia i obmedzený počet vyšetřovaných baktérií (v tomto prípade detekcia 3 ďalších druhov baktérií kultivačnou metódou; **tabuľka 2B**). Rozhodujúce pre správnu indiká-

ciu ATB terapie je aj stanovenie fenotypovej citlivosti pri jednotlivých izolátoch pomocou kultivačného vyšetrenia.

Vzhľadom na vyššie uvedené skutočnosti má multiplex PCR panel využitie v diagnosticko-terapeutickom algoritme u kriticky chorých pacientov. Napriek vysokej citlivosti, rýchlejšej informácii o možnej etiológii ťažkostí pacienta, o vyšet-

rení génov rezistencie určitých baktérií by mal byť v každom prípade doplnený kultivačným vyšetrením. Dôležitá je i správna technika a správne načasovanie odberu, podľa možnosti pred podaním/zmenou antibiotickej liečby. Výsledky by mali byť interpretované s ohľadom na klinický stav pacienta a úspešnosť terapie.

LITERATÚRA

1. Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman M, et al. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. Praha: Triton. 2016; ISBN 978-80-7387-928-0, 255-259.
2. Hurych J, Štícha R, et al. *Lékařská mikrobiologie Repetitórium*, Praha: Triton, 2021; ISBN 978-80-7553-976-2, 513-522.
3. <https://www.biofire.com/products/the-filmarray-panels/filmarray-pneumonia/>
4. Foschi C, Zignoli A, Gaibani P, et al. Respiratory bacterial co-infections in intensive care unit-hospitalized COVID-19 patients: Conventional culture vs BioFire FilmArray pneumonia Plus panel. *J Microbiol Methods*. 2021 Jul; 186: 106259. doi: 10.1016/j.mimet.2021.106259. Epub 2021 May 29. PMID: 34062210; PMCID: PMC8164500.
5. Peiffer-Smadja N, Bouadma L, Mathy V, et al. Performance and impact of a multiplex PCR in ICU patients with ventilator-associated pneumonia or ventilated hospital-acquired pneumonia. *Crit Care*. 2020 Jun 19; 24(1): 366. doi: 10.1186/s13054-020-03067-2. PMID: 32560662; PMCID: PMC7303941.
6. Darie AM, Khanna N, Jahn K, et al. D. Fast multiplex bacterial PCR of bronchoalveolar lavage for antibiotic stewardship in hospitalised patients with pneumonia at risk of Gram-negative bacterial infection (Flagship II): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2022 Sep; 10(9): 877-887. doi: 10.1016/S2213-2600(22)00086-8. Epub 2022 May 23. PMID: 35617987.

MUDr. Oxana Šulíková

Klinická mikrobiológia, Medirex, a.s.
Galvaniho 17/C, 821 04 Bratislava
e-mail:oxana.sulikova@medirex.sk

Umelá inteligencia v onkológii

Martin Demeter, Milan Zatroch

MindIT, s.r.o., Banská Bystrica

Umelá inteligencia (UI) má potenciál transformovať onkológiu tým, že poskytuje nové pohľady na diagnostiku a liečbu rakoviny. Jednou z najvýznamnejších aplikácií UI v onkológii je diagnostický proces. Diagnostické nástroje podporované UI dokážu s vysokou presnosťou analyzovať výstupy zo zobrazovacích zariadení môžu efektívnejšie odhaliť nádorový rast v štádiu, v ktorom môže byť ťažko rozpoznateľný aj skúsenými špecialistami. UI môže tiež predpovedať reakciu na liečbu a prognózu na základe údajov špecifických pre pacienta a jeho chorou, vrátane genomiky nádoru. Tieto a iné použitia UI môžu viesť k personalizovanej liečbe pacientov a zlepšeniu výsledkov v boji proti tejto chorobe.

Napriek potenciálnym výhodám UI v onkológii treba prekonať výzvy spojené s nasadením UI systémov do klinickej praxe. Pozornosť si vyžadujú najmä problémy týkajúce sa kvality údajov, súkromia a súladu s predpismi. Je tiež potrebná lepšia integrácia technológií podporovaných UI do existujúcich klinických pracovných postupov. Napriek tomu má používanie UI v onkológii potenciál výrazne zlepšiť diagnostiku a liečbu rakoviny, čo v konečnom dôsledku povedie k lepším výsledkom u pacientov. Ďalší vývoj a pokroky v UI nám umožnia naďalej posúvať hranice toho, čo je v oblasti onkológie možné.

Kľúčové slová: umelá inteligencia, strojové učenie, onkológia, biomarkery

Artificial Intelligence in Oncology

Artificial intelligence (AI) can transform oncology by providing new cancer diagnosis and treatment perspectives. One of the most significant applications of AI in oncology is the diagnostic process. AI-supported diagnostic tools can accurately analyze outputs from imaging devices, effectively detecting tumour growth at stages that may be difficult to recognize even by experienced specialists. AI can also predict treatment response and prognosis based on patient-specific data, including tumour genomics. These and other uses of AI can lead to personalized patient care and improved outcomes in the fight against this disease.

Despite the potential benefits of AI in oncology, there are challenges to overcome in implementing AI systems into clinical practice. Issues related to data quality, privacy, and regulatory compliance require attention. Better integration of AI-supported technologies into existing clinical workflows is also needed. Nevertheless, the use of AI in oncology has the potential to significantly enhance cancer diagnosis and treatment, ultimately leading to better patient outcomes. Further advancements and progress in AI will continue to push the boundaries of what is possible in oncology.

Keywords: Artificial intelligence, Machine learning, Oncology, Biomarkers

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 114-119

Úvod

Využitie umelej inteligencie (UI) v oblasti onkológie má potenciál spôsobiť revolúciu v diagnostike, liečbe a výskume rakoviny. Schopnosť algoritmov UI analyzovať veľké množstvo údajov z rôznych zdrojov, ako je genomika, proteomika, či údaje zo zobrazovacích zariadení, môže pomôcť pri identifikácii nových terapeutických cieľov, liečebných postupov a biomarkerov, ktoré môžu zlepšiť výsledky liečby pacientov. Integrácia UI v liečbe rakoviny však prináša súbor nových výziev a obmedzení. V tomto článku sa snažíme poskytnúť prehľad o súčasnom význame UI v diagnostike, liečbe a vo výskume rakoviny. Opíšeme aj výzvy a obmedzenia, ktoré treba riešiť pre úspešnú implementáciu UI do klinickej praxe.

Stručný prehľad rakoviny ako choroby

Rakovina je ochorenie charakterizované nekontrolovaným rastom a šírením abnormálnych buniek v tele. Je jednou z hlavných príčin úmrtí na celom svete⁽¹⁾.

Vývoj rakoviny je viacstupňový proces. Nádorová transformácia súvisí s vplyvom vrodených a environmentálnych faktorov. Vrodené genetické mutácie v určitých génoch zvyšujú riziko vzniku určitých typov nádorov⁽³⁾, kým environmentálne faktory zahŕňajú vystavenie organizmu mutagénom fyzikálneho, chemického alebo biologického pôvodu. Úlohu zohrávajú aj faktory životného štýlu, ako je fajčenie a nevhodná strava⁽²⁾. Nádorové bunky sa líšia od normálnych buniek niekoľkými charakteristikami. Zásadný je ich nadmerný, nekontrolovateľný a nezávislý rast a schopnosť odolávať prirodzeným regulačným procesom organizmu. Malígne nádory môžu invadovať a poškodiť okolité tkanivo⁽⁴⁾, môžu sa metastaticky šíriť aj do iných častí tela⁽⁵⁾.

Nádory sa v súčasnosti liečia najčastejšie kombináciou chirurgického zákroku, rádioterapie, chemoterapie a cielenej biologickej terapie. Výber liečby závisí od mnohých faktorov, hľadanie nových terapeutických postupov je základnou výzvou pre onkologický výskum súčasnosti⁽⁶⁾.

Nedávne pokroky vo výskume, vrátane technológií UI umožňujú onkologickú liečbu vo viac personalizovanej podobe precíznej medicíny^(7,8). Je to prístup k lekárskej liečbe, ktorý berie do úvahy genetiku, životný štýl a prostredie jednotlivca s cieľom čo najlepšie prispôbiť lekárske rozhodnutia, postupy a/alebo medikamenty danej osobe. Cieľom je zlepšiť zdravotné výsledky a znížiť riziko vedľajších účinkov.

Výskum rakoviny

Súčasný stav výskumu nádorových chorôb sa rýchlo vyvíja a je zameraný na vývoj nových a efektívnejších spôsobov liečby⁽⁹⁾. Niektoré z hlavných oblastí výskumu zahŕňajú:

- Pochopenie genetických a molekulárnych mechanizmov rakoviny, ktoré vedú k rozvoju a progresii nádorov. Tieto poznatky sa využívajú na vývoj nových liekov a terapeutických postupov, ktoré sa zameriavajú na špecifické molekuly a mechanizmy zapojené v nádorovej premene.
- Vývoj nových a efektívnejších spôsobov liečby so zameraním na ciele liečbu a vývoj nových liečebných postupov, ktoré sú účinnejšie a majú menej vedľajších účinkov ako súčasné spôsoby liečby. Zameriava sa aj na zlepšenie existujúcich liečebných postupov, aby boli presnejšie a menej toxické.
- Zlepšenie včasnej detekcie a diagnostiky, zahŕňajúce vývoj nových a presnejších metód na včasnú detekciu nádorov v štádiu, keď sú lepšie liečiteľné.
- Nádej predstavuje vývoj personalizovaných liečebných plánov pre onkologických pacientov na základe ich individuálnej genetiky, osobnej anamnézy a molekulárneho profilu ich nádorov. Očakáva sa, že tento prístup povedie k efektívnejšej liečbe s menším počtom vedľajších účinkov.
- Vývoj nových kombinovaných terapií, ktoré sa zameriavajú na viaceré dráhy a mechanizmy zapojených v nádorovom procese, s cieľom dosiahnuť účinnejšiu a trvalejšiu odpoveď.
- Vývoj stratégií prevencie a kontroly rakoviny, vrátane identifikácie a riešenia rizikových faktorov rakoviny, ako je fajčenie, strava a vystavenie určitým chemikáliám a toxínom.
- Umelá inteligencia a strojové učenie vo výskume rakoviny s vývojom modelov založených na UI na analýzu veľkého množstva údajov z výskumu, s cieľom identifikovať nové ciele liečby a zlepšiť presnosť diagnostiky.

Umelá inteligencia

Umelá inteligencia je odvetvie počítačovej vedy. Zahŕňa matematické metódy, ktoré umožňujú rozhodovanie alebo konanie, racionálne a autonómne uvažovanie a efektívne prispôbenie sa zložitým a nevidaným situáciám.

Strojové učenie (ML) je súčasťou umelej inteligencie a hlboké učenie (DL) je súčasťou strojového učenia. Algoritmy strojového učenia vytvárajú matematické modely, ktoré sa učia a prispôbujú na základe skúseností bez toho, aby boli pravidlá rozhodovania ručne naprogramované. Modely umelej inteligencie sú užitočné v tých typoch problémov, kde pravidlá rozhodovania sú príliš komplexné na naprogramovanie. V niektorých typoch úloh, ako je napr. počítačové videnie, je takmer nemožné naprogramovať dostatočné množstvo všeobecných pravidiel na to, aby algoritmus dokázal dostatočne presne rozpoznať zložité a nepravidelné objekty. Modely si

namiesto toho pravidiel vytvoria samé, len na základe tréningových údajov. V mnohých typoch úloh je omnoho efektívnejšie pripraviť tréningové údaje, ako programovať pravidlá, ktoré si často vyžadujú veľkú expertnú znalosť v danej doméne.

Inteligencia modelov vyplýva z množiny parametrov, ktoré spolu vytvárajú pravidlá, na základe ktorých sa model rozhoduje. V závislosti od použitého modelu, napr. v prípade lineárnej logistiky, môže ísť o jednotky parametrov, ale v prípade hlbokých neuronových sietí, môže ísť aj o milióny parametrov.

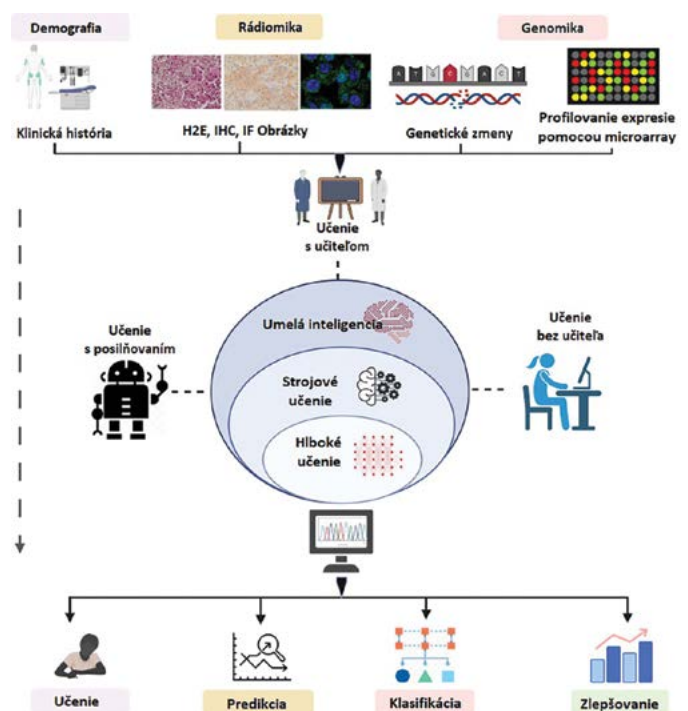
Proces, pri ktorom si modely prispôbujú svoje parametre, sa nazýva tréningovanie. Tréningovanie spočíva v minimalizovaní rozdielu (tzv. tréningovej chyby) medzi výstupom modelu a požadovaným výstupom vo vzorových dátach, tiež známych ako tréningové dáta.

V závislosti od problému, ktorý model napomáhať riešiť, rozdeľujeme algoritmy strojového učenia na 4 základné typy: učenie s učiteľom, učenie bez učiteľa, učenie s čiastočným učiteľom, učenie s posilňovaním.

Učenie s učiteľom

Algoritmy založené na učení s učiteľom (angl. Supervised learning) sa používajú predovšetkým v prediktívnych úlohách. Typické úlohy, ktoré tu patria, sú klasifikácia (napr. klasifikácia tumorov), objektová detekcia (hľadanie tumoru v CT snímkach) alebo regresia (napr. predikcia rizika úmrtnosti/pravdepodobnosti návratu rakoviny).

V týchto úlohách človek trénuje alebo učí algoritmus, čo má hľadať. Ide o učenie pomocou príkladov – človek dá algoritmu sadu tréningových údajov a algoritmus v nich hľadá vzory, pomocou ktorých sa rozhoduje. Tréningové údaje obsahujú vstupné údaje modelu, ako aj predpokladaný výstup (tzv. učiteľa), teda to, čo očakávame od modelu, aby predikoval. V prípade klasifikácie obrázkov ide o popis toho, čo sa na obrázku nachádza, v prípade objektovej detekcie aj presné súradnice objektov **na obrázku**.



V procese tréningovania, model prispôsobuje svoje parametre tak, aby rozdiel medzi jeho výstupom a predpokladaným výstupom, bol čo najmenší. Po správnom natréningovaní modelu, by mal model predpovedať výstup len na základe vstupných údajov. Pri tomto type úloh je však potrebné zabezpečiť, aby model dostatočne zovšeobecňoval úlohu, na ktorú bol navrhnutý, tzn., že by mal predikovať rozumné výsledky, aj na nových vstupných údajoch, ktoré sa v tréningových údajoch nenachádzali. V opačnom prípade, hovoríme o preučení modelu, čo sa typicky prejavuje vysokou presnosťou predikcie nad tréningovými údajmi, ale nízkou presnosťou nad novými, netréningovými údajmi. K najčastejšie používaným modelom patria: lineárna/logistická regresia, SVM, rozhodovacie stromy, boosting algoritmy a neurónové siete.

Učenie bez učiteľa

Algoritmy založené na učení bez učiteľa (angl. Unsupervised learning) sa používajú predovšetkým v deskriptívnych úlohách. Typické úlohy, ktoré sem patria, sú: klastrová analýza, redukcia dimenzionality, kompresia údajov, detekcia anomálií, generovanie dát.

V týchto úlohách sa nepožaduje, aby algoritmus predikoval konkrétnu hodnotu, ktorú človek požaduje. Namiesto toho sa model učí hľadať vzory v zložitých dátach, alebo vracia inak reprezentované vstupné údaje, ktoré v sebe nesú ďalšiu užitočnú informáciu, ktorú by inak človek prehliadol. Napríklad v klastrovej analýze model zoskupuje množinu objektov (ktoré môžu mať aj tisíce atribútov) takým spôsobom, že objekty v tej istej skupine (nazývanej zhuk) sú si navzájom podobnejšie ako s objektami v ostatných skupinách.

Učenie s čiastočným učiteľom

Algoritmy založené na tomto princípe (angl. Semi-Supervised learning) kombinujú učenie s učiteľom aj učenie bez učiteľa.

Anotácia a príprava tréningových dát je spravidla časovo najnáročnejšia úloha pri vývoji modelov. V prípade, ak je k dispozícii veľa tréningových údajov, ale len malá časť z nich je anotovaná, možno postupovať pri vývoji modelu iteratívne, a to tak, že sa prvý model natrénuje len na malej, anotovanej vzorke. Následne sa model využíva na pred-anotovanie ostatných dát. Pred-anotované dáta sú však človekom skontrolované, opravené, analyzované a následne použité na rozšírenie tréningovej vzorky. Väčšia tréningová vzorka je využitá na natréningovanie novšieho modelu.

Takýmto spôsobom možno urýchliť proces anotácie a aj zvýšiť presnosť modelu. Vďaka analýze predikcií pri každej iterácii sa totiž získavajú užitočné informácie, ktoré napomáhajú k pochopeniu toho, ako model funguje. Pri analýze možno zistiť, pri akých vstupoch robí model chyby, čo môžeme využiť v ďalšej iterácii na zlepšenie predspracovania dát, výberu dôležitejších tréningových údajov, vylepšenie modelu a iných techník, ktoré vedú k natréningovanie ešte lepšieho modelu.

Učenie s posilňovaním

Algoritmy založené na učení s posilňovaním (angl. Reinforcement learning) sa využívajú predovšetkým v robotike, optimalizovaním procesov, hernom priemysle.

Algoritmy založené na tomto princípe, sa neučia na základe tréningových príkladov, ktoré pripravil človek (ako v uče-

ní s učiteľom), ale na základe skúseností, ktoré získava tzv. agent v prostredí, v ktorom sa nachádza. Pod agentom je možné si predstaviť robota, alebo postavu v hre. Učenie spočíva v spočiatku náhodnom konaní agenta v prostredí, pričom za vykonanie istých akcií získava spätnú väzbu v podobe odmeny. Táto spätná väzba slúži na posilnenie tých akcií, ktoré viedli k jej získaniu.

UI ako nástroj na zlepšenie liečby a výskumu rakoviny

Umelá inteligencia má potenciál výrazne zlepšiť liečbu a výskum rakoviny. UI sa môže použiť na analýzu veľkého množstva údajov z výskumu rakoviny, ako sú genetické dáta a obrazové údaje z medicínskych zariadení, na identifikáciu nových cieľov liečby a zlepšenie presnosti diagnózy.

Jedným z príkladov toho, ako sa UI používa vo výskume rakoviny, je vývoj počítačom podporovaných diagnostických systémov. Tieto systémy využívajú algoritmy strojového učenia na analýzu lekárskeho obrazov, ako sú CT a MRI skeny, na identifikáciu a klasifikáciu nádorov. Štúdie ukázali, že tieto systémy môžu zlepšiť presnosť diagnostiky rakoviny a znížiť potrebu invazívnych postupov^(9,10).

