

Ročník XV.

newslab

časopis laboratórnej medicíny

2

2025

Ročník 15, 2025, číslo 2
Vychádza 2x ročne
Dátum vydania: december 2025

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 Zagraban, 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:

Simona Kralovičová

Všetky články sú plne recenzované.

Registrácia MK SR pod číslom

EV 356/25/EPP

ISSN 2454-0021 (online)

**Časopis je indexovaný v Bibliographia
medica Slovaca (BMS).**

Citácie sú spracované v CiBaMed.

Citáčna skratka: Newslab

Na informačné a nekomerčné účely je dovoľené 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.

Milí čitatelia,

keď sa pozeráme na dejiny súčasnej medicíny ťažko nájdeme obdobie, ktoré by prinieslo také množstvo výnimočných osobností a prelomových objavov ako generácia vedcov narodených okolo roku 1925. Historici ju často označujú ako „zlatú generáciu“. Nešlo o žiadnu formálnu skupinu alebo hnutie. Sú to ľudia ktorých spája doba, v ktorej žili a význam ich práce pre ďalšie generácie.



Táto generácia vedcov vyrastala v období druhej svetovej vojny. Svet bol poznačený obrovskými stratami a súčasne túžbou po obnove a pokroku. Veda bola symbolom rastu a lepšej budúcnosti. Investovalo sa do výskumu, vznikali moderné výskumné centrá. Rozvoj technológií otvoril nové možnosti. Vznikli mimoriadne priaznivé podmienky pre vedecký pokrok. Väčšina základných mechanizmov ale ešte zostávala neznáma a čakala na objavenie. Vedci mali pred sebou neprebádané oblasti. Mnohé experimenty, dnes elementárne, predstavovali skutočne revolučné.

Významným predstaviteľom tejto generácie bol aj Joshua Lederberg (nositeľ Nobelovej ceny za rok 1958). Už ako mladý vedec ukázal, že baktérie si môžu medzi sebou vymieňať genetickú informáciu. Zmenil pohľad na mikroorganizmy a položil základy modernej bakteriálnej genetiky. Jeho objavy sa stali základom rozvoja genetického inžinierstva, biotechnológií a molekulárnej biológie. Nobelovu cenu získal ako skutočne mladý vedec, už vo veku 33 rokov. Rovnako významný bol aj Baruch Blumberg (nositeľ Nobelovej ceny za rok 1976). Pri svojom výskume objavil austrálsky antigén, ktorý sa neskôr ukázal byť povrchovým antigénom vírusu hepatitídy B. Jeho objav umožnil začať skríningu darcov krvi, čím obmedzil prenos infekcie transfúziami. Viedol tiež k vývoju vakcíny proti hepatitíde B. Jeho práca zachránila milióny ľudských životov po celom svete. Na jeho počesť sa v deň jeho narodenín 28. júla slávi svetový deň hepatitídy. Ďalším z veľikánov bol Martin Rodbell (nositeľ Nobelovej ceny za rok 1994). Podieľal sa na výskume funkcií G-proteínov, ktoré sprostredkujú prenos signálov z povrchu bunky do jej vnútra. Ukázal, že medzi receptorom a odpoveďou bunky existuje komplexný regulačný systém. Tento objav sa stal jedným zo základných pilierov modernej bunkovej biológie.

Paul Greengard (nositeľ Nobelovej ceny za rok 2000) priblížil molekulové mechanizmy komunikácie medzi neurónmi. Ukázal, že neurotransmitery nie sú len jednoduché chemické prenášače signálu. Aktivujú zložité signalizačné dráhy, ktoré ovplyvňujú správanie sa neurónov. Tieto poznatky ovplyvnili chápanie Parkinsonovej choroby, schizofrénie a ďalších neurologických chorôb. Greengard súčasne ukázal že vedec má spoločenskú zodpovednosť. Časť finančných prostriedkov z Nobelovej ceny venoval podpore žien vo vede. Do tejto výnimočnej generácie patrí aj Mary Lyon. Jej meno pozná každý genetik prostredníctvom pojmu lyonizácia. Ukázala, že jeden z chromozómov X je v ženských bunkách náhodne inaktívovaný, čo viedlo postupne k objavom na poli epigenetiky. Oliver Smithies (nositeľ Nobelovej ceny za rok 2007) otvoril cestu ku genetickým zmenám. Technológia homologickej rekombinácie umožnila cielene meniť konkrétne gény. Jeho práca pripravila pôdu pre súčasné génové terapie a moderné metódy editácie genómu. Mimoriadny dosah mala aj práca Roberta Edwardsa (nositeľ Nobelovej ceny za rok 2010). Princípy oplodnenia in vitro viedli nakoniec k narodeniu Louise Brownovej, prvého „dieťaťa zo skúmavky“ v roku 1978 a predstavovali historický medzník reprodukčnej medicíny. V súčasnosti odhadujeme, že vďaka asistovanej reprodukcii sa narodilo viac ako osem miliónov detí.

Pri pohľade na všetky tieto osobnosti si treba uvedomiť, že ich nespájali len vedecké úspechy. Spoločným znakom bola interdisciplinárna. Mnohí z nich prinášali do biológie poznatky z fyziky, chémie alebo matematiky. Spoločným znakom bola odvaha. Nebáli sa nového. Nebáli sa zmeny. Nebáli sa prekračovať hranice tradičných odborov. Nebáli sa búrať staré zvyky. Nečakali na pokojný dôchodok. Mnohí zostali vedecky aktívni do vysokého veku a vychovali generácie mladých výskumníkov. Ich vplyv ďaleko presahoval rozsah vlastných experimentov. Stali sa nositeľmi vedeckej kultúry, kritického myslenia a akademických hodnôt.

Príbeh zlatej generácie nám pripomína, že veľké objavy nevznikajú v prázdnote. Potrebujú vytrvalosť, kreativitu a tvorivosť jednotlivcov. Potrebujú prostredie, ktoré podporuje slobodné myslenie, spoluprácu a dlhodobé investície do výskumu. Práve spojenie týchto faktorov vytvorilo podmienky pre jednu z najplodnejších generácií v dejinách medicíny. Dnes stojíme na prahu novej éry. Umelá inteligencia, prístupnejšia genomika, priestorová transkriptomika či personalizovaná medicína otvárajú možnosti, ktoré boli ešte pred niekoľkými rokmi nepredstaviteľné. Aj súčasní mladí vedci vstupujú do obdobia veľkých zmien. Pred nimi stoja otázky, na ktoré zatiaľ nepoznáme odpovede. Preto je vhodný čas si pripomenúť odkazy generácie 1925. Je celkom možné, že práve dnes, aj v našich laboratóriách vyrastá nová zlatá vedecká generácia 2025.

doc. MUDr. Pavol Janega, PhD.

Prehľadové práce a komentáre

Charakterizácia nových diagnostických cieľov endometriálneho karcinómu	
Tereza Kuracinová	25
Aký význam má glykoprofil vo výskume patológie placenty?	
Miriám Bollová	30
Wilsonova choroba	
Miroslava Alexa	35
Biobankovanie na Slovensku a jeho výzvy	
Kristína Hriňová, Andrej Minich, Dominik Slezák	41
Využitie rádiogenomiky v diagnostike nádorov prostaty – prehľad a perspektívy	
Dávid Kocan	44

Pôvodné práce

Výskyt Enterobacteriaceae produkujúcich karbapenemázy v rokoch 2019 – 2023.	
Kissová Soňa, Sojka Martin, Krenželoková Michaela	49
Tubulo-squamous vaginal polyp with basaloid features. Case report	
Michal Zámečník, Davorín Dibák	54
Myokarditída ako komplikácia COVID-19	
Michaela Kušnierová, Silvia Líšková, Andrea Janegová	59
From tissue architecture to precision oncology: spatial transcriptomics of bladder cancer	
Andrea Janegova, Kristina Mikus Kuracinova, Stanislav Ziaran, Tatiana Sedlackova, Tomas Szemes, Pavel Babal, Pavol Janega	66
Limitácie neinvazívneho prenatalného testovania – falošná pozitivita	
Michaela Hýblová, Gabriel Minárik	78

Charakterizácia nových diagnostických cieľov endometriálneho karcinómu

Tereza Kuracinová

Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Endometriálny karcinóm patrí medzi najčastejšie malignity u žien a jeho incidencia narastá s vekom. Významnú úlohu zohráva aj genetická predispozícia. V posledných rokoch sa diagnostika posunula od tradičnej histologickej klasifikácie k molekulárnej typizácii. Práve molekulárna typizácia umožňuje lepšie porozumieť biologickým mechanizmom a variabilite tohto ochorenia, čo prispieva k personalizovanej terapii a zlepšeniu klinických výsledkov. Glykány, ktoré sú súčasťou glykoproteínov a glykolipidov, hrajú významnú úlohu v nádorovej biológii. Ich modifikácie môžu ovplyvňovať bunkovú adhéziu, migráciu a invazivitu, čo priamo súvisí s metastázovaním nádorov. Zmeny v glykozylácii môžu tiež meniť vlastnosti nádorovo-asociovaných antigénov, čo má význam pre diagnostiku a monitorovanie progresie ochorenia. Lektíny sa využívajú na identifikáciu a charakterizáciu špecifických glykanových štruktúr na povrchu nádorových buniek. Tieto techniky umožňujú nielen lepšie pochopenie biologických vlastností nádorov, ale aj vývoj nových diagnostických nástrojov a terapeutických prístupov. Použitie lektínov poskytuje detailné informácie o glykozylačných zmenách spojených s endometriálnym karcinómom, čo môže viesť k identifikácii nových biomarkerov a terapeutických cieľov. Celkový prístup, ktorý zahŕňa molekulárnu klasifikáciu, štúdium glykánov a využitie lektínov, predstavuje sľubnú cestu pre zlepšenie diagnostiky a liečby endometriálneho karcinómu.

Kľúčové slová: nádory endometria, molekulárna typizácia, glykozylácia, glykokód

Characterization of new diagnostic targets for endometrial cancer

Summary

Endometrial carcinoma is one of the most common malignancies in women, with incidence increasing with age and obesity. Genetic predisposition also plays an important role. In recent years, diagnostic practice has shifted from traditional histological classification to molecular typing. Molecular typing enables a better understanding of the biological mechanisms and heterogeneity of this disease, thereby contributing to personalized therapy and improved clinical outcomes. Glycans, which are components of glycoproteins and glycolipids, play a crucial role in tumor biology. Their modifications can influence cell adhesion, migration, and invasiveness, processes directly related to tumor metastasis. Alterations in glycosylation may also affect the properties of tumor-associated antigens, which is important for diagnosis and monitoring of disease progression. Lectins are widely used to identify and characterize specific glycan structures on the surface of tumor cells. These techniques not only allow a deeper insight into the biological properties of tumors but also support the development of novel diagnostic tools and therapeutic approaches. The application of lectins provides detailed information on glycosylation changes associated with endometrial cancer, potentially leading to the identification of new biomarkers and therapeutic targets. An integrated approach combining molecular classification, glycan analysis, and lectin-based techniques represents a promising strategy for improving the diagnosis and treatment of endometrial carcinoma.

Keywords: endometrial tumours, molecular typing, glycosylation, glycode

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 25-29

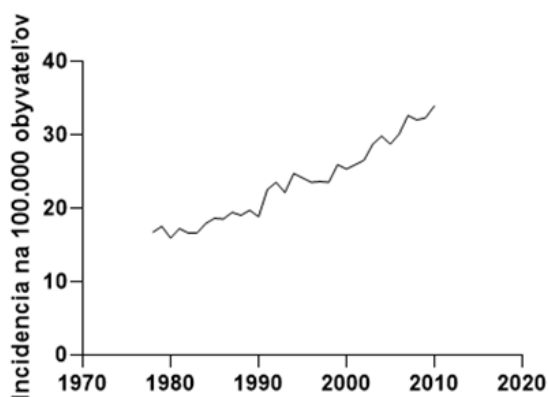
Úvod

Karcinóm endometria (EC) sa vyvíja z vnútornej epitelovej výstelky endometria a patrí medzi najčastejšie gynekologické malignity. Ide o šiestu najčastejšiu malignitu u žien na celom svete. Vek, nadváha, neskorá menopauza a genetické faktory sú hlavnými rizikovými faktormi pre vznik tohto ochorenia (1). Na Slovensku sa prípady karcinómu maternice zaznamenávajú už po tridsiatom roku života, čo je skôr než vo väčšine krajín. Podľa štatistík Global Cancer Statistics 2020 (GLOBOCAN) bolo v roku 2020 diagnostikovaných 417 367 nových prípadov a zaznamenaných 97 370 úmrtí. Najvyšší počet nových prípadov sa vyskytol v Severnej Amerike, východnej a

severnej Európe, pričom najviac úmrtí bolo vo východnej Európe. Podľa údajov Národného centra zdravotníckych informácií (NCZI) na Slovensku bolo v roku 2020 diagnostikovaných 990 nových prípadov nádorov endometria, pričom v roku 2021 ich počet vzrástol na 1101. V rámci Európskej únie je Slovensko na piatom mieste v počte prípadov rakoviny maternice, po Litve, Českej republike, Lotyšsku a Bulharsku, s kumulatívnou prevalenciou 487 prípadov na 100 000 obyvateľov. Výskyt rakoviny maternice na Slovensku neustále rastie a za posledných 30 rokov sa viac ako zdvojnásobil (Obr. 1). Vekovo štandardizovaná miera (ASR) vzrástla o 65 %, čo

poukazuje na vysoký výskyt tohto ochorenia nezávisle od rozdielov v starnutí populácie v rámci EÚ (2, 3)

Kategorizácia karcinómu endometria je založená na histologickej klasifikácii podľa WHO, ktorá zohľadňuje histologické znaky aj klinické charakteristiky. V roku 1983 navrhol Bokhman dualistický model tumorigenézy v tkanive endometria na základe klinicko-patologických pozorovaní a rozdelil nádory na typ I (low-grade, LG) a typ II (high-grade, HG). LG skupina zahŕňa tumory, ktoré sú stimulované estrogénom a vznikajú z proliferujúceho hyperplastického endometria. Nadmerná prítomnosť estrogénu spôsobuje hyperpláziu bez atypií, pričom endometrium je funkčne normálne, ale reaguje na prebytok hormónu. Tieto bunky môžu mutovať do prekancerózných lézií s dysplastickými zmenami, ktoré sa ďalej klasifikujú ako atypická hyperplázia. Zvýšená hladina estrogénu v kombinácii s mutáciami vedie ku vzniku endometriálnej intraepiteliálnej neoplázie (EIN), u ktorej sa riziko vzniku karcinómu zvyšuje až na 40 %. Typ II je nezávislý od estrogénu a až v 90 % prípadov je charakteristickou prítomnou mutáciou TP53 (4).

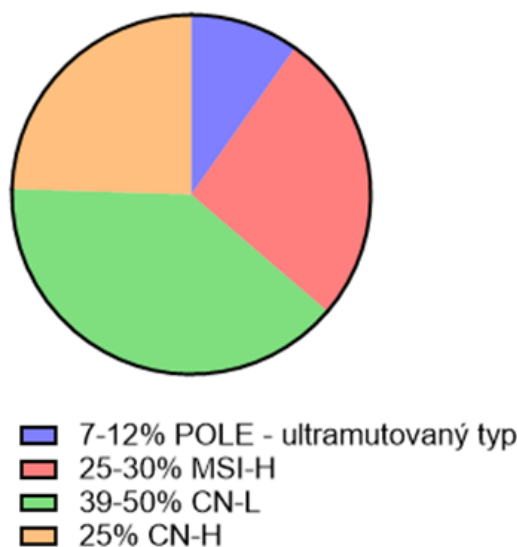


Obr. 1: Incidencia nádorov maternice sa v SR za posledných 30 rokov zdvojnásobila (ECIS, 2024)

Genetická klasifikácia nádorov endometria

Analýza The Cancer Genome Atlas (TCGA) charakterizovala endometriálny karcinóm (EC) pomocou sekvenovania a genomickej a proteomickej analýzy, pričom výsledky poskytli komplexné informácie o molekulárnych zmenách. Identifikované boli štyri prognosticky významné skupiny EC: s mutáciou polymerázy ϵ (POLE), s mikrosatelitovou nestabilitou (MSI – s poruchou v mismatch repair systéme), s nízkou variabilitou počtu kópií (CNL) a s vysokou variabilitou počtu kópií (CNH) (Obr. 2). Každá skupina má odlišné klinické, patologické a molekulárne charakteristiky, ktoré významne ovplyvňujú prognózu choroby. Identifikácia postihnutej molekulárnej dráhy je kľúčová pri určovaní správania sa tumoru, nezávisle od jeho histologického vzhľadu (5).

Pacientky s mutáciou POLE majú najlepšiu prognózu, dokonca aj pri vysokom grade nádoru, zatiaľ čo CNH (najčastejšie TP53-abnormálne) nádory majú najhoršiu prognózu. Skupiny MSI/MMR-deficientné a CNL majú intermediárnu prognózu (Obr. 3). Táto molekulárna klasifikácia predstavuje zásadný nástroj pri výbere optimálnej terapie (6).



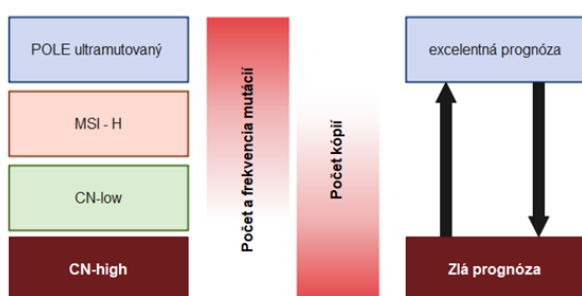
Obr. 2: Distribúcia molekulárnych typov EC

Prvá skupina, tzv. ultramutované nádory s mutáciou POLE, predstavuje najmenšiu skupinu v rámci molekulárnej typizácie. Väčšinu prípadov tvorí endometrioidný karcinóm, hoci sa môže vyskytovať aj serózný, svetlobunkový alebo zmiešaný typ. U väčšiny pacientok sa zachytávajú skoré štádiá s charakteristikami typickými pre nízkorizikové ochorenie (7, 8). Malá časť pacientok môže vykazovať high-grade histologické znaky, avšak celkovo POLE-ultramutované endometriálne karcinómy majú veľmi priaznivé klinické výsledky (7).