UI sa tiež používa na analýzu veľkého množstva genetických údajov. Algoritmy UI možno trénovať na identifikáciu špecifických mutácií, ktoré sú spojené s rôznymi typmi rakoviny⁽¹¹⁾. Tiež možno použiť modely hlbokého učenia na klasifikáciu typov rakoviny z genetického profilu pacientov⁽¹²⁾.

Ďalšou aplikáciou UI pri výskume rakoviny je objavovanie nových liekov. Modely UI sa používajú na analýzu chemických vlastností liekov a ich potenciálnych interakciách s rakovinovými bunkami⁽¹¹⁾. Výstupy z týchto modelov môžu pomôcť identifikovať nové zlúčeniny, ktoré môžu byť účinné proti rakovine alebo znížiť riziko nepriaznivých účinkov liekov.

Použitie UI pri diagnostike rakoviny

Umelá inteligencia sa čoraz viac využíva v oblasti diagnostiky rakoviny ako nástroj na zlepšenie presnosti a účinnosti procesu. UI sa môže tiež použiť na analýzu genetických údajov a na predpovedanie, ktorí pacienti budú reagovať na určité liečebné postupy. Umelá inteligencia sa môže použiť aj na vývoj počítačom podporovaných diagnostických systémov, ktoré môžu zlepšiť presnosť diagnostiky rakoviny a znížiť potrebu invazívnych postupov.

UI sa môže použiť na analýzu veľkého množstva údajov, ako sú genomické, proteomické a zobrazovacie údaje, na identifikáciu nových, ale aj známych biomarkerov, ktoré môžu naznačovať prítomnosť nádoru. To môže pomôcť pri vývoji nových diagnostických testov a zlepšiť presnosť diagnostiky rakoviny.

UI možno použiť na vytvorenie prediktívnych modelov, ktoré dokážu predpovedať pravdepodobnosť určitých typov nádorov.

Zobrazovacie prístroje

Algoritmy UI možno použiť na analýzu výstupov z lekárskeho zobrazovacích zariadení, ako sú CT, MRI, röntgeny alebo USG. Algoritmy dokážu analyzovať obrazovú informáciu a nájsť v nej rôzne vzory, ktoré môžu napomôcť v lepšej diagnostike.

Jeden z príkladov, kde sa UI používa, je analýza výstupov z mamografie pri diagnostike nádorov prsníka. Výskumníci vytvorili UI algoritmus, ktorý predpovedá riziko rakoviny prsníka analýzou mamografických snímok. Ukazuje sa, že algoritmus je presnejší ako niektoré existujúce metódy na predpovedanie rizika rakoviny prsníka⁽¹³⁾.

V prípade rakoviny pľúc bolo vyvinutých niekoľko modelov umelej inteligencie s hlbokým učením, ktoré pomáhajú lekárom nájsť rakovinu pľúc na CT vyšetreniach⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. Výskum naznačuje, že UI môže lepšie odlíšiť nádorové zmeny pľúc od nenádorových, čo môže potenciálne znížiť počet falošne pozitívnych výsledkov a ušetriť niektorých pacientov od zbytočného stresu a ďalších vyšetrení⁽¹⁸⁾.

Používanie nástrojov UI na detekciu nádorov z medicínskych obrazov je stále v počiatočnom štádiu, pričom existuje mnoho nevyriešených otázok spojených s jeho nasadením do praxe. Hoci mnohé algoritmy boli úspešne testované, väčšina z nich zatiaľ neprešla externým validačným testovaním, čo je dôležité na zabezpečenie ich presnosti na rôznych skupinách pacientov a v rôznych lekárskejších inštitúciách. Klinické štúdie musia tiež ukázať, že nástroje UI zlepšujú výsledky diagnostiky a liečby pacientov.

Biopsia/histológia/patológia

Biopsia je postup, pri ktorom sa z tela odoberie vzorka tkaniva a následne sa mikroskopicky vyšetrí patológom za účelom potvrdenia diagnózy a určenia typu, ako aj relevantných prognostických a terapeutických znakov.

Umelá inteligencia môže byť použitá v histológii na zlepšenie presnosti, rýchlosti a efektívnosti v rôznych úlohách.

Histologické obrazy možno analyzovať pomocou algoritmov UI na detekciu a klasifikáciu rôznych typov buniek, tkanív a štruktúr. To môže pomôcť patológom identifikovať abnormality a urobiť presnejšie diagnózy. UI môže tiež pomôcť s kvantifikáciou rôznych zmien v histologických prípravkoch.

Známe sú algoritmy založené na hlbokoj neurónovej sieti na kategorizáciu snímok. Natrénovaný model dokáže odfiltrovať 65–75 % obrazovej informácie, ktorá v sebe neobsahuje dôležitú informáciu na stanovenie diagnózy a upriamiť pozornosť patológa na relevantné časti. To v praxi môže ušetriť čas patológom⁽¹⁹⁾.

V štúdií Korbar a spol. porovnávali viacero architektúr modelov hlbokého učenia na klasifikáciu kolorektálnych polypov na Whole slide obrazov. Najlepší model hlbokého učenia dosiahol mieru presnosti 93 %. Hoci model nie je dostatočne presný na to, aby nahradil lekárov a patológov, môže byť užitočný na redukovanie manuálnej záťaži a zvýšenie efektivity diagnostického procesu⁽²⁰⁾.

Štúdia Bychkov a kol. mala za cieľ pomocou modelov hlbokého učenia trénovaných na obrazoch nádorového tkaniva získaných pomocou metódy tkanivových mikroarray (TMA) predikovať stratifikáciu pacientov s nízkym a vysokým rizikom kolorektálneho karcinómu (CRC). Výsledky ukázali, že predikcia založená na hlbokom učení (AUC 0,69) prekonal klasifikáciu troch nezávislých odborníkov na úrovni TMA spot (AUC 0,58), ako aj na úrovni celého prípravku (AUC 0,57). Ďalšie výskumy sú potrebné na zhodnotenie účinnosti tejto metódy na väčších vzorkách tkaniva a v rôznych skupinách pacientov⁽²¹⁾.

V medzinárodnej súťaži zameranej na detekciu metastatického karcinómu prsníka na Whole Slide obrazoch biopsií sentinelových lymfatických uzlín sa Wang a kol. stali víťazmi, pričom ich model založený na neurónových sieťach dosiahol presnosť 0,925 AUC pre úlohu klasifikácie Whole slide obrazov a 0,7051 AUC pre úlohu lokalizácie nádoru. Obrazy boli nezávisle posúdené patológom, pričom dosiahli 0,966 AUC pre klasifikáciu Whole slide obrazov a 0,733 AUC pre lokalizáciu nádoru. Kombináciou výstupu modelu s výstupmi patológa sa zvýšila presnosť AUC na 0,995, čo predstavuje približne 85-percentné zníženie ľudskej chybovosti. Aj tieto výsledky ukazujú význam použitia hlbokého učenia pri významnom zlepšení presnosti patologických diagnóz^(22,23).

Celkovo má UI potenciál spôsobiť revolúciu v histológii tým, že poskytne rýchlejšiu a presnejšiu diagnostiku, prognózu a kontrolu kvality.

Tekutá biopsia

Tekutá biopsia sa ukazuje ako sľubný neinvazívny prístup k diagnostike a monitorovaniu rakoviny. Ponúka jednoduchosť odberu vzoriek, nepretržité monitorovanie opakovaným odberom vzoriek, navrhovanie personalizovaných terapeutických režimov a skrining terapeutické rezistencie. Tekutá biopsia pozostáva z izolácie entít odvodených z nádoru, ako sú cirkulujúce nádorové bunky, cirkulujúca nádorová DNA, nádorové extracelulárne vezikuly a iné, ktoré sú prítomné v telesných tekutinách pacientov. Po odobratí vzorky nasleduje analýza genetických a proteomických markerov. Hoci vo všetkých prípadoch nemusí úplne nahradiť invazívne metódy, ako je tkanivová biopsia, tekutá biopsia má potenciál spôsobiť revolúciu v boji proti rakovine tým, že poskytuje komplexnejší a pre pacienta priateľský diagnostický prístup. Pred zavedením do praxe je však potrebné realizovať ďalšie výskumy, rozsiahle klinické štúdie, štandardizáciu protokolov a iné^(24,25,27).

Metódy analýzy tekutej biopsie sa za posledných niekoľko rokov rýchlo vyvinuli. Algoritmy strojového učenia môžu napomôcť v identifikácii nádorových zmien, čím sa otvára možnosť menej invazívneho a presnejšieho testovania.

Napríklad výskumníci z Johns Hopkins University School of Medicine vyvinuli CancerSEEK, ktorý dokáže odhaliť prípady ôsmich rôznych druhov nádorov, vrátane nádorov ovárií, pečene, žalúdka, pankreasu, pažeráka, hrubého čreva, pľúc a prsníka. V štúdií s 1 005 pacientmi bol test CancerSEEK schopný identifikovať nádorovú chorobu v krvi približne 70 % prípadov, čo patrí medzi doteraz najlepšie výsledky krvného testu. Falošne pozitívny nález bol zistený u menej ako 1 % zdravých probandov⁽²⁶⁾.

Genetické testovanie a poradenstvo

Genetické testovanie možno použiť na identifikáciu dedičných genetických mutácií, ktoré môžu zvýšiť riziko určitých typov nádorov. UI možno použiť na analýzu veľkého množstva genetických údajov, vrátane údajov zo sekvenovania celého genómu. Analýzou možno identifikovať vzorce a korelácie, ktoré môžu naznačovať prítomnosť nádoru, ale aj nájsť nové genetické biomarkery, ktoré možno použiť na diagnostiku a monitorovanie onkologickej choroby. UI sa môže použiť na identifikáciu potenciálnych cieľov pre liečbu rakoviny, čo umožňuje vytvorenie personalizovaných liečebných plá-

nov pre pacientov. Taktiež tvorbou prediktívnych modelov nad genetickými údajmi možno s určitou pravdepodobnosťou určiť riziko vzniku rakoviny a zvoliť vhodnú prevenciu ešte pred prepuknutím choroby^(28,29).

Výzvy a obmedzenia

Použitie umelej inteligencie (UI) pri liečbe, diagnostike a výskume onkologických chorôb má niekoľko výziev^(9,12,24,29):

- **Kvalita a dostupnosť údajov:** Algoritmy UI vyžadujú veľké množstvo vysokokvalitných údajov na tréning a testovanie modelov. Pri výskume nádorov môže byť ťažké získať údaje a tie, ktoré sú k dispozícii, môžu byť neúplné alebo nekonzistentné. To môže sťažiť tréning presných modelov a aj obmedziť použiteľnosť UI vo výskume.
- **Skreslenie údajov:** Modely umelej inteligencie sú len také dobré, ako dobré sú údaje, na ktorých sú tréningované. Ak údaje použité na tréning modelu obsahujú odchýlky, skreslenia, zaujatost, model bude negatívne ovplyvnený. To môže viesť k nepresným výsledkom a môže to sťažiť zovšeobecnenie modelu na nové populácie pacientov.
- **Nedostatočná interpretovateľnosť:** Niektoré modely UI, najmä modely hlbokého učenia, môžu byť ťažko interpretovateľné. To môže sťažiť pochopenie toho, ako model robí rozhodnutia a obmedziť schopnosť identifikovať a opraviť chyby v modeli.
- **Obmedzené chápanie biológie rakoviny:** Na vývoj účinných modelov UI na liečbu a výskum rakoviny treba pochopenie biológie nádorových zmien. Naše chápanie je však obmedzené, čo môže sťažiť vývoj presných modelov UI.
- **Právne a etické obavy:** Používanie UI v zdravotníctve vyvoláva množstvo právnych a etických problémov, ako sú súkromie údajov, autonómia pacienta a zodpovednosť za diagnostiku a liečbu choroby. Taktiež použitie UI pri liečbe a výskume si vyžaduje regulačné schválenie, čo môže byť zdĺhavý a nákladný proces.
- **Technické výzvy:** Vývoj modelov UI na liečbu a výskum rakoviny môže byť technicky náročný. Vyžaduje si to odborné znalosti v oblasti UI, ako aj medicíny. Okrem toho treba mať prístup k výkonným výpočtovým zdrojom a príslušným softvérovým nástrojom.
- **Nedostatočná štandardizácia:** V súčasnosti chýba štandardizácia vo vývoji a overovaní modelov UI na liečbu

a výskum nádorových chorôb. To môže sťažiť porovnanie výkonnosti rôznych modelov a môže obmedziť schopnosť replikovať výsledky.

- **Vysoké náklady a nedostatočná dostupnosť:** Vývoj a implementácia riešení založených na UI na liečbu a výskum rakoviny môže byť nákladný proces a nemusí byť dostupný pre všetkých pacientov. To môže obmedziť dostupnosť liečby a diagnostických nástrojov založených na UI pre pacientov v krajinách s nízkymi príjmami alebo pre tých, ktorí nemajú prístup k špecializovaným zdravotníckym zariadeniam.

Záver

Umelá inteligencia má potenciál zmeny v liečbe, diagnostike a výskume onkologických chorôb analýzou veľkého množstva údajov z rôznych zdrojov. UI môže pomôcť identifikovať nové terapeutické ciele, nové kombinácie liekov a nové biomarkery. Použitie UI pri liečbe, diagnostike a výskume však musí zložiť niekoľko výziev. Medzi takéto výzvy patrí obmedzená dostupnosť a kvalita údajov, skreslenie údajov, nedostatočná interpretovateľnosť výsledkov, obmedzené chápanie biológie nádorových zmien, právne a etické problémy, technické problémy, nedostatočné zovšeobecňovanie predikcii modelov, nedostatok štandardizácie, schválenia regulačnými orgánmi, a aj vysoké náklady. Napriek týmto výzvam sa dosiahol významný pokrok vo vývoji a implementácii riešení založených na UI. S pokračujúcim výskumom a vývojom je pravdepodobné, že UI bude v budúcnosti hrať čoraz dôležitejšiu úlohu v boji proti rakovine. Je však dôležité poznamenať, že UI by sa mala používať ako nástroj, ktorý pomáha ľudskému rozhodovaniu, a nie ju nahrádzať. Okrem toho je dôležité zabezpečiť, aby boli modely UI overené a testované a aby neboli zaujaté pre určité skupiny pacientov.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Centrum pre biomedicínsky výskum – BIOMEDIRES – II. etapa, kód ITMS: 313011W428, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

LITERATÚRA

1. National cancer institute - <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
2. National cancer institute - <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk>
3. National cancer institute - <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics>
4. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
5. National cancer institute - <https://www.cancer.gov/types/metastatic-cancer>
6. National cancer institute - <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>
7. National cancer institute - <https://www.cancer.gov/research/areas>
8. National cancer institute - <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/precision-medicine.html>

9. Farina E, Nabhen JJ, Dacoregio MI, Batalini F, Moraes FY. An overview of artificial intelligence in oncology. *Future Sci OA*. 2022; 8(4): FS0787. Published 2022 Feb 10. doi: 10.2144/fsoa-2021-0074.
10. Hu L, Bell D, Antani S, et al. An Observational Study of Deep Learning and Automated Evaluation of Cervical Images for Cancer Screening. *J Natl Cancer Inst*. 2019; 111(9): 923-932. doi: 10.1093/jnci/djy225
11. You, Y., Lai, X., Pan, Y. et al. Artificial intelligence in cancer target identification and drug discovery. *Sig Transduct Target Ther* 7, 156 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00994-0>
12. Dwivedi, A.K. Artificial neural network model for effective cancer classification using microarray gene expression data. *Neural Comput & Applic* 29, 1545–1554 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00521-016-2701-1>
13. Yala A, Mikhael PG, Strand F, et al. Toward robust mammography-based models for breast cancer risk. *Sci Transl Med*. 2021; 13(578): eaba4373. doi: 10.1126/scitranslmed.aba4373

14. Ardila D, Kiraly AP, Bharadwaj S, et al. End-to-end lung cancer screening with three-dimensional deep learning on low-dose chest computed tomography [published correction appears in *Nat Med*. 2019 Aug; 25(8): 1319]. *Nat Med*. 2019; 25(6): 954-961. doi: 10.1038/s41591-019-0447-x
15. Lakshmanaprabu, S. K., Mohanty, S. N., Shankar, K., Arunkumar, N., & Ramirez, G. (2019). Optimal deep learning model for classification of lung cancer on CT images. *Future Generation Computer Systems*, 92, 374-382.
16. Riquelme, D., & Akhloufi, M. A. (2020). Deep learning for lung cancer nodules detection and classification in CT scans. *Ai*, 1(1), 28-67.
17. Zhang S, Sun F, Wang N, et al. Computer-Aided Diagnosis (CAD) of Pulmonary Nodule of Thoracic CT Image Using Transfer Learning. *J Digit Imaging*. 2019; 32(6): 995-1007. doi: 10.1007/s10278-019-00204-4
18. El-Regaily, S. A., Salem, M. A. M., Aziz, M. H. A., & Roushdy, M. I. (2020). Multi-view Convolutional Neural Network for lung nodule false positive reduction. *Expert systems with applications*, 162, 113017.
19. Campanella G, Hanna MG, Geneslaw L, et al. Clinical-grade computational pathology using weakly supervised deep learning on whole slide images. *Nat Med*. 2019; 25(8): 1301-1309. doi: 10.1038/s41591-019-0508-1
20. Korbar B, Olofson AM, Miralflor AP, et al. Deep Learning for Classification of Colorectal Polyps on Whole-slide Images. *J Pathol Inform*. 2017; 8: 30. Published 2017 Jul 25. doi: 10.4103/jpi.jpi_34_17
21. Bychkov D, Linder N, Turkki R, et al. Deep learning based tissue analysis predicts outcome in colorectal cancer. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 3395. Published 2018 Feb 21. doi: 10.1038/s41598-018-21758-3
22. Wang, Dayong & Khosla, Aditya & Gargeya, Rishab & Irshad, Humayun & Beck, Andrew. (2016). Deep Learning for Identifying Metastatic Breast Cancer.
23. Litjens G, Bandi P, Ehteshami Bejnordi B, et al. 1399 H&E-stained sentinel lymph node sections of breast cancer patients: the CAMELYON dataset. *Gigascience*. 2018; 7(6): giy065. doi: 10.1093/gigascience/giy065
24. <https://directorsblog.nih.gov/2018/01/30/new-liquid-biopsy-shows-early-promise-in-detecting-cancer>
25. National Cancer Institute - Biomarker Testing for Cancer Treatment <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/biomarker-testing-cancer-treatment>
26. Joshua D. Cohen et al. ,Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science* 359, 926-930(2018). DOI: 10.1126/science.aar3247
27. Lone, S.N., Nisar, S., Masoodi, T. et al. Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol Cancer* 21, 79 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01543-7>
28. Dias, R., Torkamani, A. Artificial intelligence in clinical and genomic diagnostics. *Genome Med* 11, 70 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0689-8>
29. Xu, J., Yang, P., Xue, S. et al. Translating cancer genomics into precision medicine with artificial intelligence: applications, challenges and future perspectives. *Hum Genet* 138, 109–124 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00439-019-01970-5>

Mgr. Martin Demeter, RNDr. Milan Zatroch, CSc.

MindIT, s.r.o.

Sládkovičova 23, 974 01 Banská Bystrica

e-mail: martin.demeter@alanata.sk

Hastisetý ako potenciálne alergény

Jakub Steinhübel¹, Vojtech Boldiš¹, František Ondriska^{1,2}, Marcela Bastlová¹, Radka Reháková¹

¹Medirex, a. s., Úsek parazitológie, Bratislava

²Trnavská univerzita. Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Trnava

Kožiarovité (Dermestidae) sú kozmopolitne rozšírená skupina chrobákov zahŕňajúca množstvo druhov. Svojím spôsobom života sa dostávajú do úzkeho kontaktu s človekom a môžu spôsobovať zdravotné komplikácie. Niekoľko druhov z rodu *Anthrenus* možno nájsť takmer v každej domácnosti. Zdravotné komplikácie nevyvolávajú priamo imága chrobákov, ale ich larvy, ktoré majú na svojom povrchu veľké množstvo chĺpkov. Uvoľnené larválne chĺpky pri kontakte s pokožkou alebo s mukóznymi membránami môžu u citlivých osôb vyvolať alergickú reakciu manifestujúcu sa dermatitídou alebo rinitídou. Jedným z takýchto typov sú hastisetý, ktoré sú charakteristické pre kožiarovité chrobáky podčeláde *Megatominae* (Coleoptera: Dermestidae: *Megatominae*).