Druhá skupina s vyššou incidenciou zahŕňa nádory s mikrosatelitovou nestabilitou (MSI), ktorá vzniká v dôsledku defektu v systéme opravy nesprávne spárovaných báz (MMR – mismatch repair). MSI sa vyskytuje u 20–40 % prípadov EC a súvisí aj s hereditárnymi nádorovými syndrómami, predovšetkým s Lynchovým syndrómom, ktorý predstavuje až 25 % MSI prípadov. Somatické mutácie sa môžu vyskytovať v génoch MMR systému (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM), pričom najčastejším mechanizmom je hypermetylácia promotóra génu MLH1 (9). Nádory s defektným MMR sa vyznačujú vyššou mutačnou záťažou a majú intermediárnu prognózu s vyšším rizikom recidívy (10, 11).

Tretia skupina, tzv. copy-number low (CNL), nezahŕňa špecifický molekulárny profil. Tieto nádory nemajú mutáciu v géne POLE, ani abnormálnu expresiu TP53, ani defektný MMR. Ide predovšetkým o low-grade nádory s nižším mutačným zaťažením. Najčastejšie sa vyskytujú mutácie génov PTEN, CTNNB1, PIK3CA, ARID1A a KRAS (12).

Štvrtá skupina, tzv. copy-number high (CNH), zahŕňa serózný typ a high-grade endometrioidné karcinómy. Tieto nádory sa vyznačujú mutáciami v géne TP53, neprítomnosťou mutácií POLE a mikrosatelitovou stabilitou. Majú nepriaznivé klinické výsledky, keďže väčšina pacientok má už v čase diagnózy diseminované mimomaternicové štádium s vysokým rizikom recidívy (13).



Obr. 3: Distribúcia rôznych molekulárnych typov EC v súvislosti s frekvenciou mutácií a prognózou

Postup pre zaradenie endometriálneho karcinómu (EC) podľa molekulárnej klasifikácie sa označuje ako ProMisE (Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer). Táto klasifikácia rozdeľuje pacientky s EC na základe postupného testovania mutácií a proteínovej expresie, pričom výsledkom je presné zaradenie pacientky (14). Ukazuje sa však, že niektoré pacientky s EC majú mutácie vo viacerých molekulárnych znkoch, a tieto prípady unikajú odporúčanému zaradeniu, čo v praxi sťažuje molekulárnu klasifikáciu. Takéto prípady sa označujú ako EC s multiplicitným klasifikátorom (15).

Glykozylačné zmeny na nádorových bunkách

Sacharidy (glykány) sú prítomné na povrchu buniek a na väčšine sekretovaných aj membránovo viazaných proteínov a lipidov (16) a zohrávajú úlohu v niekoľkých kľúčových bunkových funkciách, ako sú vývoj, rast, udržiavanie a prežitie organizmu (17). Glykány tvoria glykokonjugáty, medzi ktoré patria glykoproteíny, glykolipidy, proteoglykány a glyko-sphingolipidy. Tieto vznikajú v endoplazmatickom retikule (ER) a Golgiho aparáte, ale aj v jadre, cytoplazme a mitochondriách (18). Glykoproteíny sa vytvárajú naviazaním proteínu na monosacharid prostredníctvom N- alebo O-väzby aminokyseliny (19).

Takto vzniknuté glykokonjugáty formujú na povrchu buniek glykokalyx, ktorý sprostredkúva interakcie medzi

vnútrobunkovými a vonkajšími signálmi (20). Nádorové tkanivá majú výrazne zmenený glykokalyx, čo je výsledkom porušenej glykozylácie a vedie k expresii nádorovo asociovaných antigénov (21). Zmeny glykozylácie zahŕňajú nedostatočnú alebo nadmernú expresiu prirodzene sa vyskytujúcich glykánov, ako aj neoexpresiu glykánov obmedzených na embryonálne tkanivá (22).

Tieto zmeny v glykozylácií nádorových buniek sú spôsobené viacerými faktormi:

1. dysreguláciou na transkripčnej úrovni, čo vedie k pod- alebo nadmernej expresii glykozyltransferáz, k dysregulácii chaperónov a/alebo k zmene aktivity glykozidáz,
2. zmenami v terciárnej konformácii peptidovej kostry vznikajúceho glykánového reťazca,
3. variabilitou substrátov akceptorov, ako aj dostupnosťou a množstvom sacharidových nukleotidových donorov a kofaktorov,
4. zmenami v expresii glykánov v dôsledku alterovanej expresie a lokalizácie relevantných glykozyltransferáz v Golgiho aparáte (23, 24).

Tumor-asociované glykány pozorované pri karcinóme endometria

Glykány na povrchu buniek sú priamo ovplyvňované procesom glykozylácie, pričom práve jej zmeny v nádorových bunkách sa podieľajú na zmenách biologického správania sa týchto buniek. Onkogénne zmeny v glykozylácií vedú k vzniku tumor-asociovaných glykánov, ktoré môžu slúžiť ako biomarkery pre rôzne typy nádorov (25).

MUC1 a CD44 menia štruktúru a funkciu glykoproteínov vrátane signálnych dráh podporujúcich nádorovú progresiu. MUC1 je vysoko glykozylovaný glykoproteín, ktorý zvyšuje signalizáciu cez EGFR a aktivuje MAPK a PI3K dráhy, čo vedie k proliferácii buniek. Zvýšená expresia EGFR v EC je asociovaná s horšou prognózou (26). CD44 je glykoproteín sprostredkujúci adhéziu medzi nádorovými a hostiteľskými bunkami a súčasne ovplyvňuje invazivitu a metastázovanie. Podľa štúdie z roku 2016 sa predpokladá, že vysoká hladina CD44 sa podieľa na vzniku endometriálneho karcinómu, pričom s progresiou ochorenia jeho hladina klesá, čo môže indikovať agresívnejší priebeh a horšiu prognózu (27).

Modifikácie glykozylácie ovplyvňujú nádorové bunky aj prostredníctvom regulácie metastáz-súvisiacich molekulárnych dráh. N-acetylgalaktosyltransferáza 2 (GALNT2) reguluje iniciáciu O-glykozylácie a jej expresia v endometriálnej hyperplázii úzko súvisí s EGFR/Akt/ERK dráhou (28). Nguyen a kol. (29) preukázali asociáciu vysokej hladiny GalNAc-T6 s dobre diferencovanými, neinvazívnymi nádormi EC, teda s menej agresívnym fenotypom. Zmeny expresie GalNAc-T6 ovplyvňujú migračnú a metastatickú kapacitu buniek, čo naznačuje jej možnú úlohu pri znižovaní agresivity nádoru.

Fukozylácia je ďalším mechanizmom podporujúcim metastázovanie. Enzým FUT8 katalyzuje prídanie fukózovej

jednotky na GlcNAc na konci N-glykanov, čím zvyšuje invazivitu a migráciu reguláciou EGFR a Wnt/ β -katenínovej dráhy (30). Endometriálne nádory vykazujú zvýšený metabolizmus glukózy, ktorý ovplyvňuje biosyntézu hexozamínu a následne procesy O-glykozylácie. To vedie k bunkovej hyperglykémii a zvýšenej aktivite Wnt/ β -katenínovej dráhy (31).

Zmeny v glykozylácii môžu byť spojené aj so zmenenou produkciou NO v transformovanom tkanive endometria, a to buď priamo prostredníctvom zmien expresie iNOS, alebo nepriamo cez zvýšenú aktivitu COX-2 a zmeny v angiogenéze (32).

Špecifické glykány používané ako glykoproteínové biomarkery vykazujú klinický potenciál. Vzhľadom na rozsiahle glykozylové zmeny môžu už aj malé poruchy v glykozylácii prispievať k vzniku nádorov.

Lektíny

Lektíny sú proteíny schopné viazať sa na glykokonjugáty. Využívajú sa na detekciu glykánových štruktúr a glykokonjugátov na povrchu buniek a v tkanivách. Lektíny dokážu rozlíšiť aj jemné zmeny v glykozylácii, a preto sú užitočné pri skúmaní glykozylačných zmien sprevádzajúcich transformáciu na malignitu a progresiu nádorov. Lektínová histochemia bola opísaná ako úspešná

metóda typizácie molekulárnych zmien v endometriu počas nádorovej transformácie. Endometriálne karcinómy vykazovali vyššiu väzbovú variabilitu lektínov v porovnaní s normálnym endometriálnym tkanivom (33).

Záver

Karcinóm endometria predstavuje šiestu najčastejšiu malignitu u žien na celom svete. Histologická klasifikácia podľa WHO zaraďuje pacientky na základe morfológických znakov. Zavedenie molekulárnej klasifikácie podľa TCGA umožnilo presnejší manažment pacientok. Ani táto klasifikácia však nepokrýva všetky prípady EC, a to najmä pre existenciu pacientok s multiplicitným klasifikátorom, čo sťažuje jej uplatnenie v klinickej praxi. Použitie lektínov na testovanie prítomnosti glykánových štruktúr na povrchu buniek sa ukázalo ako vhodná metóda na hodnotenie glykánových profilov. Zatiaľ však chýbajú jednoznačne definované profily glykánových zmien asociovaných s jednotlivými molekulárnymi podskupinami endometriálneho karcinómu, ktoré by zároveň zohľadňovali ich klinický a prognostický význam.

Ďakovanie:

Táto publikácia vznikla vďaka podpore grantu UK 1155/2024

Literatúra:

1. Makker V., MacKay H., Ray-Coquard I., Levine D.A., Westin S.N., Aoki D., et al. Endometrial cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7:88; doi: 10.1038/s41572-021-00324-8.
2. Steliarova-Foucher E., O'Callaghan M., Ferlay J., Masuyer E., Rosso S., Forman D., et al. The European Cancer Observatory: A new data resource. *Eur J Cancer*. 2015;51:1131–43; doi: 10.1016/j.ejca.2014.01.027.
3. ECIS - European Cancer Information System | ECIS - European Cancer Information System. <https://ecis.jrc.ec.europa.eu/>.
4. Hemann Z.A., Lim W.Z., Kemp W.L. Educational Case: Endometrial carcinoma types I and II. *Acad Pathol*. 2022;9:100023; doi: 10.1016/j.acpath.2022.100023.
5. Yen T.-T., Wang T.-L., Fader A.N., Shih I.-M., Gaillard S. Molecular Classification and Emerging Targeted Therapy in Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Pathol*. 2020;39:26–35; doi: 10.1097/PGP.0000000000000585.
6. Wu Q., Zhang N., Xie X. The clinicopathological characteristics of POLE-mutated/ultramutated endometrial carcinoma and prognostic value of POLE status: a meta-analysis based on 49 articles incorporating 12,120 patients. *BMC Cancer*. 2022;22:1157; doi: 10.1186/s12885-022-10267-2.
7. Casanova J., Duarte G.S., da Costa A.G., Catarino A., Nave M., Antunes T., et al. Prognosis of polymerase epsilon (POLE) mutation in high-grade endometrioid endometrial cancer: Systematic review and meta-analysis. *Gynecol*

8. Yao X., Feng M., Wang W. The Clinical and Pathological Characteristics of POLE-Mutated Endometrial Cancer: A Comprehensive Review. *Cancer Manag Res*. 2024;16:117–25; doi: 10.2147/CMAR.S445055.
9. Kunitomi H., Banno K., Yanokura M., Takeda T., Iijima M., Nakamura K., et al. New use of microsatellite instability analysis in endometrial cancer. *Oncol Lett*. 2017;14:3297–301; doi: 10.3892/ol.2017.6640.
10. Leon-Castillo A., Horeweg N., Peters E.E.M., Rutten T., Ter Haar N., Smit V.T.H.B.M., et al. Prognostic relevance of the molecular classification in high-grade endometrial cancer for patients staged by lymphadenectomy and without adjuvant treatment. *Gynecol Oncol*. 2022;164:577–86; doi: 10.1016/j.ygyno.2022.01.007.
11. Addante F., d'Amati A., Santoro A., Angelico G., Inzani F., Arciuolo D., et al. Mismatch Repair Deficiency as a Predictive and Prognostic Biomarker in Endometrial Cancer: A Review on Immunohistochemistry Staining Patterns and Clinical Implications. *Int J Mol Sci*. 2024;25:1056; doi: 10.3390/ijms25021056.
12. Corr B., Cosgrove C., Spinosa D., Guntupalli S. Endometrial cancer: molecular classification and future treatments. *BMJ Med*. 2022;1:e000152; doi: 10.1136/bmjmed-2022-000152.

13. Momeni-Boroujeni A., Dahoud W., Vanderbilt C.M., Chiang S., Murali R., Rios-Doria E.V., et al. Clinicopathologic and Genomic Analysis of TP53-Mutated Endometrial Carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2021;27:2613–23; doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4436.
14. Talhouk A., McConechy M.K., Leung S., Yang W., Lum A., Senz J., et al. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer.* 2017;123:802–13; doi: 10.1002/cncr.30496.
15. De Vitis L.A., Schivardi G., Caruso G., Fumagalli C., Vacirca D., Achilarré M.T., et al. Clinicopathological characteristics of multiple-classifier endometrial cancers: a cohort study and systematic review. *Int J Gynecol Cancer.* 2024;34:229–38; doi: 10.1136/ijgc-2023-004864.
16. Haab B.B. Using lectins in biomarker research: addressing the limitations of sensitivity and availability. *Proteomics Clin Appl.* 2012;6:346–50; doi: 10.1002/prca.201200014.
17. Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., Stanley P., Hart G.W., Aebi M., et al., editors. *Essentials of Glycobiology*. 4th edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2022.
18. Thomas D., Rathinavel A.K., Radhakrishnan P. Altered glycosylation in cancer: A promising target for biomarkers and therapeutics. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021;1875:188464; doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188464.
19. Reilly C., Stewart T.J., Renfrow M.B., Novak J. Glycosylation in health and disease. *Nat Rev Nephrol.* 2019;15:346–66; doi: 10.1038/s41581-019-0129-4.
20. Schjoldager K.T., Narimatsu Y., Joshi H.J., Clausen H. Global view of human protein glycosylation pathways and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21:729–49; doi: 10.1038/s41580-020-00294-x.
21. Dall'Olio F., Malagolini N., Trinchera M., Chiricolo M. Mechanisms of cancer-associated glycosylation changes. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012;17:670–99; doi: 10.2741/3951.
22. Dube D.H., Bertozzi C.R. Glycans in cancer and inflammation—potential for therapeutics and diagnostics. *Nat Rev Drug Discov.* 2005;4:477–88; doi: 10.1038/nrd1751.
23. Kumamoto K., Goto Y., Sekikawa K., Takenoshita S., Ishida N., Kawakita M., et al. Increased expression of UDP-galactose transporter messenger RNA in human colon cancer tissues and its implication in synthesis of Thomsen-Friedenreich antigen and sialyl Lewis A/X determinants. *Cancer Res.* 2001;61:4620–7.
24. Kellokumpu S., Sormunen R., Kellokumpu I. Abnormal glycosylation and altered Golgi structure in colorectal cancer: dependence on intra-Golgi pH. *FEBS Lett.* 2002;516:217–24; doi: 10.1016/s0014-5793(02)02535-8.
25. Scott E., Elliott D.J., Munkley J. Tumour associated glycans: A route to boost immunotherapy? *Clin Chim Acta.* 2020;502:167–73; doi: 10.1016/j.cca.2019.12.015.
26. Engel B.J., Bowser J.L., Broaddus R.R., Carson D.D. MUC1 stimulates EGFR expression and function in endometrial cancer. *Oncotarget.* 2016;7:32796–809; doi: 10.18632/oncotarget.8743.
27. Elbasateeny S.S., Salem A.A., Abdelsalam W.A., Salem R.A. Immunohistochemical expression of cancer stem cell related markers CD44 and CD133 in endometrial cancer. *Pathol Res Pract.* 2016;212:10–6; doi: 10.1016/j.prp.2015.10.008.
28. Zhou X., Xu Y., Yin D., Zhao F., Hao Z., Zhong Y., et al. Type 2 diabetes mellitus facilitates endometrial hyperplasia progression by activating the proliferative function of mucin O-glycosylating enzyme GALNT2. *Biomed Pharmacother.* 2020;131:110764; doi: 10.1016/j.biopha.2020.110764.
29. Nguyen T.T., Kurita T., Koi C., Murakami M., Kagami S., Hachisuga T., et al. GalNAc-T6 in the relationship with invasion ability of endometrial carcinomas and prognostic significance. *Am J Cancer Res.* 2017;7:1188–97.
30. Shimoyama H., Shibata T.K., Ito M., Oda T., Itoh T., Mukai M., et al. Partial silencing of fucosyltransferase 8 gene expression inhibits proliferation of Ishikawa cells, a cell line of endometrial cancer. *Biochem Biophys Rep.* 2020;22:100740; doi: 10.1016/j.bbrep.2020.100740.
31. Zhou F., Huo J., Liu Y., Liu H., Liu G., Chen Y., et al. Elevated glucose levels impair the WNT/β-catenin pathway via the activation of the hexosamine biosynthesis pathway in endometrial cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;159:19–25; doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.02.015.
32. Krajčířová K., Janega P., Cebová M. The role of nitric oxide in endometrial carcinoma. *NewsLab.* 2022;13:87–91.
33. Aoki D., Nozawa S., Iizuka R., Kawakami H., Hirano H. Differences in lectin binding patterns of normal endometrium and endometrial adenocarcinoma, with special reference to staining with *Ulex europaeus* agglutinin 1 and peanut agglutinin. *Gynecol Oncol.* 1990;37:338–45; doi: 10.1016/0090-8258(90)90364-q.

Mgr. Tereza Kuracinová

Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
terezka.kuracinova@gmail.com

Aký význam má glykoprolil vo výskume patológie placenty?