Kľúčové slová: hastisetý, kožiarovité, Dermestidae, *Anthrenus*, dermatitída

Hastisetæ as potential allergens

Skin beetles are a cosmopolitan group of beetles comprising many species. Due to their way of life, they come into close contact with humans and can cause health complications. Several species from the genus *Anthrenus* can be found in almost every household. Health complications are not caused directly by adult beetles but by their larvae, which have many hairs on their surface. Loose larval hairs in contact with the skin or mucous membranes can cause an allergic reaction manifested by dermatitis or rhinitis in sensitive persons. One such type is hastisetæ, characteristic of the subfamily *Megatominae* skin beetles (Coleoptera: Dermestidae: *Megatominae*).

Keywords: hastisetæ, skin beetles, Dermestidae, *Anthrenus*, dermatitis

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 120-123

Úvod

Telo lariev kožiarovitých je pokryté množstvom chĺpkov, ktoré majú zmyslovú alebo obrannú funkciu. Jedným z obranných typov chĺpkov sú hastisetý (**obrázok 1**). Sú to modifikované kutikulárne útvary, ktoré tvarom pripomínajú kopije, od čoho je odvodené aj ich pomenovanie – *hasta* je latinský výraz pre kopiju. Nachádzajú sa na povrchu tela lariev chrobákov podčeláde *Megatominae* (Coleoptera: Dermestidae: *Megatominae*), kam patria aj bežne vyskytujúce sa druhy obývajúce ľudské domácnosti. Ich medicínsky význam spočíva v kontaminácii prostredia uvoľnenými hastisetami, ktoré sa stávajú stálou súčasťou prachovej zložky a pri styku s pokožkou, inhaláciou alebo ingesciou, môžu u citlivých osôb vyvolať alergické reakcie. Z chrobákov patriacich do podčeláde *Megatominae* sa v domácnostiach bežne vyskytuje hneď niekoľko druhov: *Anthrenus flavipes* (LeConte, 1854), *Anthrenus museorum* (Linnaeus, 1761), *Anthrenus scrophulariae* (Linnaeus, 1758) a *Anthrenus verbasci* Fabricius, 1775. Imága chrobákov sú oválneho tvaru a veľkosti 4 – 5 mm. Telo je pokryté bielymi, hnedými a čiernymi šupinkami (**obrázok 2**). Živia sa peľom a nektárom rôznych druhov rastlín. Pre človeka nepredstavujú hrozbu. Zato larválne štádiá sa živia organickým materiálom, ako je chitín, keratín a pod. Často napádajú zbierky hmyzu a vypchaté exponáty zvierat v múzeách. V domácnostiach ich nájdeme na kožušinách a kožených predmetoch (od čoho je odvodený aj celý názov skupiny: kožiarovité – Dermestidae), vlnenej textílii, kobercoch a v rôznom

drobnom organickom detrite tvorenom kúskami kože, srsťou, vlasmi, poprípade perím a uhynutým hmyzom. Príležitostne napádajú aj niektoré druhy potravín prevažne živočíšneho pôvodu.

Obrázok 1. Dospelá larva chrobáka rodu *Anthrenus* s vejárovito rozťahnutými hastisetami a exuvia predošlého larválneho instaru (vpravo). Uhynutý hmyz slúžil larve ako potrava (foto J. Steinhübel).



Obrázok 2. Liahnuce sa imágo chrobáka rodu *Anthrenus*. Kukla chrobáka ostáva v poslednom larválnom instare, čo všeobecne pri hmyze nie je bežný jav a svedčí o významnosti obranného mechanizmu hastiset proti predátorom počas celého vývinu (foto J. Steinhübel).



Morfológia a funkcia hastiset

Na tele lariev sa nachádzajú dva typy chĺpkov. Hrubšie spicisety a jemné kopijovité hastisety. Hastisety sú zastúpené najpočetnejšie, vychádzajú z dorzálnej strany tergítov, pričom najväčšia koncentrácia je na 5., 6. a 7. článku. Tvar a veľkosť hastiset varíruje podľa druhu larvy, z ktorej pochádzajú, instaru a umiestnenia na jej povrchu. Tieto morfológické rozdiely sa dajú využiť aj ako taxonomický znak pri determinácii jednotlivých druhov. Veľkosťou sa pohybujú od 150 do 900 μm a voľným okom sú neviditeľné⁽¹⁾. V pokoji sú hastisety uložené pozdĺž tela, v prípade nebezpečenstva alebo v období prechodu larvy do vyššieho vývinového štádia ich larva vejárovito roztiahne. Hastisety sú produktom trichogénnej bunky ležiacej v alveole kutikuly. Zložené sú z dlhého filifor-

Obrázok 3. Detail kopijovitých hastiset ukotvených na povrchu tergítov larvy. Hrubšie chĺpky sú spicisety, zväčšenie 100x (foto J. Steinhübel).



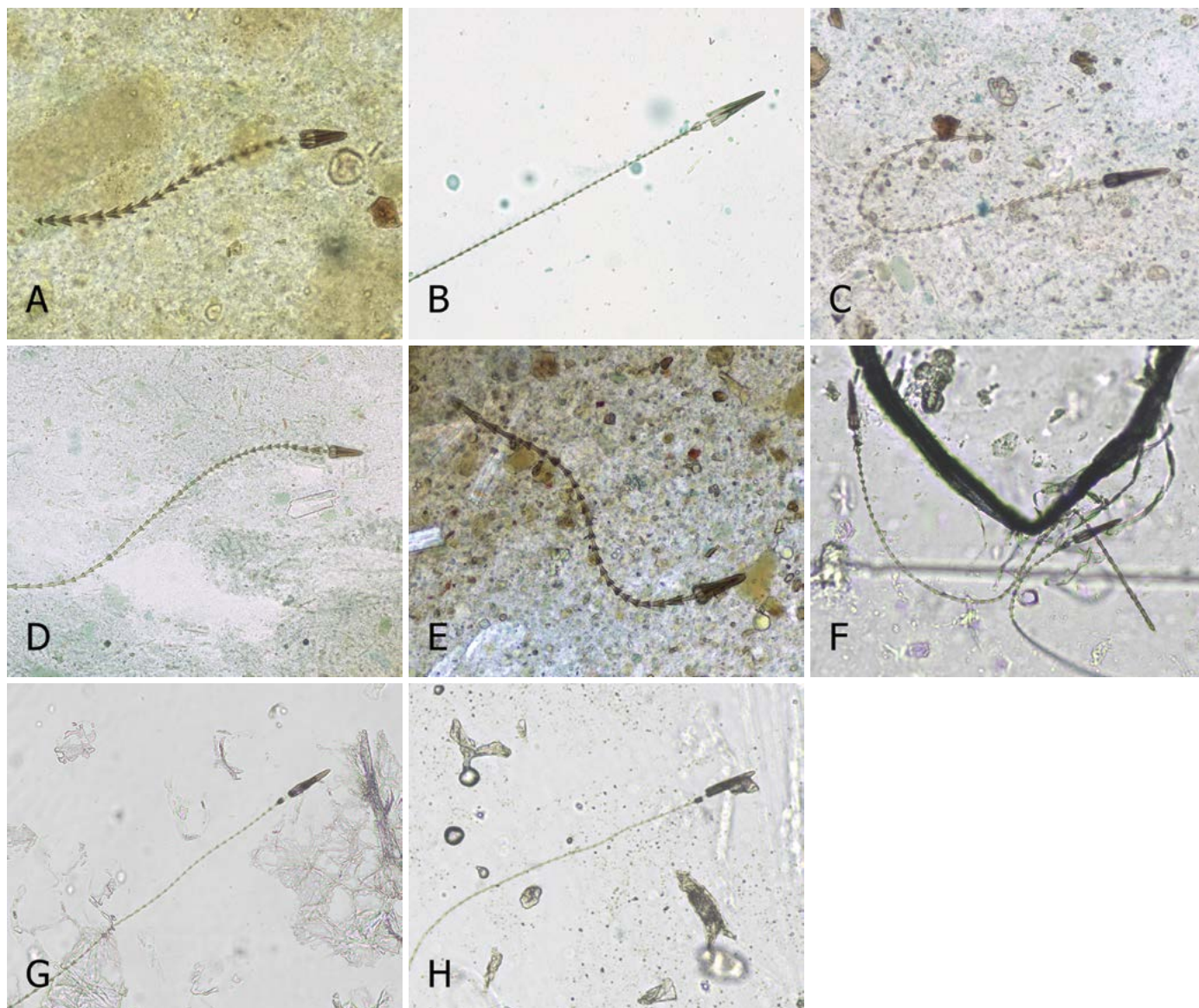
mného drieku opatreného trňmi na jednotlivých segmentoch. Ukončené sú apikálnym hrotom zložitého subkónického tvaru pozostávajúceho z niekoľkých radiálne usporiadaných častí. Celým telom hastiset prechádza dutý kanál ústiaci na hrote (**obrázok 3**)⁽²⁾. Hastisety slúžia ako mechanická bariéra odpudzujúca predátory, ale presný spôsob ich fungovania nie je celkom známy. Bazálna časť hastiset – pedicel, je miesto, kde dochádza k ich odlomeniu od tela larvy. Uvoľnené hastisety majú extrémnu mechanickú schopnosť prichytávať sa a obalovať rôzne objekty, za túto vlastnosť je pravdepodobne zodpovedná aj statická elektrina. Voľné hastisety kontaminujú prostredie a sú potenciálnymi alergénmi človeka a domácich zvierat (**obrázok 4**). Doposiaľ nie je zrejmé, či alergická reakcia vzniká mechanickým dráždením alebo chemickým zložením hastiset. Chitín, z akého sú tvorené hastisety, nie je pre človeka vlastným produktom. Exogénny chitín je rozpoznávaný ľudským imunitným systémom spúšťajúcim zápalovú reakciu a tvorbu chitináz katalyzujúcich hydrolyzu β -1,4-N-acetyl-D-glukozamínu v chitínových polyméroch⁽³⁾.

Voľné hastisety sa stávajú stálou súčasťou prachovej zložky, inhaláciou asociujú s mukózou respiračného traktu a môžu byť príčinou alergickej rinitídy. Ojedinelé sú prípady nálezov hastiset v cervikálnych steroch, kam sa dostali pravdepodobne kontaminovanými tampónmi^(4,5). Najviac prípadov je zaznamenaných pri styku hastiset s pokožkou^(6,7). U citlivých osôb hastisety spôsobujú alergickú kontaktnú dermatitídu, navonok sa manifestujú ako pruritus s izolovanými erytematóznymi papulami^(6,8). K ingescii hastiset dochádza kontaminovanými zložkami potravy. Okrem spomínaných druhov z rodu *Anthrenus* larvy granivorného druhu *Trogoderma granarium* (Everts, 1898) napádajú skladové produkty rastlinného pôvodu. Najčastejšie sú to cereálne produkty ako jačmeň, sója, ryža a pod. Tento invázy druh sa vyskytuje v oblasti severnej Afriky, Stredomoria, Blízkeho východu a zasahuje až do Ázie, avšak kontaminované produkty hastisetami sa medzinárodným obchodom dostávajú aj do zvyšných častí sveta⁽⁹⁾.

Obrázok 4. Nenápadná exuvia larvy na dne škatuľky s drevenými špáradlami na zuby. Väčšina hastiset sa uvoľnila do okolia (foto J. Steinhübel).



Obrázok 5. Hastisetý zo vzoriek stolíc a perianálnych odtlačkov vyšetovaných pacientov, zväčšenie 200x (foto J. Steinhübel).



Klinický prípad

V mikroskopicky vyšetrovanej vzorke stolice metódou KATO sme našli bližšie neidentifikovateľný útvar kopijovitého tvaru. Tento artefakt neznámeho pôvodu bol fotograficky zdokumentovaný a uložený pod symbolickým označením „kostra mrle“ (**obrázok 5 A**). K neskoršej identifikácii útvaru prispel iný prípad, keď bola doručená neznáma larva hmyzu do nášho laboratória. Túto larvu sme determinovali ako larvu druhu *Dermestes lardarius* (Linnaeus, 1758) patriacu do čeľade Dermestidae. Pri determinácii sme si všimli, že niektoré druhy z tejto skupiny majú na svojom povrchu útvary nápadne pripomínajúce daný artefakt. Po spätnej analýze fotodokumentácie bola potvrdená prítomnosť hastisetý v stolici pacienta.

Záver

Nálezom hastisetý sa nepripisuje veľký medicínsky význam a sú zaraďované medzi artefakty kontaminujúce prostredie. V rutinej diagnostike je však potrebné brať na vedomie ich potenciálnu kapacitu vyvolávať zdravotné komplikácie ako ri-

nitída a dermatitída. V diferenciálnej diagnostike je potrebné vylúčiť alergickú reakciu spôsobenú iným etiologickým agensom, autoimunitné ochorenia a bodnutie hmyzom, pre ktoré je typické miesto vpichu. V rokoch 2019 až 2023 sme zaznamenali výskyt hastisetý v piatich vzorkách stolice (**obrázok 5 A – E**) a v troch vzorkách perianálneho odtlačku (**obrázok 5 F – H**). Vzhľadom na nízke kvantitatívne zastúpenie hastisetý vo vzorkách vyšetovaných pacientov nie je predpoklad, že boli príčinou ich zdravotných problémov. Tieto nálezy len potvrdzujú, že pacienti sa stretávajú s hastisetami a sú vystavení tomuto alergénu, či už konzumáciou potravy, alebo v samotnom prostredí, ktoré obývajú. Ku konzumácii hastisetý dochádza zriedkavo a ich prítomnosť v stolici je náhodná, ale kontakt s pokožkou môže byť oveľa častejší a mal by byť braný na vedomie hlavne dermatológmi. Vo svete sú kožné alergie vyvolané kožiarovitými dobre známe a označované diagnózou Carpet beetle dermatitis. Je však malé povedomie o spôsobe, akým vyvolávajú zdravotné komplikácie, za ktorými stoja chĺpky lariev iritujúce pri kontakte ľudský organizmus. Pri podozrení na alergickú reakciu spôsobenú hmy-

zom by mal pacient zozbierať vzorky hmyzu nachádzajúceho sa vo svojej domácnosti a zaslatať na identifikáciu. Larvy spomínaných druhov chrobákov žijú kryptickým životom, preto sú nepozorovateľné a pacient sa s nimi stretne až pri masovom výskyte, keď je situácia kritická a larvy sa objavujú vo väčších množstvách na miestach, ako sú potravinové skrine, pod kobercami a medzi epedami kresiel, pohoviek a pod. Častejšie majú pacienti možnosť stretnúť sa s imágami, pričom typickým miestom ich zdržovania je vnútorná parapeta a priestor okolo okien. Do obydľia sa imága chrobákov dostávajú z vonkajšieho prostredia, pozvánkou sú pre ne otvorené okná s kvitnúcimi rastlinami, na ktorých sa živia nektárom a peľom. Oplodnené samičky potom zalietavajú ďalej do domácností a kladú vajíčka na rôznych organický materiál. Vyliahnuté larvy v domácnostiach nachádzajú stabilné podmienky a dostatok potravy na dokončenie vývinového cyk-

lu, ktorý môže trvať až jeden rok, ale za nepriaznivých podmienok aj dlhšie. Imága sa dožívajú asi mesiac⁽¹⁰⁾. Larvy sa počas vývinu niekoľkokrát zvliekajú, pričom vždy dochádza k obnove hastiset. Prázdne exuvie predošlých instarov ostávajú v prostredí a hastisety pomaly degradujú do prostredia. Ako opatrenie sa odporúča zasieťovať okná, hlavne v jarných mesiacoch, keď je aktivita chrobákov najväčšia. Potrebné je skladovať potraviny v uzatvárateľných nádobách a udržiavať celkovú hygienu domácností. Napriek uvedeným negatívnym vlastnostiam obranného mechanizmu lariev týchto chrobákov na zdravie človeka je potrebné dodať, že svojou bionómiou sú larvy týchto druhov nenahraditeľnou zložkou v procese degradácie organických materiálov. Ako jeden z posledných článkov kolobehu látok v prostredí sa živia organickými zvyškami, ktoré sú pre väčšinu iných živočíchov nestráviteľné.

LITERATÚRA

1. Ruzzier E, Kadej M, Battisti A. Occurrence, ecological function and medical importance of dermestid beetle *Hastisetia*. *PeerJ*. 2020; 8: e8340.
2. Ruzzier E, Kadej M, Di Giulio A, Battisti A. Entangling the Enemy: Ecological, Systematic, and Medical Implications of Dermestid Beetle *Hastisetia*. *Insects*. 2021; 12(5): 436.
3. Kzhyshkowska J, Gratchev A, Goerd S. Human chitinases and chitinase-like proteins as indicators for inflammation and cancer. *Biomark Insights*. 2007; 2: 128-146.
4. Bryant J, Maslan AM. Carpet beetle larval parts in Pap smears: report of two cases. *Southern Medical Journal*. 1994; 87(7): 763-764.
5. Williamson AB, Nicolas MM, Nayar R. Unusual Finding in Cervical Smear. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2005; Vol. 129: 809.
6. Montag A, Mebs D, Oppel E. Anthrenus-Dermatitis: Fallbericht mit Lösungsansätzen zu Ursachen und Auswirkungen [Anthrenus dermatitis: Case report with suggestions regarding causes and consequences]. *Hautarzt*. 2021; 72(9): 805-814.
7. Simon L, Boukari F, Oumarou HA, et al. Anthrenus sp. and an Uncommon Cluster of Dermatitis. *Emerging Infectious Diseases*. 2021; 27(7): 1940-1943.
8. Ahmed RA, Moy R, Barr RA, Price Z. Carpet beetle dermatitis. *Journal of American Academy of Dermatology*. 1981; 5(4): 428-432.
9. EPPO (2013) PM 7/13 (2) *Trogoderma granarium*; EPPO Bulletin 43, 431-448.
10. Kumar S, Khamashon L, Pandey P, et al. Life cycle of museum pest *Anthrenus flavipes* (Lec.) (Coleoptera: Dermestidae). *American Journal of Research Communication*. 2013; 1(5): 219-225.

RNDr. Jakub Steinhübel

Medirex, a. s.

Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava

e-mail: jakub.steinhubel@medirex.sk

Intraindividuálna variabilita sérových koncentrácií AMH u neplodných žien

Silvia Toporcerová^{1,2,3}

¹Gyncares – centrum reprodukčnej medicíny Košice

²Medirex, a. s., Pezinok

³Gynekologicko-pôrodnická klinika LFUPJŠ Košice

Sérové koncentrácie anti-Müllerovho hormónu (AMH) sú dnes považované za najpresnejší biochemický ukazovateľ zásoby vajíčok vo vaječníkoch. Využívajú sa na predikciu výsledku liečby neplodnosti, nástupu menopauzy, závažnosti niektorých metabolicko-hormonálnych patológií. Dlho sa predpokladalo, že sérová koncentrácia AMH je u ženy stabilná a intra- i intercyklická variabilita je minimálna. Dnes je už známe, že koncentrácie AMH môžu varírovať až o 30 % v rámci cyklu, čo mení pohľad na manažment liečby neplodnosti predovšetkým v hraničných skupinách pacientok.

Kľúčové slová: anti-Müllerov hormón, neplodnosť, ovariálna rezerva, in vitro fertilizácia

Intraindividual variability of serum AMH concentrations in infertile women

Serum concentrations of anti-Müllerian hormone (AMH) are today considered the most accurate biochemical marker of the ovarian reserve. They are used to predict the outcome of infertility treatment, the onset of menopause, and the severity of some metabolic-hormonal pathologies. It has been assumed that the serum concentration of AMH is stable in women and that intra- and intercycle variability is minimal. Today, it is already known that AMH concentrations can vary by up to 30% within a cycle, which changes the perspective on the management of infertility treatment, especially in borderline groups of patients.