Miriam Bollová

Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Placenta predstavuje viacmembránovú bariéru medzi materským organizmom a plodom, ktorá zohráva kľúčovú úlohu vo všetkých fázach gravidity. Akýkoľvek patologický proces v placentárnom tkanive môže zásadne ovplyvniť priebeh gravidity a zdravie plodu, s následkom prenatálneho úmrtia alebo iných závažných komplikácií. Výskum placenty je obzvlášť dôležitý vzhľadom na vysoký podiel prenatálnych úmrtí spôsobených poruchami na jej úrovni. Hlbšie pochopenie placentárneho tkaniva môže nielen znížiť počet neobjasnených prenatálnych úmrtí, ale aj zlepšiť manažment budúcich gravidít a patológií novorodencov. V poslednom období sa výskum placenty zameriava na molekulárne mechanizmy regulácie a priebehu zmien v tkanive placenty, vrátane zmien v glykozylácii proteínov a celkového glykoprolilovania. Tento výskum má potenciál priniesť nové diagnostické a terapeutické prístupy, ktoré by mohli ovplyvniť manažment tehotenských komplikácií. Glykozylácia proteínov ako komplexná posttranslačná modifikácia predstavuje kľúčový faktor v mnohých biologických procesoch. Predmetom intenzívneho výskumu sú aj galektíny placenty, vzhľadom na ich úlohu v modulácii vývojových a iných procesov počas gravidity. Tento článok sa zameriava na súčasné poznatky o potenciálnych úlohách zmien glykoprolilu v tkanive placenty a ich vplyve na priebeh gravidity. Cieľom je poskytnúť komplexný prehľad o význame zmien glykozylácie v tehotenstve a identifikovať oblasti, ktoré si vyžadujú ďalší výskum s cieľom zlepšiť prenatálnu starostlivosť.

Kľúčové slová: placenta, glykoprolil, lektíny, galektíny, tehotenstvo

What is the significance of glycoprolil in placental pathology research?

Summary

The placenta represents a multi-membrane barrier between the maternal organism and the fetus, playing a crucial role throughout all stages of pregnancy. Any pathological process affecting placental tissue can significantly influence the course of pregnancy and the health of the fetus, potentially resulting in prenatal death or other severe complications. Research on the placenta is particularly important in light of the high proportion of prenatal deaths associated with placental disorders. A deeper understanding of placental biology may not only help reduce the number of unexplained prenatal deaths but also improve the management of future pregnancies and neonatal pathologies. Recent studies have increasingly focused on the molecular mechanisms regulating placental function and pathology, including alterations in protein glycosylation and glycan profiling. This line of research holds promise for the development of new diagnostic and therapeutic approaches that could substantially influence the management of pregnancy complications. As a complex post-translational modification, protein glycosylation is a key factor in numerous biological processes. Among them, placental galectins have attracted considerable attention due to their role in modulating developmental and immunological processes during pregnancy. This article aims to summarize the current knowledge regarding glycosylation and glycan profiling in placental tissue, with particular emphasis on their potential impact on the course of pregnancy. The goal is to provide a comprehensive overview of the significance of these molecular changes and to highlight areas requiring further investigation to enhance antenatal care.

Keywords: placenta, glycoprotein, lectins, galectins, pregnancy

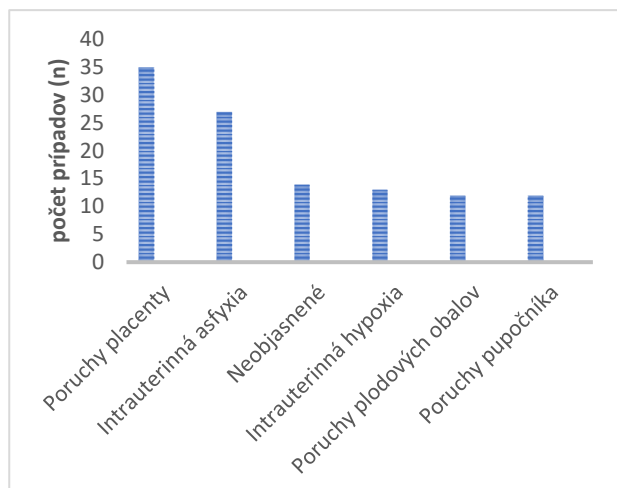
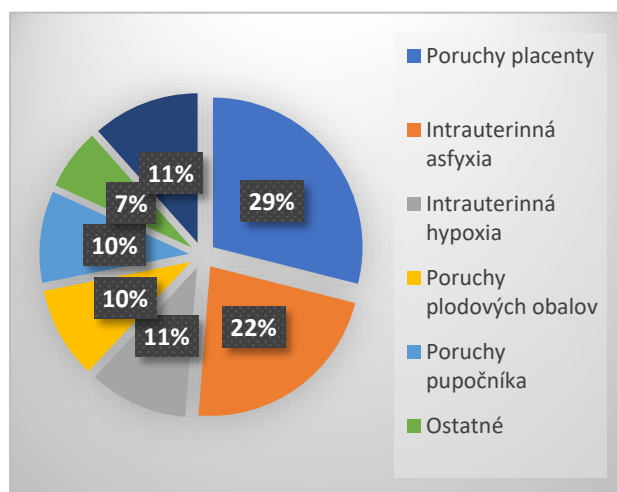
Newsrab, 2025, roč. 15 (2): 30-34

Placenta

Placenta ako viacvrstvová bariéra medzi organizmom matky a plodom zohráva kľúčovú úlohu vo všetkých fázach gravidity. Ide o orgán zásadný pre hormonálnu rovnováhu, imunitnú toleranciu a výmenu dýchacích plynov, živín a odpadových látok medzi matkou a vyvíjajúcim sa plodom. Fyziologický priebeh gravidity závisí od jemne regulovanej rovnováhy imunitných, endokrinných a metabolických procesov, pričom placentárne galektíny a glykozylácia

proteínov majú v týchto procesoch významné miesto. Napriek tomu, že placenta predstavuje evolučne starý a komplexný orgán zapojený do vyššie uvedených aj mnohých ďalších dejov, naše poznanie o nej je stále limitované. Jej význam podčiarkuje skutočnosť, že ako jediný orgán priamo spája život dvoch organizmov. Akýkoľvek patologický proces v placentárnom tkanive má zásadný vplyv na priebeh gravidity a zdravie plodu, vrátane jeho prežívania a rizika intrauterinnej mortality (1, 2).

Množstvo prenatálnych úmrtí sa v jednotlivých krajinách líši v závislosti od mnohých faktorov. Na Slovensku významnú časť týchto úmrtí spôsobujú poruchy placenty, stále pretrvávajú vysoký podiel prípadov, ktorých príčinu sa nepodarí objasniť. Detailnejší výskum placentárneho tkaniva ako centrálného orgánu gravidity môže prispieť k zníženiu počtu neobjasnených prenatálnych úmrtí. Môže pomôcť zlepšiť starostlivosť o budúce gravidity a v konečnom dôsledku aj diagnostiku a manažment patológie novorodenca, ktoré sú vo veľkej miere závislé od správneho posúdenia placentárneho tkaniva (3).



Obz. 1: Prehľad najčastejších príčin prenatálnych úmrtí v Slovenskej republike v období roka 2021, spracované podľa Bollová a spol. (3)

Fyziologický priebeh gravidity závisí od jemne regulovanej rovnováhy imunitných, endokrinných a metabolických procesov. Na jeho regulácii sa podieľa celý rad mediátorov, pričom glykány exprimované na povrchu buniek a galektíny viažuce β -galaktosidy si v poslednom období získavajú významnú pozornosť v reprodukčnej medicíne. Je to najmä pre ich unikátnu schopnosť

modulovať procesy rôznych vývojových štádií, ich časovo a prostredím podmienenú reaktivitu a tiež pre ich potenciál využitia ako biomarkerov gestačných porúch. Ich zmenená aktivita nemusí byť vždy dôsledkom placentárnej patológie, ale môže sa zároveň podieľať na jej vzniku.

Glykozylácia proteínov

Výskum placenty sa v poslednom období sústreďuje na objasnenie regulácií a mechanizmov procesov na molekulárnej úrovni, čo umožňuje lepšie pochopenie patogenézy mnohých patológií a zároveň prináša možný diagnostický a prediktívny prínos. Do popredia sa dostáva problematika zmien glykozylácie proteínov a glykoprofilovanie jednotlivých štruktúr v súvislosti s patológiou placenty (2, 4).

Väčšina doteraz získaných poznatkov v oblasti placentárneho glykoprotílu pochádza z výskumov realizovaných na animálnych modeloch a bunkových líniiach, ich potenciál pre humánnu fetoplacentárnu patológiu je však zjavný (2, 5). Placenta exprimuje široké spektrum systémových proteínov, ktoré dopĺňajú množstvo placentárne špecifických proteínov (2). Úroveň ich expzie a zmeny vlastností sprostredkované glykozyláciou majú kľúčový vplyv na priebeh placentárnych procesov a tým aj na priebeh gravidity.

Zmeny glykozylácie je možné skúmať rôznymi technikami; medzi často využívané patria metódy založené na väzbe lektínov, ktoré sa uplatňujú najmä v histochemických a profilovacích analýzach (4). Glykozylácia proteínov je štruktúrne veľmi rôznorodou posttranslačnou modifikáciou, ktorá v porovnaní s inými úpravami poskytuje bohatšie biologické informácie a výrazne rozširuje variabilitu vlastností modifikovaných proteínov. V podstate ide o prenos glykánových informácií, ktoré tvoria tzv. glykokód – špecifický jazyk bunkovej komunikácie – a spoločne predstavujú glykóm tkaniva. Tento prenos je sprostredkovaný enzymatickým vytváraním väzieb medzi glykánom a proteínom alebo inou organickou molekulou za účasti glykozyltransferáz a glykozidáz, pričom výsledkom sú rôzne glykokonjugáty (4–6).

Podľa základnej väzby medzi glykánom a polypeptidovým reťazcom rozoznávame dva základné subtypy: N-viazané glykány, naviazané na asparagínový zvyšok, a O-viazané glykány, naviazané na hydroxylovú skupinu serínových alebo treonínových zvyškov. N-viazané glykány majú spoločné základné pentasacharidové jadro ktoré môže byť ďalej rozvetvené a modifikované. O-viazané glykány sa začínajú naviazaním N-acetylgalaktosamínu (GalNAc) na serín alebo treonín. Diverzitu glykánov významne zvyšuje variabilita väzieb medzi jednotlivými monosacharidmi, pričom každá hydroxylová skupina monosacharidu môže predstavovať potenciálne miesto väzby. Táto schopnosť vetvenia prepožičiava základnej štruktúre glykánu a tým aj proteínu vysokú komplexnosť. Biologická zložitnosť sa ďalej znásobuje činnosťou špecifických enzýmov, variabilitou

väzieb a postglykozylovými modifikáciami, akými sú napríklad fukosylácia alebo sialylácia (4).

Galektíny

Galektíny sú multifunkčné solubilné proteíny viažuce β -galaktosidové štruktúry, patriace do rodiny lektínov. Charakteristické sú svojou afinitou ku β -galaktosidovým motívom glykokonjugátov. Ako ligandy rozpoznávajú najmä sekvenciu Gal β 1-4GlcNAc (N-acetyl-laktózamín) a tiež Gal β 1-3GalNAc (T-antigén) povrchových bunkových oligosacharidov. Vďaka tomu disponujú afinitou k variabilnej skupine ligandov a majú schopnosť ich cross-linkingu a transportu (5, 6). Na štrukturálnej úrovni bolo doposiaľ identifikovaných 19 galektínov, z toho 13 exprimovaných u človeka, ktoré sa zaraďujú do troch základných skupín podľa organizácie ich väzbovej reakčnej domény: prototypové galektíny, chimérické galektíny a galektíny s tandemovými opakovaniami (5, 7).

Ako proteíny syntetizované na voľných ribozómoch sa vyskytujú intracelulárne aj extracelulárne, pričom sekrécia prebieha nekonvenčnými mechanizmami mimo klasickej ER-Golgi dráhy. Vďaka tomu majú unikátne spektrum intracelulárnych aj extracelulárnych funkcií. Intracelulárne sa prednostne nachádzajú v cytoplazme, kde modulujú mnohé procesy vrátane regulácie rastu, apoptózy, migrácie a diferenciácie. Ich extracelulárne účinky sú priamo závislé od väzby na sacharidové štruktúry (5, 7).

Placentárny glykoproteín počas gravidity

Viacere výskumy posledného obdobia odкрývajú úlohu glykómu v regulácii placentárnych procesov. Mnohé komplikácie gravidity, vrátane hypertenzných porúch, predčasného pôrodu, patologického ukončenia tehotenstva, gestačného diabetu mellitus či reprodukčných porúch, boli opísané v súvislosti s aberantnou glykozyláciou (4, 8) Úloha galektínov počas vývoja a diferenciácie v rámci fyziologického aj patologického tehotenstva je komplexná a vyžaduje si precízne modulovanie ich expresie. Molekulárne mechanizmy, ktoré modulujú expresiu a aktivitu galektínov, sú však stále málo preskúmané. Medzi možné regulátory expresie galektínov patria pohlavie plodu, pohlavné a iné hormóny, redoxný stav, patogény či zápalové mediátory (9).

Glykoproteín placenty sa počas tehotenstva mení v závislosti od štádia gestácie. Na úrovni jednotlivých placentárnych receptorov sa počas gestácie mení množstvo fukosylovaných a sialylovaných N-glykanov, čo môže ovplyvňovať ich funkciu. V prvom trimestri je charakteristický vyšší obsah bisekovaných N-glykanov a vyššia hladina α 2,3-sialylovaných štruktúr, zatiaľ čo v treťom trimestri dominuje vyšší podiel manózy a oligofukosylovaných N-glykanov a nižší obsah bisekovaných N-glykanov. Zmeny v α 2,3-sialylácii nie sú

úplne jednoznačné (10). V treťom trimestri sa pozoruje pokles fukosylovaných a α 2,6-sialylovaných N-glykanov na inzulínovom receptore, zatiaľ čo na IGF2R sa fukosylácia zvyšuje (11). Celková sialylácia komplexných N-glykanov na syncytiotrofoblastovej membráne zostáva počas druhého a tretieho trimestra relatívne stabilná, bez signifikantných zmien (12). Zmeny v sialylácii ovplyvňujú interakcie medzi placentou a materským imunitným systémom a je možné predpokladať, že majú význam pre udržiavanie imunotolerance počas gravidity

Na imunologickej úrovni sa zdôrazňuje aj význam N-glykanov v regulácii aktivity NK buniek voči syncytiotrofoblastu v korelácii s ich zvýšenou cytotoxicitou a produkciou cytokínov počas systémovej zápalovej reakcie pri preeklampsii. Reciprocitu procesov dopĺňajú viaceré údaje o úlohe dendritických imunitných buniek v potenciácii expresie vyššieho množstva niektorých O-glykanov bunkami trofoblastu (4). Zmenená rovnováha expresie N-glykanov bola opísaná tiež v počiatočnom štádiu spontánneho potratu na podklade zmenenej expresie rôznych typov glykozyltransferáz. Poukazuje sa na dôležitosť dynamickej rovnováhy v enzýmovej výbave zúčastňujúcej sa procesu glykozylácie (13).

Pozorované dynamické zmeny v glykoproteíne v tkanive placenty sú dôležité pre reguláciu interakcií medzi materskými a fetálnymi bunkami, imunitnú toleranciu, angiogénu a metabolizmus placenty. Aberantná glykozylácia je spojená s patologickými stavmi, ako je preeklampsia alebo gestačný diabetes (14, 15).

Zmeny pozitívity galektínov počas gravidity

Doposiaľ boli v placente v rôznych populáciách buniek trofoblastu identifikované galektíny-1, -3, -7 až -10 a -13 až -17, pričom galektíny-13, -14 a -16 sú považované za placenta-predominantné, teda s expresiou prevažne obmedzenou na placentu. Expresia niektorých galektínov, ako sú galektíny-1, -3, -8, -13 a -14, je dynamicky regulovaná počas vývoja trofoblastu a závisí od jeho diferenciácie. Zatiaľ najlepšie preskúmané galektíny v kontexte placenty sú galektíny-1 a -3 (8, 9).

Galektín-1 je v období prvého trimestra vo veľkej miere exprimovaný bunkami syncytiotrofoblastu (STB), extravilózneho trofoblastu (EVT) a tiež deciduy v počiatočných štádiách gravidity, avšak jeho prítomnosť vo vilózných cytotrofoblastoch nebola potvrdená. Vysoká expresia galektínu-1 je popísaná aj v decidue na začiatku tehotenstva. Selektívne je exprimovaný uterinnými NK bunkami, kde indukuje apoptózu aktivovaných deciduálnych T buniek a tým prispieva k imunotolerancii matky voči plodu. Galektín-1 moduluje aj viaceré ďalšie imunitné mechanizmy, vrátane indukcie tolerogénnych dendritických buniek a expanzie IL-10-exprimujúcich regulačných T buniek. V treťom trimestri bola v bunkách STB a EVT fyziologickej placenty popísaná prítomnosť galektínu-2. Vo vilózných cytotrofoblastoch a decidue sa nachádza galektín-3, ktorý je výrazne exprimovaný najmä

v období implantácie, avšak jeho úloha zatiaľ nie je presne objasnená (9, 16).

Významná expresia bola zistená aj pri galektíne-7 v STB v prvom aj treťom trimestri, v bunkách EVT, v imunitných bunkách placentárnych klkov a decidue počas prvého trimestra a tiež v endoteli. Zvýšené hladiny galektínu-7 boli zaznamenané u pacientiek s preeklampsiou v porovnaní s fyziologicky prebiehajúcou graviditou (9, 16).

Galektín-8 je exprimovaný vo vilóznom a extravilóznom trofoblaste aj v bunkách deciduy. Bol identifikovaný ako „regulátor angiogenézy“ v cievnom a lymfatickom endoteli, avšak jeho funkcia v placente ani imunoregulačný efekt počas gravidity zatiaľ nie sú dostatočne objasnené (1).

Galektín-9 je predominantne exprimovaný v deciduálnych bunkách a v menšej miere v oblastiach cytotrofoblastu, zatiaľ čo galektín-10 bol v niektorých štúdiách detegovaný v STB prvého trimestra. Význam expresie galektínu-9 si vyžaduje ďalší výskum – na animálnych modeloch boli popísané jeho znížené hladiny pri spontánnom potrate. V humánnych štúdiách je zaujímavá zmena hladiny galektínu-9 v korelácii s pohlavím plodu a jeho možná úloha pri regulácii NK buniek, čím môže prispievať k imunosupresívnej aktivite počas prvého trimestra tehotenstva (1).