Key words: Anti-Müllerian hormone, infertility, ovarian reserve, in vitro fertilization

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 124-126

Úvod

Anti-Müllerov hormón (AMH), v minulosti označovaný aj Müllerian – inhibiting substance, je v súčasnosti považovaný za jeden z najlepších markerov ovariálnej rezervy. Ide o všeobecne akceptovaný biomarker, ktorý produkujú malé antrálne a preantrálne folikuly ovária – dimerický glykoproteín veľkosti 140 kDa z rodiny TGF- β (transforming growth factor beta). Pomenovanie dostala táto molekula na základe svojej významnej funkcie počas intrauterinného života u plodov mužského pohlavia. V tomto období je AMH produkovaný Sertoliovými bunkami semenníkov plodu a väzbou na AMH-II receptory Müllerových vývodov vedie k ich regresii. V prípade ženského pohlavia nie je vo včasnom embryonálnom období exprimovaný, čo vedie ku vývoju štruktúr pochádzajúcich z Müllerovho vývodu – vajcovodov, maternice a hornej tretiny pošvy. U dievčat dochádza k produkcii AMH až okolo 36. týždňa intrauterinného vývoja⁽¹⁾, avšak koncentrácie cirkulujúceho hormónu sú veľmi nízke až do 2.-4. roku života dievčat. Následne začínajú koncentrácie stúpať a vrchol dosahujú vo veku 24,5 roka. Od tohto obdobia postupne klesajú až do menopauzy⁽²⁾.

Biologický zmysel produkcie AMH granulózovými bunkami preantrálnych a malých antrálnych folikulov nie je úplne objasnený. Považuje sa za negatívny regulátor včasného folikulárneho vývoja vzhľadom na to, že blokuje rekrutáciu folikulov závislú od hormónu stimulujúceho folikuly (FSH)⁽³⁾. Napriek tomu, že sérové koncentrácie AMH vykazujú určité

variácie, sú vynikajúcim nepriamym markerom zásoby oocytov vo vaječníkoch, ako aj prediktorom odpovede ovárií na hormonálnu stimuláciu v protokoloch in vitro fertilizácie (IVF). Čo je v rámci asistovanej reprodukcie nemenej dôležité, posledné štúdie potvrdili vzťah medzi koncentráciou AMH a percentom euploidných blastocýst v programoch IVF⁽⁴⁾, ako aj koncentráciou AMH a rizikom spontánneho potratu⁽⁵⁾. Táto skutočnosť je klinicky veľmi významná, pretože v prvých rokoch využívania AMH ako markera ovariálnej rezervy sa považoval len za kvantitatívny, nie však kvalitatívny marker zásoby vajíčok vo vaječníkoch. Dnes je už potvrdené, že pri znížených koncentráciách AMH, je aj vyššie percentuálne zastúpenie aneuploidných oocytov.

Intra- a intercyklické zmeny koncentrácie AMH u žien

Koncentrácie AMH majú vysokú interindividuálnu variabilitu aj v rovnakých vekových skupinách pacientov. Dlhodobo sa však AMH považoval za marker s veľmi nízkou intraindividuálnou variabilitou, jeho koncentrácie sa považovali za stabilné v rámci jedného menštruačného cyklu, ako aj intercyklicky. Štúdie z posledných rokov však začali poukazovať na skutočnosť, že koncentrácia AMH stanovená *ad hoc* kedykoľvek v priebehu menštruačného cyklu nemusí byť úplne stabilná. Ukázalo sa, že na koncentrácie AMH má vplyv fáza cyklu (vyššia koncentrácia vo folikulárnej fáze), že intracyklická variácia AMH sa môže líšiť v závislosti od veku pacien-

tok a dokonca boli potvrdené aj cirkadiánne fluktuácie sérovej AMH koncentrácie⁽⁶⁾. Vzhľadom na to, že niektoré typy gonadotropínov v protokoloch asistovanej reprodukcie majú byť podľa SPC (súhrn charakteristických vlastností lieku) dávkované len na základe sérovej koncentrácie AMH, je veľmi dôležité poznať tieto odchýlky a do budúcnosti určiť, ako často je vhodné AMH v rámci liečby neplodnosti laboratórne stanovovať a či by nebolo vhodnejšie stanovovať aj tento hormón v špecifickej fáze menštruačného cyklu.

Interindividuálne odchýlky koncentrácie AMH v rovnakých vekových skupinách sú veľmi veľké a v prvom rade odrzkadľujú rôznu veľkosť zásoby intraovariálnych folikulov u jednotlivých žien. Ďalšími faktormi, ktoré môžu ovplyvňovať koncentráciu AMH, sú napríklad užívanie hormonálnej antikoncepcie, obezita, stanovenie počas tehotenstva, fajčenie a užívanie gonadotropínov v rámci ovariálnej stimulácie. Nižšie koncentrácie AMH u pacientok s hypogonadotropným hypogonadizmom, ako aj u dlhodobých užívateľiek hormonálnej antikoncepcie vyplývajú z blokácie folikulogenézy u týchto žien, a preto koncentrácia AMH v týchto prípadoch nie úplne reálne odrzkadľuje ovariálnu rezervu. Posledné štúdie potvrdili, že koncentrácie AMH sú mierne vyššie vo folikulárnej fáze cyklu oproti luteálnej fáze, a to tak pri normálnej koncentrácii AMH, ako aj u žien s nízkou alebo vysokou ovariálnou rezervou. Koncentrácia AMH by tak mohla charakterizovať skôr regrutovanú kohortu folikulov v ovárii ako celkovú kapacitu primordiálnych folikulov v ováriách. Najnižšie koncentrácie AMH sú zaznamenávané v období stredocyklového vyplavenia gonadotropínov – v období ovulácie. Táto skutočnosť vysvetľuje určitý význam molekuly AMH v rámci folikulárneho rastu. Potvrdené boli už aj cirkadiánne zmeny koncentrácie AMH, pri ktorých sa predpokladá pozitívna korelácia medzi koncentraciami AMH a LH (luteinizačný hormón)⁽⁷⁾. Intracyklické variácie koncentrácie AMH podľa niektorých autorov závisia aj od veku ženy. U mladších žien varujú sérové koncentrácie AMH podstatne viac ako u žien starších⁽⁸⁾. Napriek tomu však väčšina autorov dlhodobo potvrdzuje skutočnosť, že tieto relatívne aj absolútne intracyklické aj intercyklické odchýlky u jednotlivých žien, hoci sú štatisticky dokázateľné, nemajú významný vplyv na zmenu manažmentu liečby u neplodných žien a že jednorazový odber AMH je možné považovať za vynikajúci ukazovateľ tak ovariálnej rezervy, ako aj ovariálnej odpovede na hormonálnu stimuláciu⁽⁹⁾.

V začiatkoch stanovovania AMH sa za možný faktor ovplyvňujúci interindividuálne odchýlky považovali aj analytické variácie spôsobené rôznou dĺžkou a typom skladovania vzorky, eventuálne použitím rôznych laboratórnych metód. Biochemické laboratória nepovažujú molekulu AMH za úplne ľahko merateľnú aj pre jeho viaceré izoformy. Dnes sa však na stanovovanie AMH používajú už len plne automatizované metódy, ktorých senzitivita a presnosť sa považujú za veľmi vysoké. Napriek tomu, že laboratórne súbory udávajú intraindividuálnu variáciu menšiu ako 5 %, viaceré štúdie potvrdili, že táto odchýlka môže presahovať až 20 % hodnoty v rámci troch menštruačných cyklov a viac ako 28 % aj v rámci jedného menštruačného cyklu, čo sa už stáva významným faktorom⁽⁶⁾. Predovšetkým v skupine hraničných koncentrácií AMH (okolo hodnoty 1,2 ng/ml) táto fluktuácia je už na hrane klinickej významnosti a napriek tomu, že asi nie je úplným ga-

me-changerom v rámci hormonálnej hyperstimulácie, môže klinika ovplyvniť v dávkovaní gonadotropínov a vo výbere stimulačného protokolu, a tým aj zmeniť výsledok hormonálnej stimulácie. Na druhej strane existujú dnes štúdie, ktoré tvrdia, že intercyklické variácie koncentrácie AMH sú podstatne menej významné ako variácie intracyklické, a preto stanovovanie AMH v špecifickej fáze menštruačného cyklu (podobne ako bazálne koncentrácie FSH 2.-3. deň menštruačného krvácania) môžu objektivizovať výsledok tohto vyšetrenia⁽⁸⁾.

Ovplyvnenie koncentrácie AMH v sére pri farmakoterapii

Nemožno zabúdať ešte na nemenej dôležitú skutočnosť, že aj užívanie niektorých liekov môže významne ovplyvniť sérové koncentrácie AMH u žien, čo môže viesť k misinterpretácii laboratórneho výsledku. Okrem spomínanej kombinovanej orálnej kontracepcie sa medzi látky schopné ovplyvňovať koncentráciu AMH v sére zaraďujú: metformín, analógy gonadoliberínu, dehydroepiandrosterón, vitamín D, klomifencitrát a letrozol⁽⁹⁾. Downregulačný efekt kombinovanej kontracepcie (COC – combined oral contraception) na koncentrácie AMH je zreteľný dokonca už aj po krátkodobom užívaní (napr. štandardná 12- až 21-dňová aplikácia pred hyperstimuláciou vaječníkov s cieľom zlepšiť ovariálnu odpoveď znížením endogénnych gonadotropínov). Pri dlhodobjšom užívaní COC sa zrejme tento efekt COC na koncentrácie AMH neprehľbuje, čo sa vysvetľuje adaptáciou granulózových buniek na znížené koncentrácie FSH. Pokles AMH pri dlhodobom užívaní COC môže byť zodpovedný aj za pomerne časté ovulácie v prvých mesiacoch po vysadení antikoncepcie aj u žien, ktoré bežne ovuláciu nemajú (predovšetkým pacientky so syndrómom polycystických vaječníkov – PCOS). Po vysadení COC by tento downregulačný efekt na AMH mal vymiznúť do troch mesiacov, keď už je možné považovať namerané koncentrácie AMH za relevantné.

Rovnaký efekt na koncentrácie AMH ako COC má podľa viacerých autorov aj metformín. Tento efekt sa prejavuje u pacientok s PCOS dokonca aj pri normálnej hmotnosti pacientok, čo čiastočne vysvetľuje význam podávania metformínu aj u neobéznych žien s PCOS⁽⁹⁾. V reprodukčnej medicíne často používaný liek dehydroepiandrosterón (DHEA) môže mať tiež významný vplyv na sérové koncentrácie AMH. Napriek tomu, že v súčasnosti najnovšie štúdie nepotvrdili jeho pozitívny vplyv na výsledky liečby u pacientok s hroziacim ovariálnym zlyhaním, stále sa pomerne často používa. Má androgénny a slabý estrogénny efekt, ktorým by mal zlepšovať intraovariálne mikroprostredie, ktoré by malo byť vhodnejšie na dozrievanie folikulov. Týmto vplyvom by sa mala zlepšovať jednak ovariálna odpoveď a jednak kvalita oocytov v podobe nižšieho percenta aneuploidných oocytov⁽¹⁰⁾. Už pri krátkodobom užívaní DHEA môže dôjsť k vzostupu sérového AMH, avšak pozitívny efekt tejto liečby na výsledky IVF po prehodnotení väčšieho počtu štúdií neboli potvrdené⁽¹¹⁾.

Vitamín D je ďalšou molekulou, ktorá sa v súčasnej reprodukčnej medicíne často využíva, vzhľadom na jeho predpokladaný pozitívny efekt na folikulogenézu a kvalitu oocytov. Ovplyvnenie sérovej koncentrácie AMH bolo potvrdené pri užívaní vitamínu D u ovulujúcich žien, u ktorých môže dôjsť krátko po začatí liečby k vzostupu sérového AMH. Tento efekt však nebol potvrdený u žien s PCOS⁽⁹⁾. Po stimulá-

cii ovárií klomifencitrátom dochádza, naopak, ku krátkodobému poklesu koncentrácie AMH v sére. Tento vplyv však nebol jednoznačne potvrdený pri letrozole, ktorý sa dnes považuje za vhodnejší liek na navodenie ovulácie u anovulačných pacientok⁽¹²⁾.

Záver

Možno konštatovať, že sérová koncentrácia AMH nevykazuje až takú intraindividuálnu stabilitu, aká bola primárne predpokladaná pri zavádzaní tohto vyšetrenia do bežnej klinickej praxe. Každopádne, všetky ostatné biochemické ukazovatele ovariálnej rezervy (FSH, inhibín B) varujú intra- a intercyklicky podstatne viac ako AMH. Sérová koncentrácia AMH preto zostáva zlatým štandardom stanovenia ovariálnej rezervy ženy. Predovšetkým v kombinácii s ultrazvukovým obrazom vaječníkov (počet antrálnych folikulov ovárií pri ultrazvukovom vyšetrení – AFC – antral follicle count) je ne-

nahradiateľným ukazovateľom starnutia vaječníkov a prediktorom reakcie vaječníkov na ováriálnu hyperstimuláciu, ako aj výsledku liečby neplodnosti. Každopádne pri vyhodnotení jeho koncentrácií je potrebné brať do úvahy viacero parametrov – či už fázu menštruačného cyklu, v ktorej bol stanovovaný, ako aj možný vplyv užívaných liekov.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Podpora výskumno-vývojových kapacít zameraných na digitálnu transformáciu klinických a laboratórnych postupov pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti, kód ITMS: 313011BWX3, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

LITERATÚRA

1. Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Graem N, et al. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84(10): 3836-3844.
2. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, et al. A validated model of serum anti-müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS One* 2011; 6(7): e22024.
3. Buratini J, Dellaqua TT, Dal Canto M, et al. The putative roles of FSH and AMH in the regulation of oocyte developmental competence: from fertility prognosis to mechanisms underlying age-related subfertility. *Hum Reprod Update* 2022; 28(2): 232-254.
4. La Marca A, Minasi MG, Sighinolfi G., et al. Female age, serum antimüllerian hormone level, and number of oocytes affect the rate and number of euploid blastocysts in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2017; 108(5): 777-783.
5. Tarasconi B, Tadros T, Ayoubi JM, et al. Serum antimüllerian hormone levels are independently related to miscarriage rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2017; 108(3): 518-524.
6. Melado L, Lawrenz B, Sibal J, et al. Anti-müllerian hormone during natural cycle presents significant intra and intercycle variations when measured with fully automated assay. *Frontiers in endocrinology* 2018; 9: 686.
7. Cimino I, Casoni F, Liu X, et al. Novel role for anti-Müllerian hormone in the regulation of GnRH neuron excitability and hormone secretion. *Nat Commun.* 2016; 12: 7: 10055.
8. Biniash M, Laubender RP, Hund M, et al. Intra- and inter-cycle variability of anti-Müllerian hormone (AMH) levels in healthy women during non-consecutive menstrual cycles: the BICYCLE study. *Clin Chem Lab Med.* 2021; 60(4): 597-605.
9. Yin WW, Huang ChCh, Chen YR, et al. The effect of medication on serum anti-müllerian hormone (AMH) levels in women of reproductive age: a meta-analysis. *BMC Endocr Disord.* 2022; 22(1): 158.
10. Overbeek A, Broekmans FJ, Hehenkamp WJ, et al. Intra-cycle fluctuations of anti-Müllerian hormone in normal women with a regular cycle: a re-analysis. *Reprod Biomed Online* 2012; 24(6): 664-669.
11. Gleicher N, Barad DH. Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in diminished ovarian reserve (DOR). *Reprod Biol Endocrinol.* 2011; 9: 67.
12. Yoan WS, Abu MA, Ahmad MF, et al. Effects of Dehydroepiandrosterone (DHEA) Supplementation on Ovarian Cumulus Cells following In Vitro Fertilization (IVF)/Intra-Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI) Treatment-A Systematic Review. *Life* 2023; 13(16): 1237.

doc. MUDr. Silvia Toporcerová, PhD., MBA

Gyncare, s.r.o.

Magnezitárska 2/C, 040 13 Košice

e-mail:silvia.toporcerova@gyncare.sk

Nový pohľad na hodnotenie kvality embryí z kultivačného média

Zuzana Badovská^{1,2}, Silvia Toporcerová^{2,3,4}, Miroslava Popelková⁴, Marek Kl'oc^{2,5}, Dana Glovová⁴, Dominika Remešová⁴, Katarína Balasičová⁴, Miroslava Rabajdová^{1,5}

¹Ústav lekárskej a klinickej biochémie, Lekárska fakulta, UPJŠ Košice

²Medirex, a. s., Pezinok

³Gynekologicko-pôrodnická klinika, Lekárska fakulta UPJŠ Košice

⁴GynCare, a. s., Košice

⁵SAFTRA-BioMAI, UPJŠ Košice

Biomarkery vylučované embryami v kultivačnom médiu majú potenciál na hodnotenie kvality embryí a potenciálu implantácie pri oplodnení *in vitro*. Kvalita kultivačných médií je kritickým faktorom v reprodukčnej medicíne, ktorý ovplyvňuje úspešnosť IVF procesu. Ideálne biomarkery by mali byť neinvazívne, stabilné, špecifické pre embryá a ľahko detegovateľné. Kultivačné médium blastocysty (SBM) ponúka neinvazívny, dostupný materiál na analýzu. Štúdie skúmajú SBM prostredníctvom proteomiky a metabolomiky, pričom identifikujú proteíny a metabolity ako potenciálne markery kvality embryí.

Kľúčové slová: biomarkery, kvalita embrya, *in vitro* fertilizácia, kultivačné médium embrya

A New Perspective on Assessing Embryo Quality from Spent Blastocyst Media

Biomarkers secreted by embryos in the culture medium can assess embryo quality and implantation potential in *in vitro* fertilization. The quality of culture media is a critical factor in reproductive medicine that affects the success of the IVF process. Ideal biomarkers should be non-invasive, stable, embryo-specific and easily detectable. Blastocyst culture medium (SBM) offers a non-invasive, readily available material for analysis. Studies are investigating SBM through proteomics and metabolomics, identifying proteins and metabolites as potential markers of embryo quality.

Keywords: biomarkers, embryo quality, *in vitro* fertilization, spent blastocyst media

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 127-130

Embryo vylučuje do extracelulárneho prostredia niektoré látky (tzv. sekretóm), ktoré by mohli mať vlastnosti potenciálnych biomarkerov. Extracelulárnym prostredím pre včasné embryo v rámci jeho kultivácie v procese *in vitro* fertilizácie je kultivačné médium. Na kvalitu kultivačných médií sa v reprodukčnej medicíne kladú veľmi vysoké nároky, optimálne kultivačné médium je jedným z najdôležitejších faktorov ovplyvňujúcich kvalitu a úspešnosť liečby neplodnosti. Ideálny embryonálny biomarker by mal byť neinvazívny, stabilný, špecifický k embryu a ľahko detegovateľný. Navyše odber kultivačného média blastocysty (SBM, spent blastocyst medium), v ktorom sa predimplantačné embryo vyvíja, predstavuje neinvazívny spôsob a je ľahko zberateľným biologickým materiálom⁽¹⁾.

Proteomika SBM

Proteomika predstavuje štúdium proteínov translatovaných zo špecifických génových produktov. Proteóm zahŕňa všetky translatované proteíny v bunke v určitom čase a za istých podmienok, zatiaľ čo sekretóm embrya zahŕňa proteíny sekretované počas embryonálneho vývoja. Analýzy kultivačného média embryí odhalili sekreciu niektorých proteínov, konkrétne receptor 1 faktora nekrotizujúceho tumor (TNFR-1), interleukínu-6 (IL-6), vaskulárneho endotelového rastového faktora (VEGFA), induktora metaloproteinázy ex-

tracelulárneho matrixu (EMMPRIN), placentárneho rastového faktora (PLGF), adhéznej molekuly epitelových buniek (EpCAM) a kaspázy 3, ako aj spotrebu niekoľkých proteínov embryom, a to C-X-C motív chemokínového ligandu 13 (CXCL13), faktora kmeňových buniek (SCF), makrofágového zápalového proteínu 1β (MIP-1β) a proteínu α stimulujúceho makrofágy (MSP-α)⁽²⁾. Jedným z proteínov vyskytujúcich sa v kultivačnom médiu je sérový albumín, ktorý však môže brániť analýze iných proteínov s podobnou molekulovou hmotnosťou (60 – 70 kDa) vyskytujúcich sa v médiu⁽³⁾.