Primárne povrchovo v syncytiotrofoblaste (STB) sú exprimované galektíny-13, -14, -16 a -17, pričom galektín-13 je detegovateľný nielen na povrchovej membráne, ale aj intracelulárne. Galektín-13 bol prvýkrát izolovaný z ľudskej placenty spolu s galektínmi-14 a -16, čo vzbudilo značnú vedeckú pozornosť (17). Okrem expresie v STB je galektín-13 prítomný aj v sére gravidných žien (18). Nedávne štúdie naznačujú, že dynamika expresie galektínu-13 pri preeklampsii súvisí s koordinovaným pôsobením tohto

proteínu a antiangiogénnych faktorov, ako je sFlt-1, v materskom cievnom systéme. V tomto kontexte môže galektín-13 zohrávať dvojakú úlohu: v nízkych hladinách pôsobí ako počiatočný stimul podporujúci aktiváciu endotelu a nerovnováhu angiogenézy, zatiaľ čo v treťom trimestri môže pôsobiť ako prirodzený regulačný mechanizmus krvného tlaku matky. Jeho využitie ako biomarkera preeklampsie bolo však spochybnené pre nedostatočnú konzistentnosť výsledkov. Dysregulácia galektínu-13 môže prispieť k nerovnováhe zápalových procesov v placente počas gravidity a potenciálne k rozvoju gestačného diabetu. Niektoré práce dokonca opisujú schopnosť galektínu-13 viazať aj ligandy nezávisle od sacharidov, avšak tieto výsledky boli spochybnené a vyžadujú ďalší výskum (1, 19, 20).

Záver

Tieto a mnohé ďalšie nedávne štúdie naznačujú, že budúci výskum ľudskej placenty bude smerovať k hlbšiemu pochopeniu bunkového glykómu. Glykány zohrávajú ochrannú, regulačnú aj stabilizačnú úlohu a sacharidové jednotky na povrchu buniek sú kľúčové pre rozpoznávanie, integritu a štruktúru tkanív, ktoré ich exprimujú. Ich skúmanie prostredníctvom lektínových interakcií predstavuje významný potenciál pre budúce diagnostické aj terapeutické prístupy.

Podakovanie

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0646/25 „Zmeny glykokódu tkaniva placenty asociované s poruchami metabolizmu glukózy u matky ovplyvňujúce priebeh tehotenstva.“

Literatúra:

1. Blois S.M., Dveksler G., Vasta G.R., Freitag N., Blanchard V., Barrientos G. Pregnancy Galectinology: Insights Into a Complex Network of Glycan Binding Proteins. *Front Immunol.* 2019;10:1166; doi: 10.3389/fimmu.2019.01166.
2. Khorami-Sarvestani S., Vanaki N., Shojaeian S., Zarnani K., Stensballe A., Jeddi-Tehrani M., et al. Placenta: an old organ with new functions. *Front Immunol.* 2024;15; doi: 10.3389/fimmu.2024.1385762.
3. Bollová M., Palkovič M. Postmortalná analýza príčin prenatalnej úmrtnosti. In: Janegova A, editor. 60. fakultná konferencia študentskej vedeckej odbornej činnosti a XVII. vedecká konferencia doktorandov. Bratislava: Univerzita Komenského; 2023. p. 56–63.
4. Zhong J., Li J., Burton G.J., Koistinen H., Cheung K.W., Ng E.H.Y., et al. The functional roles of protein glycosylation

in human maternal-fetal crosstalk. *Hum Reprod Update.* 2024;30:81–108; doi: 10.1093/humupd/dmad024.

5. Than N.G., Romero R., Kim C.J., McGowen M.R., Papp Z., Wildman D.E. Galectins: guardians of eutherian pregnancy at the maternal-fetal interface. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23:23–31; doi: 10.1016/j.tem.2011.09.003.

6. Huang Z., Lai P.F., Cocker A.T.H., Haslam S.M., Dell A., Brady H.J.M., et al. Roles of N-linked glycosylation and glycan-binding proteins in placentation: trophoblast infiltration, immunomodulation, angiogenesis, and pathophysiology. *Biochem Soc Trans.* 2023;51:639–53; doi: 10.1042/BST20221406.

7. Chen M., Shi J.-L., Zheng Z.-M., Lin Z., Li M.-Q., Shao J. Galectins: Important Regulators in Normal and Pathologic

- Pregnancies. *Int J Mol Sci.* 2022;23:10110; doi: 10.3390/ijms231710110.
8. Unverdorben L., Jeschke U., Santoso L., Hofmann S., Kuhn C., Arck P., et al. Comparative analyses on expression of galectins 1-4, 7-10 and 12 in first trimester placenta, decidua and isolated trophoblast cells in vitro. *Histol Histopathol.* 2016;31:1095–111; doi: 10.14670/HH-11-739.
9. Jovanović Krivokuća M., Vilotić A., Nacka-Aleksić M., Pirković A., Čujić D., Legner J., et al. Galectins in Early Pregnancy and Pregnancy-Associated Pathologies. *Int J Mol Sci.* 2021;23:69; doi: 10.3390/ijms23010069.
10. Robajac D., Masnikosa R., Nemčovič M., Križáková M., Belická Kluková L., Baráth P., et al. Glycoanalysis of the placental membrane glycoproteins throughout placental development. *Mech Ageing Dev.* 2019;183:111151; doi: 10.1016/j.mad.2019.111151.
11. Robajac D., Masnikosa R., Miković Ž., Nedić O. Gestation-associated changes in the glycosylation of placental insulin and insulin-like growth factor receptors. *Placenta.* 2016;39:70–6; doi: 10.1016/j.placenta.2016.01.005.
12. Arkwright P.D., Redman C.W., Williams P.J., Dwek R.A., Rademacher T.W. Syncytiotrophoblast membrane protein glycosylation patterns in normal human pregnancy and changes with gestational age and parturition. *Placenta.* 1991;12:637–51; doi: 10.1016/0143-4004(91)90498-5.
13. Passaponti S., Pavone V., Cresti L., Ietta F. The expression and role of glycans at the feto-maternal interface in humans. *Tissue Cell.* 2021;73:101630; doi: 10.1016/j.tice.2021.101630.
14. Robajac D., Vanhooren V., Masnikosa R., Miković Ž., Mandić V., Libert C., et al. Preeclampsia transforms membrane N-glycome in human placenta. *Exp Mol Pathol.* 2016;100:26–30; doi: 10.1016/j.yexmp.2015.11.029.
15. Sgambati E., Marini M., Vichi D., Zappoli Thyron G.D., Parretti E., Mello G., et al. Distribution of the glycoconjugate oligosaccharides in the human placenta from pregnancies complicated by altered glycemia: lectin histochemistry. *Histochem Cell Biol.* 2007;128:263–73; doi: 10.1007/s00418-007-0312-8.
16. Jeschke U., Hutter S., Heublein S., Vrekoussis T., Andergassen U., Unverdorben L., et al. Expression and function of galectins in the endometrium and at the human feto-maternal interface. *Placenta.* 2013;34:863–72; doi: 10.1016/j.placenta.2013.07.005.
17. Fuselier C., Dumoulin A., Paré A., Nehmé R., Ajarrag S., Granger Joly de Boissel P., et al. Placental Galectins in Cancer: Why We Should Pay More Attention. *Cells.* 2023;12:437; doi: 10.3390/cells12030437.
18. Than N.G., Balogh A., Romero R., Kárpáti E., Erez O., Szilágyi A., et al. Placental Protein 13 (PP13) - A Placental Immunoregulatory Galectin Protecting Pregnancy. *Front Immunol.* 2014;5:348; doi: 10.3389/fimmu.2014.00348.
19. Sammar M., Drobnjak T., Mandala M., Gizurarson S., Huppertz B., Meiri H. Galectin 13 (PP13) Facilitates Remodeling and Structural Stabilization of Maternal Vessels during Pregnancy. *Int J Mol Sci.* 2019;20:3192; doi: 10.3390/ijms20133192.
20. Balogh A., Toth E., Romero R., Parej K., Csala D., Szenasi N.L., et al. Placental Galectins Are Key Players in Regulating the Maternal Adaptive Immune Response. *Front Immunol.* 2019;10:1240; doi: 10.3389/fimmu.2019.01240.

MUDr. Miriam Bollová

Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Sasinkova 4, Bratislava
miriam.bollova@fmed.uniba.sk

Wilsonova choroba

Miroslava Alexa

Medirex a. s., Bratislava, Slovenská republika

Wilsonova choroba je zriedkavé progresívne genetické ochorenie charakteristické poruchou metabolizmu medi. Je spôsobené mutáciou v géne ATP7B, lokalizovanom na dlhom ramienku 13. chromozómu (13q14). Na diagnostiku Wilsonovej choroby sa často využíva laboratórne stanovenie hladiny sérového ceruloplazmínu a medi a odpadu medi v 24-hodinovom moči. Medzi neodmysliteľnú časť diagnostiky patrí genetické vyšetrenie, oftalmologické vyšetrenie, magnetická rezonancia mozgu a dôležitý je aj rodinný skríning. Biopsia pečene a stanovenie medi v pečeni po jej vysušení sa indikuje vzhľadom na invazívnosť v prípade, ak nie sú presvedčivé ostatné diagnostické parametre.