Potenciálne biomarkery v sekretóme embrya

Rozdielne proteínové profily v sekretóme kultivačného média embrya predpokladali rozdiely v kvalite blastocysty. Ľudský leukocytový antigén (HLA-G) pozitívne koreluje s implantáciou embrya a výsledkom tehotenstva. HLA-G ako jeden z potenciálnych študovaných biomarkerov má dôležitú úlohu pri imunologickej tolerancii medzi matkou a plodom. Je exprimovaný bunkami extravilózneho trofoblastu a má úlohu pri sekrecii cytokínov v rámci invázie buniek trofoblastu v procese implantácie⁽⁴⁾. Napriek tomu HLA-G nie je využívaným biomarkerom v klinickej praxi.

Autori Cortezzi a kol.⁽⁵⁾ identifikovali niekoľko proteínov prítomných v sekretóme embrya, z ktorých 15 predstavovalo pozitívne prediktory pre tehotenstvo a 10 asociovalo s ne-

Tabuľka 1. Typy RNA produkované bunkami a ich hlavné funkcie⁽¹⁵⁾

Typ RNA	Názov RNA	Funkcia
Housekeeping ncRNA		
rRNA	ribozómová	tvorba základnej štruktúry ribozómov a katalýza syntézy proteínov
tRNA	transferová	dôležitá úloha pri proteosyntéze ako adaptéry medzi mRNA a aminokyselinami
snRNA	malá jadrová	úloha pri rôznych jadrových procesoch vrátane splicingu prekursorovej mRNA
snoRNA	malá jadriková	pomáha pri spracovaní a chemickej modifikácii rRNA
Regulačné ncRNA		
miRNA	mikro	regulácia génovej expzieie zablokovaním translácie špecifických mRNA a následná degradácia
siRNA	malá interferujúca	zablokovanie génovej expzieie priamou degradáciou špecifickej mRNA a zachovanie kompaktnej chromatinovej štruktúry
piRNA	piwi-interagujúca	väzba na piwi proteíny a ochrana zárodočnej línie pred transponovateľnými prvkami
lncRNA	dlhá nekódujúca	tzv. lešenie, regulácia množstva bunkových procesov vrátane inaktívácie chromozómu X
circRNA	cirkulujúca	inhibícia aktivity miRNA

gatívnym výsledkom tehotenstva. Najviac reprezentatívnym proteínom s pozitívnym výsledkom tehotenstva bol Jumoni proteín (JARID2), ktorý je súčasťou komplexu histónovej metyltransferázy podieľajúcej sa na regulácii génov pre embryonálny vývoj. Čoraz viac pozornosti sa upriamilo na úlohu apolipoproteínu A1 (ApoA1) v skorom embryonálnom vývoji. Jeho zvýšená koncentrácia bola prítomná v SBM 4-5-dňových embryí, ktoré boli charakterizované vyšším morfológickým stupňom vývoja. V ďalšej štúdiu bola expresia ApoA1 zvýšená v sekretóme 2-3-dňového embrya, avšak znížená v médiu v súvislosti s úspešným tehotenstvom⁽⁶⁾. Predpokladalo sa, že rôzne izoformy hCG vyskytujúce sa v sekretóme embrya, by mohli predpovedať úspešnosť embryonálneho transferu alebo aj abnormálne embryá. Koncentrácia HCG v SBM pozitívne koreluje so statusom skorého embryonálneho vývoja aj s implantačným potenciálom⁽⁷⁾. Embryo vyvíjajúce sa do štádia blastocysty je charakteristické zvýšenou hladinou expzieie EMMPRIN, stimulujúceho fibroblasty na syntetizovanie MMP, v porovnaní s embryami, ktoré sa nevyvinuli. Hladina kaspázy-3 bola nižšia pri blastocystách vyššej kvality. Zvýšená hladina expzieie VEGF-A, IL-6 a EMMPRIN korelovali s kratším časom tvorby moruly⁽⁸⁾.

Metabolomika SBM

Koncentrácie všetkých metabolitov v kultivačnom médiu embryí skúma metabolomika. Metabolity, ktoré sa menia v dôsledku metabolických a environmentálnych zmien, predstavujú výborný indikátor bunkovej aktivity a taktiež môžu predstavovať potenciálne biomarkery pre výber viabilného embrya s najvyššou úspešnosťou pre transfer⁽⁹⁾. Zistené koncentrácie niektorých metabolitov (2-metylglutarát, 3-aminoizobutyrate, 3-hydroxyizovalerát, acetát, acetoacetát, alanín, citrát, formiát, glutamát, glycin, laktát, tryptofan) v kultivačnom médiu embrya preukázali výrazne rozdiely medzi embryami, ktoré boli úspešne implantované, a tými, ktoré neboli. V ďalšej štúdiu bola pozorovaná významne zvýšená spotreba pyruvátu a laktátu v SBM blastocyst, ktoré neboli schopné adherovať. Takisto bol u nich pozorovaný nižší pomer pyruvátu/alanínu⁽¹⁰⁾.

Embryo vyvíjajúce sa v kultivačnom médiu využíva pre svoj rast niektoré aminokyseliny prítomné v médiu a niektoré aminokyseliny do média vylučuje. Tento obrat aminokyselín bol považovaný za vhodnú metódu pri výbere embrya pre trans-

fer. Vysokokvalitné embryá v štádiu blastocysty spotrebovali väčšie množstvo leucínu a produkovali väčšie množstvo alanínu v porovnaní s embryami nízkej kvality. Obrat troch aminokyselín (asparagínu, glycinu a leucínu) významne koreloval s klinickým tehotenstvom⁽¹¹⁾. „Fingerprint“ aminokyselín z kultivačného média embrya môže slúžiť na určenie jeho implantačného potenciálu. V ďalšej štúdiu⁽¹²⁾ boli v kultivačnom médiu 3-dňového embrya prítomné aminokyseliny serín, histidín, kyselina asparagová a alanín, ktoré preukazovali významné rozdiely v koncentrácii medzi skupinami s pozitívnym a negatívnym výsledkom tehotenstva. Metabolické profilovanie kultivačných médií odhalilo vyššiu spotrebu prolínu, treonínu, lyzínu, metionínu, tyrozínu a fenylalanínu embryami s nižším vývojovým potenciálom. V SBM s výsledným úspešným tehotenstvom bol pozorovaný významne nižší podiel pyruvátu a treonínu v porovnaní s kontrolným médiom bez kultivácie embrya⁽¹³⁾. Profilovanie metabolomu kultivačného média embrya vyžaduje citlivé nástroje na detekciu malých zmien, ale nezaručuje predikciu implantačného potenciálu embrya^(10,14).

Transkriptomika SBM – malé nekódujúce RNA

RNA molekuly okrem toho, že sú nosičmi genetickej informácie potrebnej na špecifikáciu poradia aminokyselín počas proteosyntézy (mRNA), zohrávajú v bunkách mnoho úloh (**tabuľka 1**). RNA bez kódujúceho potenciálu, teda nekódujúce RNA (ncRNA) molekuly, sú finálne produkty ostatných génov. Na rozdiel od kódujúcich RNA nekódujú proteíny, čo však neznamená, že nemajú svoju funkciu v bunkách. Tieto RNA hrajú dôležitú úlohu pri regulácii génovej expzieie, ako aj ochrane genómu pred vírusmi a transponovateľnými prvkami. Po prvýkrát boli ncRNA objavené v roku 1869⁽¹⁵⁾.

Malé nekódujúce RNA (sncRNA) vrátane miRNA, siRNA a piRNA regulujú génovú expresiu prostredníctvom párovania s cieľovými RNA molekulami a môžu spôsobiť inhibíciu translácie alebo degradáciu RNA, ako aj tvorbu heterochromatínu na DNA, čo ovplyvňuje transkripciu⁽¹⁵⁾. Za posledné roky pribudli štúdie opisujúce dôležitú úlohu sncRNA vrátane mikroRNA (miRNA), malých interferujúcich RNA (siRNA) a piwi-interagujúcich RNA (piRNA) v reprodukčnom systéme. Pochopením ich funkcie v rámci gametogenézy a embryogenézy by mohlo pomôcť pri možných príčinách neúspešnej implantácie v IVF procese⁽¹⁴⁾.

MiRNA z kultivačného média ako biomarker kompetencie embryí

MiRNA je evolučne konzervovaná rodina malých nekódujúcich RNA a je dôležitá pri regulácii množstva biologických procesov, akými sú proliferácia, diferenciácia, angiogenéza, migrácia, apoptóza a karcinogenéza. Ich dôležitou úlohou je tzv. gene silencing, utišovanie génov priamym naviazaním na špecifické molekuly mRNA, čím umožnia ich degradáciu, resp. utlmenie translácie. MikroRNA, ktoré sa spájajú s procesmi diferenciácie blastocysty, sú špecifické produkty embrya, pričom najväčším zdrojom miRNA v SBM sú práve bunky TE⁽¹⁶⁾. Kultivačné médium, kde sa embryo vyvíja, predstavuje ľahko dostupný biologický materiál. MiRNA profil z kultivačného média by mohol predstavovať prediktívny biomarker klinického výstupu pri IVF cykloch⁽¹⁾. Zygota aj maturovaný oocyt majú podobný miRNA profil, čo znamená, že miRNA zygoty sú matersky zdedené. Hneď po prvom delení embrya (2-bunkové štádium) je až 60 % materských miRNA transkriptov downregulovaných. Úloha materských miRNA vo vývoji embrya ešte síce nebola preukázaná, je zrejme, že zohrávajú svoju úlohu pri vývoji úspešného embrya alebo aj určovania pohlavia⁽¹⁷⁾.

Ideálny embryonálny biomarker by mal mať nasledovné charakteristiky: neinvazivnosť, stabilita v priebehu času, špecifita k embryu a ľahká detekcia určenia kompetentného embrya⁽¹⁾. Pri poruchách reprodukcie, keď sú v bunkách niektoré dráhy deregulované, dochádza k zmene expresie miRNA, ktoré tieto dráhy regulujú. Už McCallie a kol.⁽¹⁸⁾ poukázali na netypický miRNA profil z blastocýst od neplodných žien. Práve preto by mohol zmenený miRNA profil obsahovať vlastnosti charakteristické pre molekulový biomarker nekompetentného embrya.

Viac ako 2 500 miRNA molekúl sa zúčastňuje na väčšine biologických procesov vrátane regulačných dráh v skorom embryonálnom vývoji, z toho 130 miRNA je exprimovaných v ľudských blastocýstách⁽¹⁹⁾. Autori Capalbo a kol.⁽¹⁾ po prvýkrát využili potenciál kvantifikácie miRNA v ľahko dostupnom biologickom materiáli, t. j. v kultivačnom médiu blastocysty (SBM – spent blastocyst medium) a vyzdvihli potenciál miRNA ako biomarkera pre štúdium selekcie embryí. Charakterizovali dve miRNA so zvýšenou expresiou (96 %) pri implantovaných blastocýstách, miR-20a a miR-30c.

LITERATÚRA

1. Capalbo A, Ubaldi FM, Cimadomo D, et al. MicroRNAs in spent blastocyst culture medium are derived from trophectoderm cells and can be explored for human embryo reproductive competence assessment. *Fertil Steril.* 2016; 105(1): 225-235.e1-3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.014
2. Bori L, Dominguez F, Fernandez EI, et al. An artificial intelligence model based on the proteomic profile of euploid embryos and blastocyst morphology: a preliminary study. *Reproductive BioMedicine Online.* 2021; 42(2): 340-350. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.09.031
3. Rødgaard T, Heegaard PMH, Callesen H. Non-invasive assessment of in-vitro embryo quality to improve transfer success. *Reprod Biomed Online.* 2015; 31(5): 585-592. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.08.003
4. Zhuang B, Shang J, Yao Y. HLA-G: An Important Mediator of Maternal-Fetal Immune-Tolerance. *Front Immunol.* 2021; 12: 744324. doi: 10.3389/fimmu.2021.744324

piRNA z kultivačného média ako biomarker kompetencie embryí

Piwi-interagujúce RNA (piRNA) sa zaraďujú medzi sncRNA molekuly eukaryotických organizmov, špecificky sa vyskytujúce v zárodočnej línii, blokujúce pohyb transponovateľných elementov. Úlohou piRNA je regulácia génovej expresie degradáciou mRNA alebo génovým utlmením. PiRNA interagujú s proteínom PIWI a zohrávajú úlohu pri fyziologických procesoch – spermatogenéza, vývoj folikulov a embryonálny vývoj, ale aj pri patofyziologických procesoch – angiogenéza, apoptóza, zápal, proliferácia a diferenciácia⁽¹⁵⁾.

Autori štúdie Timofeeva a kol.⁽²⁰⁾ skúmali piRNA a miRNA molekuly v súvislosti s morfológickým statusom embrya a jeho implantačným potenciálom. Zistili rozdiely v expresii piRNA (piR-16735, piR-17716, piR-19675, piR-20326, piR-20401) a miRNA (let-7 b-5p, let-7i-5p) v závislosti od kvality embrya. Ďalej identifikovali vysoko exprimované sncRNA (piR-11291, piR-1311, piR-15026, piR-15462, piR-16735, piR-19122, piR-19675, piR-20381, piR-4880) v kultivačnom médiu vo fáze moruly, ktoré ovplyvňujú expresiu génov patriacich do rôznych funkčných kategórií.

Záver

Na záver možno konštatovať, že vylučovanie látok embryami do extracelulárneho prostredia, predstavuje perspektívny zdroj potenciálnych biomarkerov. Kultivačné médium používané v rámci *in vitro* fertilizačného procesu zohráva kľúčovú úlohu v oblasti reprodukčnej medicíny a vyžaduje vysoké štandardy kvality. Ideálny embryonálny biomarker by mal byť neinvazívny, stabilný, špecifický pre embryá a ľahko identifikovateľný. Využitie kultivačného média blastocysty (SBM) poskytuje neinvazívny a dostupný materiál na analýzu. Štúdie, ktoré sa zaoberajú proteomikou, metabolomikou a transkriptomikou, identifikovali proteíny, metabolity a malé nekódujúce RNA v SBM ako potenciálne ukazovatele kvality embryí.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Podpora výskumno-vývojových kapacít zameraných na digitálnu transformáciu klinických a laboratórných postupov pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti, kód ITMS: 313011BW3, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

5. Cortezzi SS, Garcia JS, Ferreira CR, et al. Secretome of the preimplantation human embryo by bottom-up label-free proteomics. *Anal Bioanal Chem.* 2011; 401(4): 1331-1339. doi: 10.1007/s00216-011-5202-1
6. Deutsch DR, Fröhlich T, Otte KA, et al. Stage-specific proteome signatures in early bovine embryo development. *J Proteome Res.* 2014; 13(10): 4363-4376. doi: 10.1021/pr500550t
7. Parvanov D, Nikolova D, Ganeva R, et al. Unbalanced human embryos secrete more hyperglycosylated human chorionic gonadotropin (hCG-H) than balanced ones. *J Assist Reprod Genet.* 2020; 37(6): 1341-1348. doi: 10.1007/s10815-020-01776-9
8. Lindgren KE, Gülen Yaldir F, Hreinsson J, et al. Differences in secretome in culture media when comparing blastocysts and arrested embryos using multiplex proximity assay. *Ups J Med Sci.* 2018; 123(3): 143-152. doi: 10.1080/03009734.2018.1490830

9. Leary C, Sturmey RG. Metabolic profile of in vitro derived human embryos is not affected by the mode of fertilization. *Molecular Human Reproduction*. 2020; 26(4): 277-287. doi: 10.1093/molehr/gaaa015
10. D'Souza F, Uppangala S, Asampille G, et al. Spent embryo culture medium metabolites are related to the in vitro attachment ability of blastocysts. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 17025. doi: 10.1038/s41598-018-35342-2
11. Gardner DK, Wale PL. Analysis of metabolism to select viable human embryos for transfer. *Fertility and Sterility*. 2013; 99(4): 1062-1072. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.12.004
12. Huo P, Zhu Y, Liang C, et al. Non-invasive Amino Acid Profiling of Embryo Culture Medium Using HPLC Correlates With Embryo Implantation Potential in Women Undergoing in vitro Fertilization. *Front Physiol*. 2020; 11: 405. doi: 10.3389/fphys.2020.00405
13. Cheredath A, Uppangala S, C. S A, et al. Combining Machine Learning with Metabolomic and Embryologic Data Improves Embryo Implantation Prediction. *Reprod Sci*. 2022; 30(3): 984-994. doi: 10.1007/s43032-022-01071-1
14. Timofeeva AV, Chagovets VV, Drapkina YS, et al. Cell-Free, Embryo-Specific sncRNA as a Molecular Biological Bridge between Patient Fertility and IVF Efficiency. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(12): 2912. doi: 10.3390/ijms20122912
15. Loganathan T, Doss C GP. Non-coding RNAs in human health and disease: potential function as biomarkers and therapeutic targets. *Funct Integr Genomics*. 2023; 23(1): 33. doi: 10.1007/s10142-022-00947-4
16. Cimadomo D, Rienzi L, Gianciani A, et al. Definition and validation of a custom protocol to detect miRNAs in the spent media after blastocyst culture: searching for biomarkers of implantation. *Hum Reprod*. 2019; 34(9): 1746-1761. doi: 10.1093/humrep/dez119
17. Gross N, Kropp J, Khatib H. MicroRNA Signaling in Embryo Development. *Biology (Basel)*. 2017; 6(3): 34. doi: 10.3390/biology6030034
18. McCallie B, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Aberration of blastocyst microRNA expression is associated with human infertility. *Fertil Steril*. 2010; 93(7): 2374-2382. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.01.069
19. Borges Jr. E, Setti AS, Braga DPAF, et al. miR-142-3p as a biomarker of blastocyst implantation failure – A pilot study. *JBRA Assist Reprod*. 2016; 20(4): 200-205. doi: 10.5935/1518-0557.20160039
20. Timofeeva A, Drapkina Y, Fedorov I, et al. Small Noncoding RNA Signatures for Determining the Developmental Potential of an Embryo at the Morula Stage. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(24): 9399. doi: 10.3390/ijms21249399

RNDr. Zuzana Badovská, PhD.

Ústav lekárskej a klinickej biochémie, LF UPJŠ

Trieda SNP 1, 040 11 Košice

e-mail:zuzana.badovska@upjs.sk

Kazuistika neurosyfilisu u 50-ročného pacienta 15 rokov po sérologickej confirmácii infekcie *Treponema pallidum*

Oxana Šulíková¹, Alena Koščálová^{2,3}

¹Klinická mikrobiológia, Medirex, a.s.

²Klinika infektológie a geografickej medicíny, UN Bratislava

³Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita

Syfilis je ochorenie vyvolané spirochétou *Treponema pallidum*. Ochorenie prebieha v niekoľkých štádiách, pričom posledné terciárne štádium syfilisu nastáva približne o 10–20 rokov po infekcii asi u tretiny neliečených pacientov. Klinicky sa môže prejaviť ako gumatózny syfilis, neurosyfilis alebo kardiovaskulárny syfilis.

V kazuistike je dokumentovaný zriedkavý prípad terciárneho štádia syfilisu u 50-ročného pacienta, u ktorého bola diagnóza syfilisu stanovená pred 15 rokmi. Pacient bol prijatý na Neurologickú kliniku pre nešpecifické neurologické ťažkosti v zmysle slabosti dolných končatín a dyzartrie. Po MRI vyšetrení, likvorovom a sérologickom vyšetrení autochtónnej produkcie protilátok proti *Treponema pallidum* bola stanovená diagnóza neurosyfilisu. Pacient bol preložený na Klinikum infektológie a geografickej medicíny. Po antibiotickej, kortikoidnej a analgeticko-myorelaxačnej liečbe s rehabilitáciou u pacienta dochádza k zlepšeniu stavu. V čase preloženia na Oddelenie dlhodobo chorých bol pacient bez úplného vyliečenia ad integrum.

Kľúčové slová: *Treponema pallidum*, syfilis, neurosyfilis, encefalomyelitída

The case report of neurosyphilis in a 50-year-old patient 15 years after *Treponema pallidum* infection

Syphilis is a disease caused by the spirochaete bacterium *Treponema pallidum*. The disease proceeds in several stages, with the last tertiary stage of syphilis occurring approximately 10-20 years after infection in about a third of untreated patients. Clinically, it can manifest as gummatous syphilis, neurosyphilis or cardiovascular syphilis. The case report documents a rare case of tertiary-stage syphilis in a 50-year-old patient diagnosed with syphilis 15 years ago. The patient was admitted to the Neurological Clinic for non-specific neurological problems regarding lower limb weakness and dysarthria. The diagnosis of neurosyphilis was established after an MRI examination, cerebral fluid, and serological examination of autochthonous production of antibodies against *Treponema pallidum*. The patient was transferred to the Clinic of Infectology and Geographical Medicine. The patient's condition improves after antibiotic, corticoid, and analgesic-myorelaxant treatment with rehabilitation. At the time of transfer to the Department of Long-Term Patients, the patient was without complete recovery ad integrum.

Keywords: *Treponema pallidum*, syphilis, neurosyphilis, encephalomyelitis

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 131-133

Úvod

Syfilis je celosvetovo rozšírené ochorenie, vyvolané spirochétou *Treponema pallidum*. K prenosu pôvodcu infekcie dochádza pohlavným stykom, tesným kontaktom so slizničnými a kožnými léziami, krvou alebo transplantátmi a transplacentárne.

Syfilis má 3 štádiá – primárne, sekundárne a terciárne. Tieto štádiá nemusia prebehnúť všetky, značná časť pacientov po prekonaní prvého alebo druhého štádia pôsobí ako zdraví⁽¹⁾.

Inkubačná doba infekcie je asi 3 týždne, po ktorých nastáva primárne štádium, ktoré sa môže prejaviť ako ulcus durum. Po 3–8 týždňoch dochádza k jeho spontánnemu zhojeniu aj bez terapie. V úvode nie je prítomná protilátková odpoveď organizmu. K tvorbe nešpecifických (reaginových) protilátok dochádza až cca o 10-15 dní od ulcus durum, t.j. až 4–5 týždňov po infekcii⁽²⁾.

Od 2–5 týždňov až 2 roky po zhojení primárnej lézie nastáva sekundárne štádium s nešpecifickými zápalovými príznakmi, kožnými (makulopapulózny exantém) a slizničnými léziami (condylomata lata). Tieto prejavy sa zhoja za 2–6 týždňov, avšak u neliečeného pacienta sa kožné relapsy môžu opakovať aj každé 2–4 roky. Nasleduje obdobie latencie, keď klesá titer reagínových nešpecifických protilátok, špecifické sú stále prítomné (tieto pretrvávajú u imunokompetentného jedinca po celý život – tzv. „syfilitická sérologická jazva“). Môže perzistovať intermitentná bakteriémia, hrozí riziko transplacentárneho prenosu. Postupne infekčnosť klesá, no v latentnej forme môžu treponémy prežívať v organizme až do konca života⁽²⁾.

Bez liečby syfilis zvyčajne o 10–20 rokov prechádza do terciárneho štádia. Gumatózne prejavy terciárneho štádia sú lokalizované najčastejšie v koži, kostiach, slizniciach a rôznych vnútorných orgánoch, pričom môžu a nemusia v nich byť prítomné treponémy.

Pri kardiovaskulárnom syfilise vzniká endarteritída v mieste proximálnej aorty, zápal môže byť aj v mieste koronárnych artérií a prejavíť sa ako syfilitická angína pectoris. Celý proces môže viesť až k aortálnej insuficiencii a diskujúcej aneurizme vzostupnej časti aorty^(2,3).

Neurosyfilis môže mať rôzne prejavy: chronická meningitída, vaskulárne a parenchymatózne lézie v mozgu a mieche, demyelinizačné zmeny, mozgová atrofia, tabes dorsalis a progresívna paralýza⁽²⁾. Na podklade autoimunitného procesu pri tabes dorsalis dochádza k zápalu a atrofii zadných koreňov miechy s následnou ataxiou a bolesťami. Prítomná môže byť aj atrofia optického nervu. Ochorenie začína bolesťami vystreľujúcimi do dolných končatín, ataxiou, dochádza k strate proprioceptívnych reflexov⁽⁴⁾. Poškodenie zadných koreňov je ťažké a rozsiahle.

K nákaze môže dôjsť aj transplacentárnou cestou, čo sa prejaví Hutchinsonovou triádou – hluchota, postihnutie zubov a keratitída až slepota⁽²⁾.

Zlatým štandardom v diagnostike sú sérologické testy na dôkaz protilátok. Vyšetrujú sa nešpecifické (netreponémové, napr. RRR – rýchla reagínová reakcia, RPR – rapid plasma reagin, VDRL – Venereal disease research laboratory) a špecifické protilátky (treponémové, napr. TPPA – Treponema Passive Particle Agglutination, TPHA – Treponema pallidum hemagglutination, anti-T.pallidum IgM+IgG pomocou imunoanalýzy).

Každý reaktívny nález v skriningových testoch proti *T. pallidum* je nutné potvrdiť konfirmačným testom v NRC (Národné referenčné centrum) pre syfilis. V diagnostike neurosyfilisu je základom dôkaz intratekálnej produkcie špecifických protilátok proti *Treponema pallidum*.

Kazuistika

Pacient bol pôvodne hospitalizovaný na Neurologickej klinike UNB akad. L. Déreza začiatkom septembra 2022 pre bolesti a slabosť oboch dolných končatín, neschopnosť stáť a pohybu. Pri prijatí bol pacient plne orientovaný, logoroický, s miernou dyzartriou. Dokázal sa posadiť bez ťažkostí, hybnosť všetkých končatín bola zachovaná, avšak pre slabosť dolných končatín sa nedokázal udržať na nohách. Po vstupných vyšetreniach bola realizovaná lumbálna punkcia. V likvore bol prítomný cytologický nález zmiešanej mononukleárne-granulocytárnej pleocytózy. Na CT mozgu bol nález bez ložiskových zmien intrakránia v natívnom CT obraze, cievy WO (Willisov okruh) boli primerane opacifikované bez stenóz a oklúzií. Bolo realizované MRI vyšetrenie mozgu, kde boli prítomné signálové zmeny supratentoriálne aj infratentoriálne, neostro ohraničené. Diferenciálne diagnosticky prichádzali do úvahy zápalovo-demyelinizačné zmeny, resp. ADEM (akútna diseminovaná encefalomyelitída). Bolo odporúčané pátrať po infekcie v anamnéze a korelovať nález s likvorologickým vyšetrením. V rámci diferenciálnej diagnostiky bola vylúčená neuroborelióza, HIV infekcia, boli vyšetrené autoprotilátky proti antigénom neurónov s negatívnym výsledkom. V sérologickom laboratóriu oddelenia mikrobiológie (Medirex, a.s.) bola dokázaná prítomnosť autochtónnej produkcie protilátok proti *Treponema pallidum* s indexom 6,25 (cut-off $\geq 6,0$). TPPA titer v sére bol 20 480 a v likvore 128. Z netreponémových testov bola realizovaná RPR s titrom 2 v sére a negatívnym výsledkom v likvore. Ná-

lez bol hlásený na Neurologickú kliniku a vzorka bola odoslaná do NRC pre syfilis v Košiciach. Pacient negoval syfilis v predchodoch, dodatočne však udával rizikové sexuálne kontakty v minulosti.

Po stanovení diagnózy neurosyfilisu bola začatá antibiotická liečba ceftriaxonom a pacient bol preložený na KIGM (Klinika infektológie a geografickej medicíny) UNB. Tam bola prehodnotená antibiotická liečba a po 5 dňoch zmenená na benzylpenicilín s podávaním à 6 h i.v. Postupne bolo doplnené MRI vyšetrenie miechy s nálezom multifokálneho postihnutia miechy v C úseku s maximom C2/3-C5 a longitudinálne postihnutie Th3-Th10. V koreláte s klinickým údajom neurosyfilisu išlo o obraz encefalomyelitídy. Neuroológom boli konštatované klinické prejavy difúzneho/diseminovaného postihnutia CNS – klinický stav s kolísaním symptomatiky. Za účelom ďalšej liečby a monitorovania pacienta bol pacient preložený na oddelenie JIS KIGM. Vzhľadom na progredujúcu dyzartriou a poruchu okulomotoriky bolo znova realizované akútne MRI mozgu (po 3 týždňoch od predchádzajúceho) s nálezom progresie rozsahu signálových zmien v.s. zápalového charakteru supra- a infratentoriálne, aj s okrskami postkontrastného sýtenia. Následne bola realizovaná kontrolná lumbálna punkcia (s odstupom 10 dní od prvej), kde v cytologickom náleze bol pozorovaný vzostup polynukleárných elementov. V sérologických parametroch bola znova potvrdená intratekálna tvorba protilátok proti *T. pallidum* s indexom 12,5 (cut-off $\geq 6,0$). Pre ďalšie významné zhoršovanie neurologického deficitu bolo pacientovi zmenené podávanie benzylpenicilínu na kontinuálne a do liečby pridaný intravenózný dexametazón. Následne bolo evidované markantné zlepšenie klinického stavu. Po rehabilitácii sa pacientovi postupne zlepšovala hybnosť končatín, vedel sa pohybovať na lôžku, s pomocou prešiel pár krokov, mierne sa zlepšila aj reč. Liečba penicilínom bola ukončená celkovo po 14 dňoch, dexametazónom po 9 dňoch. Pacient v celkovo stabilizovanom stave, s dyzartriou, ľahkou ľavostrannou hemiparézou, zlepšujúcou sa po rehabilitácii, plne orientovaný, bol preložený na Oddelenie dlhodobochorých v rájone. Dodatočne bol obdržaný výsledok z NRC pre syfilis s potvrdením pozitivity v netreponémových aj treponémových testoch v sére, s poznámkou evidencie pacienta v databáze NRC od roku 2007.

Diskusia

Incidenca prípadov syfilisu celosvetovo stále rastie. V roku 2019 bolo hlásených 35 039 prípadov v 29 členských štátoch EÚ, s incidenciou 7,4 prípadov na 100 000 obyvateľov (oproti roku 2015, keď bolo hlásených 27 976 prípadov, t. j. incidencia 5,9/100 000 obyv.). Na Slovensku bolo v roku 2019 hlásených 262 prípadov syfilisu⁽⁵⁾. V roku 2021 bol oproti roku 2020 podľa NCZI (Národné centrum zdravotníckych informácií) na Slovensku zaznamenaný 76 %-ný nárast syfilisu (294 prípadov vs. 167 prípadov v r. 2020)⁽⁶⁾. Dočasné zníženie počtu prípadov hlásených v SR v roku 2020 bolo pravdepodobne zapríčinené zhoršenou dostupnosťou zdravotnej starostlivosti v čase protipandemických opatrení proti COVID-19.

V roku 2019 bol syfilis hlásený takmer 9-krát častejšie u mužov ako u žien (s incidenciou 12,8 prípadov/100 000 obyvateľov u mužov vs. 1,5 prípadov/100 000 obyv. u žien). Medzi rizikové skupiny populácie patria muži, ktorí majú po-

hlavný styk s mužmi, drogový závislý, aj promiskuitní jedinici⁽⁵⁾.

Pacient, ktorého prípad je prezentovaný, mal diagnózu stanovenú už v roku 2007, keď údajne mal byť preliečený rajónnym dermatovenerológom. Keďže nemáme bližšie záznamy o absolvovanej terapii, môžeme sa len domnievať o udalostiach vedúcich k rozvoju neurosyfilisu. Mohlo ísť o nedostatočnú, resp. nedostatočne dlhú liečbu, alebo o neliečenú reinfekciu (vzhľadom k početným rizikovým kontaktom v minulosti).

Vzhľadom k tomu, že klinický obraz neurosyfilisu je veľmi premenlivý, stanovenie diagnózy na jeho základe je veľmi zložitý. Preto sa treba v diagnostike opierať o zobrazovacie a laboratórne diagnostické metódy. Medzinárodná Únia proti sexuálne prenosným infekciám (IUSTI – International Union against Sexually Transmitted Infections) a Centrá pre kontrolu a prevenciu chorôb (CDC – Centers for Disease Control and Prevention) stanovili štandardizované definície neurosyfilisu. Použili kombináciu klinického obrazu, sérologického dôkazu syfilisu (pozitívne TPHA/TPPA a/alebo FTA-ABS – Fluorescent treponemal antibody absorption test, ako aj pozitívny VDRL/RPR test) a abnormalít v likvore (pleocytóza – leukocyty, proteínoráchia)⁽⁷⁾. Podľa guideline stanoveného pre diagnostiku syfilisu (IUSTI) je VDRL v likvore pozitívny len u cca 1/3 pacientov s neurosyfilisom⁽⁸⁾. U nášho pacienta sa nerobil VDRL test, ale netreponémové protilátky sme vyšetrili testom RPR – boli prítomné len v sére.

Pozitívny TPHA/TPPA test v likvore nepotvrdzuje diagnózu, avšak pri negatívnom výsledku je diagnóza neurosyfilisu veľmi nepravdepodobná. Na vyhodnotenie miery významnosti TPPA v likvore je možné vypočítať niekoľko indexov, ktoré berú do úvahy prenos cez hematoencefalickú bariéru,

žiaden z nich však nepreukázal významné praktické využitie⁽⁸⁾. Treponémové testy v likvore sú citlivejšie ako VDRL, avšak ich špecifickosť je nižšia. Obmedzené údaje naznačujú, že TPPA (ako aj TPHA) test s titrom > 640 je špecifický pre diagnózu neurosyfilisu⁽⁹⁾. Podľa ďalšieho zdroja⁽⁷⁾ sa zistilo, že titer TPPA > 320 alebo > 640 má vysokú špecifickosť pre neurosyfilis (89–96 %), ale nízku citlivosť (12–48 %).

Prezentovaný prípad tento titer nedosahoval (výsledok TPPA bol 128), index intratekálnej syntézy špecifických protilátok bol v prvej vzorke tesne nad hranicou cut-off (6,25; pri cut-off >=6,0). Napriek tomu po zhodnotení klinického obrazu (nejasná dĺžka trvania ťažkostí – non-compliance pacienta pri odoberaní anamnézy), nálezu MRI vyšetrenia, likvorového nálezu (pleocytóza, proteínoráchia) a pozitivity TPPA v sére/likvore bola stanovená diagnóza neurosyfilisu.

Podľa kritérií CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁽¹⁰⁾ by sme prezentovaný prípad definovali ako pravdepodobný neurosyfilis. Avšak pre porovnanie – podľa nemeckého odborného usmernenia, vzhľadom na detekciu intratekálnej syntézy špecifických protilátok ide o preukázaný neurosyfilis⁽¹¹⁾.

Záver

Prezentovaný prípad pacienta, ktorému bola diagnóza neurosyfilisu stanovená pomerne krátko po hospitalizácii pre neurologické polymorfné príznaky, poukazuje na nevyhnutnosť paralelného vyšetrenia séra a likvoru so stanovením intratekálnej syntézy protilátok. Cieľom článku bolo opísať nešpecifické klinické prejavy neurosyfilisu a zdôrazniť potrebu spolupráce neurológa, infektológa a klinického mikrobiológa pri stanovení diagnózy.

LITERATÚRA

1. Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman M, et al. Mimsova lékařská mikrobiologie. Praha: Triton. 2016; ISBN 978-80-7387-928-0, 255-259.
2. Liptáková A, a kol. Lékařská mikrobiologie. Herba. 2019; 419-422.
3. Beneš J. Infekční lékařství. Praha: Galen. 2009; ISBN 978-7262-644-1, 292-295.
4. Vaňousová D, Černý R, Zákoucká H, a spol. Neurosyfilis. In: Cesk Slov Neurol N 2012; 75/108(3): 297-302.
5. Syphilis Annual Epidemiological Report for 2019. European centre for disease prevention and control [online]. 2022. [cit. 2023-03-19]. Dostupné na: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/syphilis-annual-epidemiological-report-2019.pdf>
6. NCZI: Pohlavné choroby na Slovensku v roku 2021. Národné centrum zdravotníckych informácií [online]. 2022. [cit. 2023-03-19]. Dostupné na: <https://www.nczisk.sk/Aktuality/Pages/NCZI-Pohlavne-choroby-na-Slovensku-v-roku-2021.aspx>

7. Alberto C, Deffert C, Lambeng N, et al. Intrathecal Synthesis Index of Specific Anti-*Treponema* IgG: a New Tool for the Diagnosis of Neurosyphilis. In: Microbiol Spectr. (2022) 10:e0147721. doi: 10.1128/spectrum.01477-21.
8. 2020 European guideline on the management of syphilis. [cit. 2023-03-19]. Dostupné na: <https://iusti.org/wp-content/uploads/2020/11/2020-Syphilis-guideline.pdf>
9. Marra CM, Maxwell CL, Dunaway SB, et al. Cerebrospinal Fluid Treponema pallidum Particle Agglutination Assay for Neurosyphilis Diagnosis. J Clin Microbiol. 2017 Jun; 55(6): 1865-1870. doi: 10.1128/JCM.00310-17
10. Syphilis (*Treponema pallidum*) 2018 Case Definition. [cit. 2023-03-19]. Dostupné na: <https://ndc.services.cdc.gov/case-definitions/syphilis-2018/>
11. Klein M, Angstwurm K, Esser S, et al. German guidelines on the diagnosis and treatment of neurosyphilis. Neurol. Res. Pract. 2, 33 (2020). <https://doi.org/10.1186/s42466-020-00081-1>

MUDr. Oxana Šulíková

Klinická mikrobiológia, Medirex, a.s.
Galvaniho 17/C, 821 04 Bratislava
e-mail:oxana.sulikova@medirex.sk

Elastofibroma in the rearfoot. Report of a rare case

Michal Zámečník, MD^{1,2}, Juraj Masaryk, MD³

¹Medicyt, a. s., Laboratory of Surgical Pathology, Trenčín, Slovak Republic

²Agel, a. s., Laboratory of Surgical Pathology, Nový Jičín, Czech Republic

³Department of Orthopaedics, Faculty Hospital, Trenčín, Slovak Republic,

Elastofibroma in extremely rare location of rearfoot is described. The tumor occurred in 57-ys-old man with recent history of arthrosis of the 1st metatarsophalangeal joint and with history of unspecified trauma of rearfoot in childhood. The 1.2 cm lesion showed typical histological and immunohistochemically features of elastofibroma. It was paucicellular and composed of bland fibroblasts and mature appearing fat cells, with dense intercellular collagenous matrix that contained numerous elastic fibers. The fibroblasts of the lesion expressed CD34 and were negative for alpha smooth muscle actin, desmin, S100 protein and beta-catenin. The case demonstrates that the diagnosis of elastofibroma should be considered also by examination of non-periscapular lesions. From pathogenetic point of view, the tumor in present case was caused probably by chronic minor trauma, like it is supposed for common periscapular elastofibromas.

Keywords: elastofibroma, soft tissue, rearfoot, CD34, arthrosis, trauma

Elastofibróm na päte. Popis zriedkavého nálezu

V kazuistike je popísaný elastofibróm v enormne zriedkavej lokalizácii na päte. Jednalo sa o 1,5 cm-ový tumor pravej päty u 57-ročného muža, s trojročnou anamnézou artrózy prvého metatarzofalangeálneho kĺbu a s históriou úrazu päty v mladosti. Tumor bol priemeru 1,2 cm a mal typické histologické a imunohistochemické znaky elastofibrómu, s hypocelulárnou blandnou populáciou fibroblastov, zrelými adipocytmi, početnými elastickými vláknami, imunohistochemickou expresiou CD34 a negativitou na aktín, desmín a beta-katenín. Prípád ukazuje, že diagnózu elastofibrómu je potrebné zvažovať aj pri léziách mimo typickej periskapulárnej lokalizácie. Pravdepodobnou patogenézou popísaného tumoru je chronická mechanická traumatizácia tkaniva, podobne ako sa predpokladá u „konvenčných“ periskapulárnych elastofibrómov.

Kľúčové slová: elastofibróm, mäkké tkanivá, päta, artróza, trauma

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 134-136

Introduction

Elastofibroma, described firstly by Jarvi and Saxen^(1,2) is a benign soft tissue lesion composed of fibroblasts which produce abundant elastic type fibers^(3,4). It occurs usually in the subscapular region in the elderly population. According original studies, it is predominant among females⁽¹⁻³⁾; but another large series of 122 cases shows mild male predominance⁽⁴⁾. Subscapular region is typical for elastofibroma (it is almost diagnostic of it), whereas other locations are very rare⁽⁴⁾. Recently, we have seen elastofibroma arising atypically in the rearfoot. To our knowledge, only one case was reported in this location before⁽⁵⁾. We would like to present our case here.

Report of the case

In a 57-ys-old man, extirpation of the right rearfoot tumor along with arthrodesis of 1st metatarsophalangeal joint were performed. The patient had arthrosis of 1st metatarsophalangeal joint and long-lasting snapping sensations and mild pain of the rearfoot especially by walking. He mentioned rearfoot trauma by intense landing after a jump in his youth, with subsequent long lasting pain. Magnetic resonance imaging of the right foot revealed 1,2 cm tumoroid lesion in the

region of the origin of the plantar band and adjacent soft tissues (**figure 1**).

Figure 1. Coronal magnetic resonance image of the foot shows tumoroid lesion (arrow) with signal density that corresponds with lesion's fibroadipous histology.



Figure 2. Elastofibroma showing typical features, such as paucicellular population of bland fibroblastic cells, abundant and deeply eosinophilic elastic fibers, and mature adipose tissue.

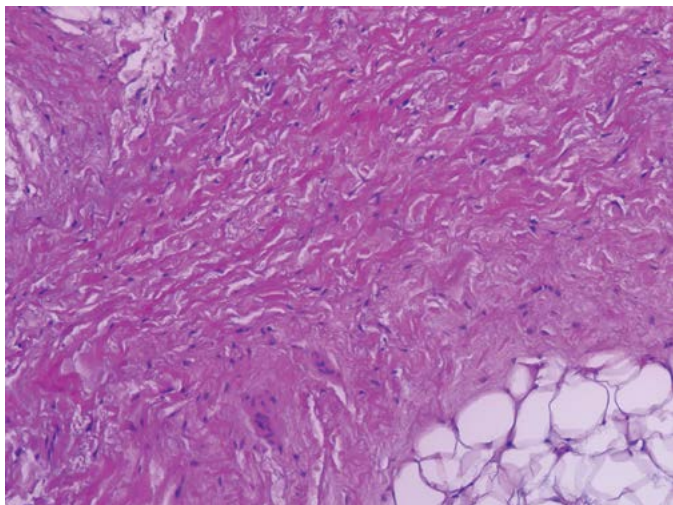


Figure 3. Elastofibroma contains numerous elastic fibers which are positive by orcein stain.

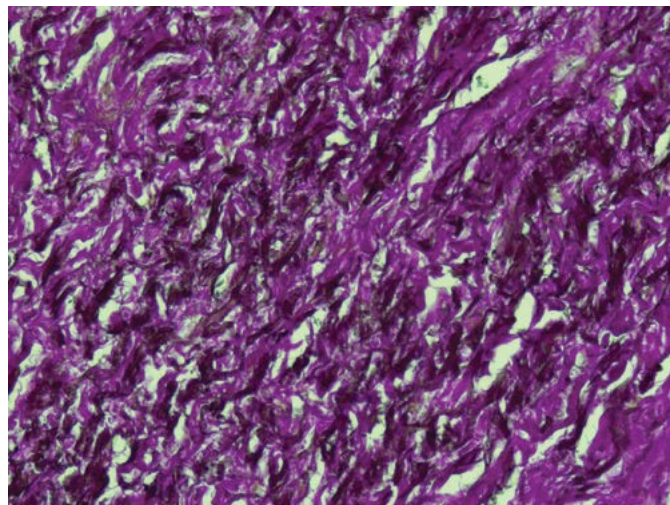


Figure 4. Immunohistochemical expression of CD34 in fibroblastic cells of elastofibroma.

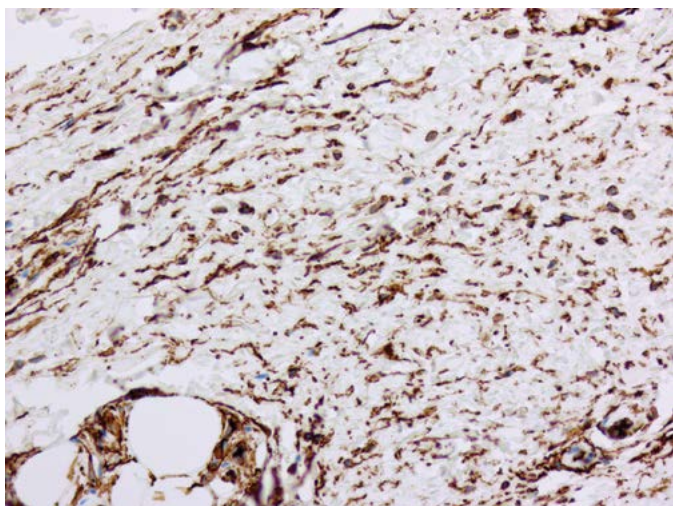
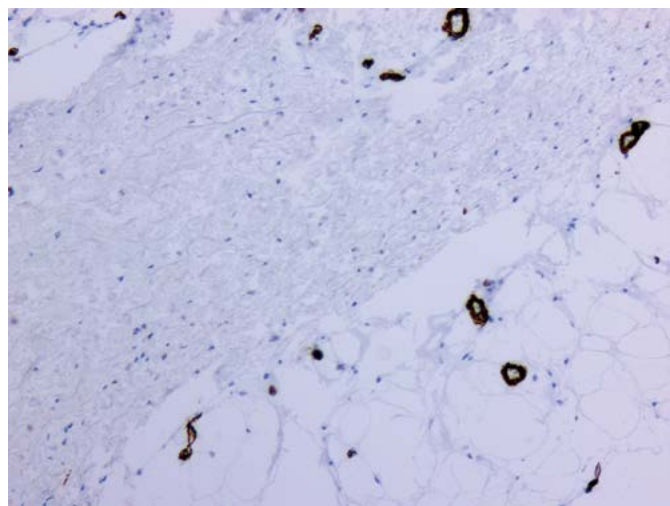


Figure 5. Alpha-smooth muscle actin is negative, with positivity limited to pericytes (serving as internal control).



Other medical history of the patient included autoimmune thyroiditis, stage 2 hypertension, celiac disease, duodenal ulcer, and sigmoid diverticulosis. Family history of the patient did not include any soft tissue lesions.

After the extirpation of the rearfoot lesion, two pieces of tissue was submitted for histologic examination. **Grossly**, the fragments were of irregular shape, measuring 1,5 cm x 1 cm x 0,5 cm and 1,5 cm x 1 cm x 0,5 cm, respectively. They were of fibrous and lipomatous appearance, without necrosis and hemorrhage. **Histologically**, the lesion was unencapsulated and it was composed of paucicellular population of bland fibroblasts, with collagenous matrix containing abundant elastic fibers (stained positively by orcein stain) (**figures 2 and 3**). Groups of adipocytes were seen between strands of mentioned fibrous tissue. Immunohistochemically, the fibroblastic cells were positive for CD34 (**figure 4**), and were negative for alpha-smooth muscle actin (**figure 5**), desmin, S100 protein and beta-catenin. Adipocytes expressed S100

protein. Based upon these findings the diagnosis of elastofibroma was rendered.

Discussion

In our case, pathologic finding was typical for elastofibroma. The lesion was paucicellular and composed of bland fibroblasts and mature appearing fat cells, with dense intercellular collagenous matrix that contained numerous elastic fibers. Immunohistochemically, the fibroblasts were positive for CD34, and negative for muscle markers such as alpha-smooth muscle actin and desmin. This phenotype is characteristic for elastofibroma^(4,6).

Interesting finding in our case represents the atypical location in the rearfoot. As mentioned above, common elastofibromas occur in subscapular area. Rare cases were reported in other regions, such as the hand⁽⁷⁾, thigh⁽⁸⁾, deltoid muscle⁽⁹⁾, gluteal region⁽¹⁰⁾, axilla⁽¹¹⁾, neck⁽¹²⁾, face⁽¹³⁾, and oral mucosa⁽¹⁴⁾, old thoracotomy scar⁽¹⁵⁾, in the shoulder intra-ar-

ticularly⁽¹⁶⁾, at the umbilicus and aortic valve⁽¹⁷⁾ and in the colon⁽¹⁸⁾. Three cases were reported in the forefoot⁽¹⁹⁻²¹⁾. In the rearfoot, only one case was described before⁽⁵⁾. Pirak et al. reported elastofibroma of the rearfoot in a 79-year-old female. Unlike our case, this patient had no history of trauma or arthrosis, and etiology of the lesion in their case appears to be unclear. In our case, the patient history includes 3 years lasting arthrosis of 1st metatarsophalangeal joint and mild pain of the rearfoot by walk. In addition, the patient stated the he had any jump-landing trauma of the rearfoot in his youth. We suppose that an evolution of elastofibroma in our case is explainable by the chronic minor traumatization of the area due to mild anatomical and functional deviation, caused by arthrosis and posttraumatic changes. This is consistent with suggested pathogenesis of common elastofibromas of periscapular region. This currently proposed pathogenesis consists of repeated mechanical trauma, elastic degeneration of collagen fibers, and contributing genetic

factors⁽¹⁻⁴⁾. It is interesting, however, that some recent studies indicate that elastofibroma can represent a true neoplasm. Elastofibromas showed chromosomal instability⁽²²⁻²⁵⁾, and analysis of human androgen receptor (HUMARA) locus has revealed nonrandom X-chromosome inactivation, supporting clonal nature of the lesion⁽⁶⁾. It is possible that chronic irritation of fibrous tissue give rise to clonal neoplastic proliferation of fibroblastic cell. For more exact knowledge of the pathogenesis, additional studies (particularly molecular genetic) are needed.

In sum, we described elastofibroma in rare location of the rearfoot. The case demonstrates that diagnosis of elastofibroma should be considered also by examination of non-periscapular lesions. In our case, the lesion showed typical histological and immunohistochemical features of this tumor. It seems that also from pathogenetic point of view the tumor in our case was caused by chronic minor trauma, like it is supposed for common periscapular elastofibromas.

REFERENCES

- Järvi OH, Saxen AE. Elastofibroma dorsii. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1961; 144 (suppl): 83-84.
- Järvi OH, Saxen AE, Hopsu-Havu VK, et al. Elastofibroma: a degenerative pseudotumor. *Cancer* 1969; 23(1): 42-63.
- Nagamine N, Nohara Y, Ito E. Elastofibroma in Okinawa: a clinicopathologic study of 170 cases. *Cancer* 1982; 50(9): 1794-1805.
- Miettinen M. Fibromas and benign fibrous histiocytomas. In: *Miettinen M. ed. Modern Soft Tissue Pathology. Tumors and Non-Neoplastic Conditions* (1st ed.), New York: Cambridge University Press, 2010: 207-208.
- Pirak J, Brandeisky JA, Simon P, et al. Elastofibroma in the rearfoot: a case report of a rare soft tissue tumor. *J Foot Ankle Surg* 2020; 59(3): 587-589.
- Hisaoaka M, Hashimoto H. Elastofibroma: clonal fibrous proliferation with predominant CD34-positive cells. *Virchows Arch* 2006; 448(2): 195-199.
- Kapff PD, Hocken DB, Simpson RH. Elastofibroma of the hand. *J Bone Joint Surg Br* 1987; 69(3): 468-469.
- Kransdorf MJ, Meis JM, Montgomery E. Elastofibroma: MR and CT appearance with radiologic-pathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 1992; 159(3): 575-579.
- Mirra JM, Straub LR, Järvi OH. Elastofibroma of the deltoid a case report. *Cancer* 1974; 33(1): 234-238.
- Cevolani L, Casadei R, Vanel D, et al. Elastofibroma of the gluteal region with a concomitant contralateral lesion: case report and review of the literature. *Skeletal Radiol* 2017; 46(3): 393-397.
- Deusch GP. Elastofibroma dorsalis treated by radiotherapy. *Br J Radiol* 1974; 47(561): 621-623.
- Chen F, Lu D, Tang Y, et al. An unusual case of elastofibroma in the neck. *West Indian Med J* 2014; 63(2): 189-191.
- Fardisi S, Ashraf MJ, Zarei MR, et al. Elastofibroma of the face: a case report. *J Dent (Shiraz)* 2015; 16(1 Suppl): 73-75.
- Nonaka CF, Rego DM, Miguel MC, et al. Elastofibromatous change of the oral mucosa: case report and literature review. *J Cutan Pathol* 2010; 37(10): 1067-1071.
- Peters JL, Fisher CS. Elastofibroma: case report and literature review. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1978; 75(6): 836-838.
- Bae SJ, Shin MJ, Kim SM, et al. Intra-articular elastofibroma of the shoulder joint. *Skeletal Radiol* 2002; 31(3): 171-174.
- Haihua R, Xiaobing W, Jie P, et al. Retrospective analysis of 73 cases of elastofibroma. *Ann R Coll Surg Engl* 2020; 102(2): 84-93.
- Liu S, Tritsch AM. Elastofibroma: a rare benign finding in the colon. *Am J Gastroenterol* 2019; 114(1): 12.
- Cross DL, Mills SE, Kulund DN. Elastofibroma arising in the foot. *South Med J* 1984; 77(9): 1194-1196.
- Geddy PM, Campbell P, Goulesbrough DR. Elastofibroma of the forefoot. *J Foot Ankle Surg* 1994; 33(5): 472-474.
- McPherson FC, Norman LS, Truitt CA, et al. Elastofibroma of the foot: uncommon presentation: a case report and review of the literature. *Foot Ankle Int* 2000; 21(9): 775-777.
- McComb EN, Feely MG, Neff JR, et al. Cytogenetic instability, predominantly involving chromosome 1, is characteristic of elastofibroma. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 126(1): 68-72.
- Vanni R, Marras S, Faa G, et al. Chromosome instability in elastofibroma. *Cancer Genet Cytogenet* 1999; 111(2): 182-183.
- Batstone P, Forsyth L, Goodlad J. Clonal chromosome aberrations secondary to chromosome instability in an elastofibroma. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 128(1): 46-47.
- Nishio JN, Iwasaki H, Ohjimi Y, et al. Gain of Xq detected by comparative genomic hybridization in elastofibroma. *Int J Mol Med* 2002; 10(3): 277-280.

M. Zamecnik, MD

Medicyt, s.r.o., lab. Trencin

Legionarska 28

91171 Trencin

Slovak Republic

e-mail: zamecnikm@seznam.cz

Biomarkery nádorových ochorení prostaty a ich korelácia s multiparametrickým MRI vyšetrením

Dávid Kocan, Pavol Janega

Ústav patologickej anatómie LF UK a UN Bratislava

Cieľom tohto systematického prehľadu je vyhodnotiť vzájomné postavenie mpMRI a nových biomarkerov v diagnostike nádorov prostaty (PCa). V súčasnosti používané markery nádorov prostaty nevykazujú dostatočnú špecifickosť a senzitivitu pri stanovení diagnózy. Na druhej strane „boom“ v podobe nových biomarkerov spravil skrining a surveillance komplikovanejšími. Práve multiparametrické MRI (mpMRI) a PIRADS 2.1. prinášajú významný benefit pri hodnotení PCa. Nové biomarkery v kombinácii s mpMRI ako diagnostický algoritmus umožňuje spresniť potrebu bioptického vyšetrenia pri klinicky významnom ochorení. Individualizuje sa tak ďalší terapeutický manažment u pacienta.

Kľúčové slová: nádory prostaty, biomarkery, multiparametrické MRI

Prostate cancer biomarkers and their correlation with multiparametric MRI examination

This systematic review aims to evaluate the mutual position of multiparametric MRI (mpMRI) and novel biomarkers in prostate cancer (PCa) diagnosis. Recently used biomarkers do not report sufficient specificity and sensitivity for the diagnosis. On the other hand „boom“ of novel biomarkers has complicated screening and surveillance. MpMRI with PIRADS 2.1 brings significant benefits to PCa diagnostic process. Novel biomarkers in combination with mpMRI could make the diagnostic process more accurate if a biopsy is necessary for aggressive PCa forms. It personalises further therapeutic patient management.

Keywords: prostate cancer, biomarkers, multiparametric MRI

NewsLab, 2023; roč. 14 (2): 137-140

Úvod

Nádory prostaty (PCa) predstavujú významnú skupinu onkologických ochorení u mužov. Incidencia a mortalita narastá vzhľadom na predlžujúcu sa strednú dĺžku života populácie. Podľa údajov Svetovej zdravotníckej organizácie len v roku 2020 pribudlo v európskom regióne celkovo 473 344 nových prípadov tohto nádorového ochorenia⁽¹⁾.

Postavenie MRI v diagnostickom procese PCa

Podľa štandardizovaných postupov National Comprehensive Cancer Network (NCCN) je mpMRI požívaná pre staging a charakterizáciu PCa. Služi tiež na lepšiu stratifikáciu rizika u pacientov s PCa (Grade Group ≥ 2) a detekcie extrakapsulárneho šírenia (T staging) mpMRI v porovnaní s CT modalitou. Odporúčania Európskej urologickej asociácie (EAU) vyžadujú použitie mpMRI pred biopsiou prostaty u predtým neliečených pacientov t. č. so suspektným PCa^(2,3).

Nové biomarkery s diagnostickým algoritmom využitia MRI

Biomarkery a mpMRI sú sľubným nástrojom pre diagnostiku, prognózu a monitoring PCa. Napriek vysokej senzitivite mpMRI v detekcii high-grade PCa táto modalita má aj viaceré nevýhody – nízku špecifickosť, vysokú cenu a náročnosť na vybavenie, samozrejme, aj odborné požiadavky na samotného examinátora. Doterajšie výskumy sa zameriavajú na porovnanie biomarkerov s mpMRI a ich prípadnú vzájomnú komplementaritu⁽⁴⁾. Podrobnejší prehľad uvádza **tabuľka 1**.

Budúcnosť postavenia magnetickej rezonancie v skriningu PCa

Viaceré práce sa zaoberajú hodnotením realizovateľnosti tzv. MRI-only skriningu a hodnotia, či takýto prístup dokáže nahradiť testovanie PSA. Predbežné výsledky jednotlivých prác takúto tézu potvrdzujú, hoci absentuje dlhodobý horizont testovania. Zároveň existujú limitácie a prekážky pre implementáciu takéhoto MRI skriningu – dostupnosť, nákladová efektívnosť, kvalitatívny rozdiel medzi realizáciou MRI vyšetrenia a jeho interpretáciou⁽⁵⁾.

Štúdie venované „MRI only“ prístupu v skriningu

PRECISION štúdia

Ide o multicentrickú randomizovanú štúdiu, ktorá prezentuje nadradenosť MRI cielenej biopsie pred štandardnou transrektálnou. Výsledky štúdie ďalej dokazujú, že výťažnosť MRI cielenej biopsie je závislá od samotnej kvality vyšetrenia, kde však absentuje skórovací systém na jej hodnotenie. Táto štúdia zavádza skórovací systém Prostate Imaging Quality (PI-QUAL). Obsahuje škálu od 1 do 5, kde 1 znamená, že žiadaná MRI sekvencia nie je v diagnostickej kvalite, a 5 znamená, že, naopak, každá zo sekvencií je v optimálnej diagnostickej kvalite. Celkovo 58 z 252 (23 %) mpMRI vyšetrení bolo náhodne vybraných na vyhodnotenie dvoma skúsenými rádiológmi. Kvalita hodnotených mpMRI bola v požadovanej diagnostickej kvalite (PI-QUAL ≥ 3) v prípade 55 (95 %) vyšetrení a 35 vyšetrení (60 %) bolo v optimálnej kvalite (PI-QUAL ≥ 4)⁽⁶⁾.

Tabuľka 1. Nové biomarkery a ich postavenie voči multiparametrickému MRI

Názov	Vzorka	Biopsia (iniciálna, opakovaná)	Postavenie voči mpMRI
PHI	krvné sérum	iniciálna, opakovaná	zvyšuje presnosť predikcie klinicky významného PCa a redukuje počet nevyhnutných biopsií, podľa PRIM štúdie je nezávislý prediktívny faktor pozitívneho MRI nálezu
4KScore	krvné sérum	iniciálna, opakovaná	vzájomná korelácia zlepšuje prognostický odhad agresívnej formy PCa, redukuje počet nevyhnutných biopsií
STHLM3	krvné sérum	iniciálna	lepšia stratifikácia pacientov na cieľnú biopsiu po predchádzajúcom mpMRI (42 % redukcia počtu biopsií)
Progensa PCA3	moč	opakovaná	vysoké PCA3 skóre v kombinácii s mpMRI zvyšuje negatívnu prediktívnu hodnotu na 95 %
SelectMDX	moč	opakovaná	vzájomná korelácia a lepšia stratifikácia pacientov s léziami PIRADS 3 a 4 a PIRADS 4 a 5
MiPS	moč	iniciálna, opakovaná	t. č. bez vyhodnotenia vzájomnej korelácie
ConfirmMDx	tkanivo	opakovaná	negatívny ConfirmMDx dobre koreluje s negatívnym mpMRI vyšetrením
OncotypeDx	tkanivo	opakovaná	vzájomné komplementárne po predchádzajúcom pozitívnom bioptickom náleze
Prolaris	tkanivo	opakovaná	vzájomná kombinácia pomáha identifikácii agresívnych PCa s dôrazom na extrakapsulárne šírenie najmä low-grade lézií

Vlastné spracovanie podľa Saltman et al. a Tidd-Johnson et al.^(13,19)

PROCLARIX

Cieľom štúdie Proclarix je overenie nového biomarkera na identifikáciu klinicky významného ochorenia samostatne alebo v kombinácii s mpMRI. Do štúdie bolo zahrnutých celkovo 721 vzoriek mužov, ktorí absolvovali mpMRI nasledovanú biopsiou. Diagnostický význam takto kombinovanej metódy testovania v korelácii s biopsiou bol porovnávaný s dostupnými klinickými údajmi a kalkulátormi rizika. V prípade kombinácie oboch spomínaných metód Proclarix spoľahlivo predikuje klinicky významný PCa a vylučuje pacientov bez PCa alebo indolentné formy, tiež je redukovaný počet biopsií o vyše dve tretiny. Proclarix tiež spoľahlivo deteguje klinicky významný PCa u pacientov so skóre PI-RADS 3⁽⁷⁾.

IP1 PROSTAGRAM

IP1-PROSTAGRAM bola prospektívna štúdia s kohortou 408 mužov vo veku 50 – 69 rokov, realizovaná v období od októbra 2018 do mája 2019. Cieľom bolo vyhodnotenie stratégie testovania PCa kombináciou PSA a MRI. Pacienti absolvovali odber PSA, MRI a transrektálnu ultrasonografiu. V prípade pozitívneho nálezu bola realizovaná 12-vzorková systematická biopsia. Z výsledkov vyplýva, že existuje vzájomný vzťah medzi znížením počtu biopsií a zachovaním detekcie ochorenia v štádiu grade 2. Rameno štúdie s MRI vyšetrením u pacientov s hladinou PSA nad 1 ng/ml je vhodnou skrínigovou stratégiou, ktorá však vyžaduje ďalšie overenie⁽⁸⁾.

Štúdia reIMAGINE

reIMAGINE skrínigová štúdia PCa je prebiehajúcou prospektívnou single-centre štúdiou. Mužov vo veku 50 – 75 rokov bez predošlej anamnézy identifikovali praktickí lekári, náhodne boli pozývaní na MRI vyšetrenie a odber PSA. V troch fázach bolo do štúdie v rokoch 2019 a 2020 zahrnutých celkovo 1 066 pacientov. Štúdia si kladie za cieľ vyhodnotiť prijateľnosť skrínigu PCa na báze MRI a vyhodnotenia prevalencie nádorového ochorenia, ďalej tiež v dlhodobom horizonte zhodnotiť molekulárne determinanty progresie ochorenia⁽⁹⁾.

STOCKHOLM 3

Model STHLM3 pozostáva z kombinácie sérových biomarkerov (free PSA, PSA, intact PSA), MSMB (microsemino-

protein beta), MIC1 (macrophage inhibitory cytokine-1), hk2, genetického polymorfizmu (232 SNPs) a klinických údajov ako vek, predchádzajúce biopsie alebo predchádzajúce vyšetrenia prostaty. V období rokov 2012 až 2015 absolvovalo 59 149 pacientov vo veku medzi 50 – 69 test PSA a S3M. Realizácia MRI a S3M s rizikom na úrovni nad 10 % redukuje počet MRI a biopsií prostaty o 38 %. Zároveň platí, že S3M-MRI predikčný model je nadradený v predikcii International Society of Urological pathology (ISUP) grade > 2 PCa ako samostatne použitý S3M model alebo samostatné MRI. Tento test bol validovaný na kohorte 60 000 mužov a preukazuje spoľahlivé výsledky v odlíšení indolentných a klinicky významných ochorení a zároveň je nadradený testovaniu PSA. Zároveň platí, že je klinicky dostupný iba v severských štátoch (Dánsko, Nórsko, Švédsko a Fínsko)⁽¹⁰⁾.

MVP štúdia

Cieľom štúdie Nam a kol. bolo porovnať úroveň detekcie PCa medzi pacientmi s odberom sérového PSA a magnetickou rezonanciou v rámci skrínigu PCa. Táto randomizovaná štúdia bola realizovaná na vzorke 525 pacientov starších ako 50 rokov, bez predchádzajúceho PSA skrínigu a biopsie (266 pacientov v skupine PSA, 248 pacientov v skupine MRI). Pacienti podstúpili biopsiu, ak hodnota PSA bola $\geq 2,6$ ng/ml (PSA skupina) alebo ak hodnota lézie podľa PIRADS skóre bola 4 a 5 (MRI skupina). V skupine PSA 48 pacientov malo zvýšené PSA a 28 (58 %) absolvovalo biopsiu prostaty. V skupine MRI bolo 25 pacientov so skóre PIRADS 4 alebo 5 a 24 (96 %) absolvovalo biopsiu. Počet pozitívnych prípadov bol v skupine PSA 29 % (8 z 28) vs 63 % (15 z 24) v MRI skupine, teda vyšší počet zachytených klinicky významných foriem ochorenia (73 % vs 50 %). Platí teda, že MRI prostaty je samostatne figurujúci skrínigový nástroj, ktorý zároveň redukuje početnosť biopsií prostaty⁽¹¹⁾.

MRI surveillance

Prospektívna štúdia zahrnujúca 172 mužov si kladla za cieľ vyhodnotiť strednodobé výsledky aktívneho surveillance s využitím série MRI vyšetrení nahradzujúcich konfirmačnú biopsiu. Do súboru boli zahrnutí muži s PCa, Gleason 3 + 3 = 6 alebo Gleason 3 + 4 = 7. Pacienti absolvovali prvotné MRI a iniciálnu systémovú/cieľnú biopsiu a následne MRI vyšet-

renie v prvom, druhom a treťom roku po biopsii, v korelácii s PSAD. Senzitivita, špecifická, pozitívna a negatívna prediktívna hodnota MRI pre klinicky významné ochorenie predstavovala 57 % (82 %, 50 %, a 86 %). Významnými prediktormi pre progresiu ochorenia sú teda mpMRI aj PSAD. Výsledky poukazujú na to, že je možné vynechať konfirmačnú biopsiu v intervale jedného roka počas aktívneho sledovania, ak bolo predtým realizované iníciaľne MRI vyšetrenie v kombinácii so systémovou a cieleňou biopsiou. V intervale troch rokov sa však odporúča systémová biopsia pre výskyt v MRI zobrazení nedetegovaných tumorov⁽¹²⁾.

Platí, že mpMRI prostaty je nástrojom detekcie/vylúčenia klinicky významného nádorového ochorenia s potenciálnou potrebou následnej biopsie. V prípade absencie suspektných lézií je viac než 90 % pravdepodobnosť vylúčenia high-risk PCa. Z uvedeného vyplýva, že mpMRI znižuje počet nepotrebných biopsií a pri pozitívnych nálezoch zároveň znižuje počet nadhodnotených indolentných foriem ochorenia. Redukuje sa tak celkový počet vyšetovaných vzoriek.

Diskusia

Limitácie a budúce perspektívy nových biomarkerov a mpMRI

V práci Saltman a kol. skúmali vplyv mpMRI a deviatich odlišných biomarkerov v diagnostike a hodnotení PCa. Rozčlenili ich do troch samostatných kategórií: testy pre pacientov bez predchádzajúcej biopsie (Prostate Health Index, Mi Prostate Score, 4 K Score), testy pre pacientov po predchádzajúcej negatívnej biopsii (ConfirmMDx, ProgenSA PCA3) a pacientov v aktívnom sledovaní (OncotypeDx, Prolaris, Decipher). Dáta získané pre jednotlivé testy nie sú aktuálne dostatočné na to, aby bol jednoznačne definovaný synergický efekt mpMRI a nových biomarkerov pre diagnostiku a terapeutický manažment PCa⁽¹³⁾.

Samostatným aspektom mpMRI je presnosť interpretácie nálezov z rezonancií dostatočne kvalifikovaným rádiológom. Gaur a kol. v multicentrickej štúdií preukázali zvýšenie špecificity MRI nálezov pri detekcii v PIRADS skóre lézií na báze umelej inteligencie (AI). Najvýraznejší prínos sa ukázal pri léziách z tranzitórnej zóny, kde senzitivita s využitím AI dosiahla úroveň 83,8 % v porovnaní bez jej využitia – 66,9 %⁽¹⁴⁾.

Podľa práce Lomas a kol. AI bude čoraz častejšie využívaná ako komplementárna technológia v rámci interpretácie MRI nálezov prostaty. Samotná AI ako aj machine learning budú nápomocné v rámci presnejšej diagnostiky PCa. Recentne publikované práce preukazujú sľubné výsledky v rámci pozitívnej predikcie ochorenia v jednotlivých výskumných modeloch v porovnaní s doterajšími metodikami⁽¹⁵⁾.

Práca Suarez-Ibarrola rozoberá problematiku machine learning-u (ML) v diagnostike o. i. karcinómu obličky a močového mechúra, pričom prínos ML spočíva vo vzájomnom lepšom odlíšení benígnych a malígnych foriem nádorových ochorení obličky. V prípade karcinómov močového mechúra je prínosom pri diferenciacii low- a high-grade tumorov⁽¹⁶⁾.

Pokročilé MRI zobrazovanie s využitím difúzne váženého zobrazenia (DWI) a dynamického vyšetrenia kumulácie kontrastnej látky (DCE) hrajú zásadnú rolu v diagnostike nádorových ochorení maternice s dôrazom na invázny rast do myometria a cervixu. Práve kombinácia MRI techník s AI výrazne zlepšuje case-management uterinných malignít a zlepšuje výsledný efekt liečby⁽¹⁷⁾.

Štúdia realizovaná Feliciani a kol. o potenciálnej úlohe rádiomických biomarkerov na báze MRI v charakteristike testikulárnych lézií poukazuje na užitočnosť MRI zobrazenia skróta v diagnostike nádorových ochorení semenníkov. Umožňuje vzájomné odlíšenie nádorov zo zárodočných buniek od negerminatívnych a seminómov od ostatných histologických skupín⁽¹⁸⁾.

Záver

Z doterajších publikovaných prác vyplýva, že na určenie vzájomného vplyvu mpMRI a nových biomarkerov na diagnostiku a klinický manažment PCa je potrebné ďalšie skúmanie. Platí však, že takýto nový diagnostický algoritmus umožňuje spresniť identifikáciu potreby bioptického vyšetrenia u klinicky významného ochorenia a prispôbiť terapeutický manažment. Biomarkery, klinické a histopatologické črty budú navzájom komplementárne pre výber pacientov pre mpMRI a eventuálnu biopsiu. O aktuálnosti implementácie nových diagnostických algoritmov svedčí aj fakt, že podľa databázy ClinicalTrials.gov v súčasnosti prebieha vyše 96 štúdií, ktoré sú v štádiu nábory pacientov na ďalšie overenie nových biomarkerov v klinickej praxi.

PCa diagnostika a prognostický odhad budú závisieť od panelu biomarkerov. Docieli sa tak lepšie odlíšenie medzi agresívnou a neagresívnou formou PCa a spresní diagnostika klinicky významného PCa. Kľúčovou zostáva v diagnostike interpretácia mpMRI nálezov kvalifikovanými rádiológmi, pričom do procesu hodnotenia nálezov bude perspektívne pre zvýšenie senzitivity a hlavne špecificity nálezov vstupovať umelá inteligencia a machine learning.

Podakovanie

Tento článok vznikol s podporou projektu VEGA 1/0684/21 „Prognostický význam zmien inervácie pri hyperplázii a neoplázii prostaty“.

LITERATÚRA

1. Cancer today. Accessed August 2, 2023. <http://gco.iarc.fr/today/home>
2. NCCN Guidelines® Insights: Prostate Cancer, Version 1.2023 in: Journal of the National Comprehensive Cancer Network Volume 20 Issue 12 (2022). Accessed July 31, 2023. <https://jnccn.org/view/journals/jnccn/20/12/article-p1288.xml>
3. Professionals SO. EAU Guidelines: Prostate Cancer. Uroweb. Accessed February 3, 2022. <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/>

4. Matuszczak M, Schalken JA, Salagierski M. Prostate Cancer Liquid Biopsy Biomarkers' Clinical Utility in Diagnosis and Prognosis. *Cancers*. 2021; 13(13). doi: 10.3390/cancers13133373
5. Würnschimmel C, Chandrasekar T, Hahn L, et al. MRI as a screening tool for prostate cancer: current evidence and future challenges. *World J Urol*. 2023; 41(4): 921-928. doi: 10.1007/s00345-022-03947-y
6. Giganti F, Allen C, Emberton M, et al. Prostate Imaging Quality (PI-QUAL): A New Quality Control Scoring System for Multiparametric Mag-

- netic Resonance Imaging of the Prostate from the PRECISION trial. *Eur Urol Oncol.* 2020; 3(5): 615-619. doi: 10.1016/j.euo.2020.06.007
7. Morote J, Pye H, Campistol M, et al. Accurate diagnosis of prostate cancer by combining Proclarix with magnetic resonance imaging. *BJU Int.* 2023; 132(2): 188-195. doi: 10.1111/bju.15998
8. Eldred-Evans D, Tam H, Sokhi H, et al. An Evaluation of Screening Pathways Using a Combination of Magnetic Resonance Imaging and Prostate-specific Antigen: Results from the IP1-PROSTAGRAM Study. *Eur Urol Oncol.* 2023; 6(3): 295-302. doi: 10.1016/j.euo.2023.03.009
9. Marsden T, Lomas DJ, McCartan N, et al. ReIMAGINE Prostate Cancer Screening Study: protocol for a single-centre feasibility study inviting men for prostate cancer screening using MRI. *BMJ Open.* 2021; 11(9): e048144. doi: 10.1136/bmjopen-2020-048144
10. Munteanu VC, Munteanu RA, Gulei D, et al. PSA Based Biomarkers, Imagistic Techniques and Combined Tests for a Better Diagnostic of Localized Prostate Cancer. *Diagnostics.* 2020; 10(10): 806. doi: 10.3390/diagnostics10100806
11. Nam R, Patel C, Milot L, et al. Prostate MRI versus PSA screening for prostate cancer detection (the MVP Study): a randomised clinical trial. *BMJ Open.* 2022; 12(11): e059482. doi: 10.1136/bmjopen-2021-059482
12. Doan P, Scheltema MJ, Amin A, et al. Final Analysis of the Magnetic Resonance Imaging in Active Surveillance Trial. *J Urol.* 2022; 208(5): 1028-1036. doi: 10.1097/JU.0000000000002885
13. Saltman A, Zegar J, Haj-Hamed M, et al. Prostate cancer biomarkers and multiparametric MRI: is there a role for both in prostate cancer management? *Ther Adv Urol.* 2021; 13: 1756287221997186. doi: 10.1177/1756287221997186
14. Tătaru OS, Vartolomei MD, Rassweiler JJ, et al. Artificial Intelligence and Machine Learning in Prostate Cancer Patient Management—Current Trends and Future Perspectives. *Diagnostics.* 2021; 11(2): 354. doi: 10.3390/diagnostics11020354
15. Lomas DJ, Ahmed HU. All change in the prostate cancer diagnostic pathway. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020; 17(6): 372-381. doi: 10.1038/s41571-020-0332-z
16. Suarez-Ibarrola R, Hein S, Reis G, et al. Current and future applications of machine and deep learning in urology: a review of the literature on urolithiasis, renal cell carcinoma, and bladder and prostate cancer. *World J Urol.* 2020; 38(10): 2329-2347. doi: 10.1007/s00345-019-03000-5
17. Huang YT, Huang YL, Ng KK, Lin G. Current Status of Magnetic Resonance Imaging in Patients with Malignant Uterine Neoplasms: A Review. *Korean J Radiol.* 2019; 20(1): 18-33. doi: 10.3348/kjr.2018.0090
18. Feliciani G, Mellini L, Carnevale A, et al. The potential role of MR based radiomic biomarkers in the characterization of focal testicular lesions. *Sci Rep.* 2021; 11: 3456. doi: 10.1038/s41598-021-83023-4
19. Tidd-Johnson A, Sebastian SA, Co EL, et al. Prostate cancer screening: Continued controversies and novel biomarker advancements. *Curr Urol.* 2022; 16(4): 197-206. doi: 10.1097/CU9.000000000000145

MUDr. Dávid Kocan

Ústav patologickej anatómie LF UK a UN Bratislava
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
e-mail: davidkocan93@gmail.com

REPROMED 6. ČESKO-SLOVENSKÝ DISKUSNÝ DEŇ

15. februára 2024 | od 9.00 hod.

MIESTO KONANIA:

konferenčná miestnosť **MEDIREX GROUP ACADEMY** n. o.
laboratórneho komplexu na Galvaniho ul. 17/C v Bratislave, 5. poschodie

TÉMA KONFERENCIE

PORUCHY PRÍJMU POTRAVY A REPRODUKČIA

ORGANIZÁTOR:

MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.
a SLK



ODBORNÝ GARANT:

RNDr. Elena Tibenská, PhD.
Medirex, a.s.

Registrovať sa môžete najneskôr **do 7. 2. 2024** prostredníctvom
webovej stránky www.medirexgroupacademy.sk v sekcii
REGISTRÁCIA.

Tešíme sa na Vašu účasť.

Odborné podujatie je zaradené do kontinuálneho
medicínskeho vzdelávania Slovenskej lekárskej komory
a bude hodnotené kreditmi.

KOORDINÁTORKA PODUJATIA:

Mgr. Lenka Palšová | +421 917 533 743
e-mail: lenka.palsova@medirexgroup.sk

www.newslab.sk
www.medirexgroupacademy.sk