Kľúčové slová: Wilsonova choroba, ATP7B, meď

Wilson disease

Summary

Wilson's disease is a rare progressive genetic disorder characterised by a problem with copper metabolism. It results from a mutation in the ATP7B gene, situated on the long arm of the 13th chromosome (13q14). To diagnose Wilson's disease, laboratory tests such as serum ceruloplasmin, copper levels, and 24-hour urinary copper excretion are commonly utilised. Genetic testing, ophthalmological examination, magnetic resonance imaging of the brain, and family screening are vital components of the diagnostic process. Liver biopsy and measurement of copper in dried tissue are highly invasive procedures and are only performed if other diagnostic tests are inconclusive.

Keywords: Wilson disease, ATP7B, copper

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 35-40

Wilsonova choroba je zriedkavé progresívne genetické ochorenie charakteristické poruchou metabolizmu medi. Dochádza k toxickému hromadeniu medi v tkanivách, najmä v pečeni, mozgu a rohovke (1). Toto ochorenie, nazývané aj hepatolentikulárna degenerácia, spôsobuje mutácia génu ATP7B. Ide o autozomálne recesívne ochorenie (2). ATP7B sa nachádza na dlhom ramienku 13. chromozómu (13q14), má veľkosť 80 kb a obsahuje 21 exónov, 20 intrónov. Kóduje transmembránovú meď-transportnú ATP-ázu P-typu (3). Gén je veľmi variabilný, v databáze The Human Gene Mutation Database bolo popísaných viac ako 700 mutácií. Proteín Wilsonovej choroby, ATP7B, je exprimovaný najmä v pečeni ale aj v obličkách, mozgu a placentе (3, 4). Mutovaný ATP7B a inaktivácia ATP7B transportéra vedie k poruche transportu medi z oblasti trans-Golgiho systému do lyzozómov a odtiaľ do žlče. Tým je porušená homeostáza medi. Taktiež je porušený transport medi pre syntézu ceruloplazmínu, v čoho dôsledku je znížená jeho sérová hladina (5, 6). Defekt v ATP7B vedie k nadmernému množstvu medi v hepatocytoch a k patológii pečene. Nadbytok medi je uvoľňovaný aj do cirkulácie a dochádza tak k patologickej akumulácii v tkanivách. Hromadenie medi v mozgu vedie k neurologickým symptómom a psychickým poruchám (1).

Svetová incidencia sa dnes odhaduje na 1:30 000 živonarodených detí a výskyt heterozygotných nosičov na 1:90 (7). Ochorenie postihuje rovnako mužov aj ženy. V

niektorých častiach Európy, ako Rumunsko a Sardínia, bol zaznamenaný niekoľkonásobne vyšší výskyt ochorenia (8). Na Kréte v malej horskej dedinke neďaleko mesta Heraklion bola počas 25 rokov klinicky a/alebo biochemicky diagnostikovaná Wilsonova choroba až šiestim z 90 narodených detí (9).

Funkcia medi v ľudskom organizme

Meď je esenciálny stopový prvok u ľudí a zvierat, patrí medzi ťažké kovy. Atóm medi má zabudovaný vo svojom aktívnom centre množstvo enzýmov, ktoré katalyzujú najmä oxidačno-redukčné reakcie. Patrí sem napr. cytochróm c oxidáza, Cu/Zn- závislá superoxid-dismutáza, tyrozináza či dopamín-β-hydroxyláza. Meď sa zúčastňuje mnohých biochemických procesov ako kofaktor metalloenzýmov. Tie katalyzujú veľké množstvo enzymatických procesov, ako napr. bunková respirácia, syntéza neurotransmiterov, tvorba pigmentu, ochrana proti oxidačnému stresu, „cross-linking“ kolagénu, elastínu a keratínu. Meď je taktiež esenciálna pre homeostázu železa a tak nepriamo ovplyvňuje hematopoézu a participuje na koagulácii a angiogenéze (10–12). Ľudský organizmus si zásoby medi nevytvára. Vzhľadom na vysoký toxický potenciál medi v bunke, musí byť jej príjem a výdaj v organizme precízne regulovaný (10).

Pre správnu funkciu ľudského tela je zásadná potreba udržiavať homeostázu medi. Pri jej narušení dochádza k patologickým prejavom. Príklady ťažkých vrodených ochorení pečene, pri ktorých dochádza k výraznému hromadeniu medi v pečeni sú Wilsonova choroba a idiopatická toxikóza. Naopak, vrodená Menkesova choroba sa prejavuje závažným nedostatkom medi v organizme (12). Nedávno sa zistilo, že abnormálna homeostáza medi zohráva úlohu aj v neurodegeneratívnych ochoreniach ako Parkinsonova choroba, Alzheimerova a Huntingtonova choroba, v priónových ochoreniach či v systémovom lupuse erythematosus (13).

Klinický obraz Wilsonovej choroby

V počiatočných štádiách choroby sa meď hromadí v pečeni. Po prekročení skladovacej kapacity pečene nastáva hromadenie medi v extrahepatálnych tkanivách s ich poškodením. V dôsledku mutácií enzýmu ATPáza 7B dochádza k hromadeniu medi v pečeni od narodenia a následné histologické zmeny sa môžu zistiť dlho pred klinickou manifestáciou Wilsonovej choroby. Klinický obraz môžu dokreslovať prejavy poškodenia ďalších orgánov a ovplyvňujú ho pravdepodobne aj epigenetické faktory a faktory vonkajšieho prostredia. U liečených pacientov (najmä D-penicilamínom) môžu klinickú symptomatológiu dokreslovať prejavy nežiadúcich účinkov liekov (10).

Hoci sa môže Wilsonova choroba vyskytnúť v akomkoľvek veku, prvé príznaky ochorenia pozorujeme najčastejšie medzi 5-35 rokom. Môže sa vyskytnúť aj neskorá manifestácia, u pacientov nad 70 rokov. Preto treba na toto ochorenie myslieť aj u starších pacientov. Naopak, najmladší pacient mal len 9 mesiacov. Asymptomatickí pacienti sú diagnostikovaní pri rodinnom skríningu (1, 14). Klinický priebeh a symptómy ochorenia sú veľmi variabilné. Rozlišujeme tri základné formy- hepatálnu, neurologickú a psychiatrickú. Veľa pacientov má súčasne hepatálnu s neurologickou formou. Zvyčajne po asymptomatickom období v rannom veku prevláda hepatálna forma. Hepatálna forma bola pozorovaná väčšinou u mladších jedincov, 83% pacientov bolo vo veku menej ako 10 rokov. Neuropsychiatrické formy sa vyskytovali so zvyšujúcim sa vekom, 74% pacientov malo viac ako 18 rokov (15, 16).

Hepatálna forma

Pečeňové poškodenie pri Wilsonovej chorobe môže manifestovať pestrým obrazom, a to od náhodného nálezu zvýšených hodnôt sérovej aktivity aminotransferáz až po obraz pokročilej cirhózy alebo fulminantného zlyhania pečene. Poškodenie pečene odráža rôzny stupeň zápalových zmien v pečeni, nekrózy hepatocytov so

vznikom fibrózy a cirhózy pečene, rozvojom portálnej hypertenzie a následne jej komplikácií najčastejšie v prvej alebo druhej dekáde života. Podiel pacientov s čisto hepatálnym postihnutím pri Wilsonovej chorobe je 35-50% (10).

Neurologická forma

Neurologická dysfunkcia je počiatočným klinickým prejavom Wilsonovej choroby u 40-60% pacientov. Typický je nástup okolo 20-teho roku, môže sa však vyskytovať v rozmedzí medzi 6. a 72. rokom (17). Neurologické príznaky Wilsonovej choroby sú rôzne, ale väčšinou sa týkajú dysfunkcie v extrapyramídovom systéme. Poškodenie centrálného nervového systému v dôsledku ukladania medi sa prejavuje dysartriou, poruchami pohybu (tremor, ataxia, mimovoľné pohyby, chorea, choreoatetóza), dystóniou, dysautóniou, parkinsonizmom, epileptickými záchvatmi a poruchami spánku (2, 18).

Psychiatrické prejavy pri Wilsonovej chorobe

Epidemiologické dáta uvádzajú, že 30% pacientov s Wilsonovou chorobou má spočiatku psychiatrické symptómy. Prvé psychiatrické prejavy sa môžu vyskytnúť v detstve. Medzi najčastejšie psychiatrické symptómy patrí zmena osobnosti, podráždenosť, úzkosť a depresia. Pacienti môžu mať aj samovražedné sklony. V priebehu progresie ochorenia sa môžu pridružiť ďalšie príznaky ako impulzivnosť, antisociálne správanie, katatónia, mánia, a zriedkavo psychóza (charakteristická schizofréniou, paranojou, bludmi a halucináciami). Boli pozorované aj kognitívne poruchy, poruchy spánku (dyssomnia), sexuálna dysfunkcia (vrátane nadmernej sexuálnej túžby), obsesívno-kompulzívna porucha či bipolárna porucha. Klinické symptómy sú často nešpecifické a spôsobujú ťažkosti v diagnostike. V prípade, že chýbajú hepatálne a neurologické prejavy, zvykne sa diagnostika Wilsonovej choroby oneskoriť (19, 20).

Očné príznaky pri Wilsonovej chorobe

Očné prejavy Wilsonovej choroby zahŕňajú Kayser-Fleischerov prstenec a takzvaný „sunflower cataract“ (21). Kayser-Fleischerov prstenec je takmer vždy obojstranný a je spôsobený extracelulárnym ukladaním medi v Descemetovej membráne rohovky. Javí sa zlaté, hnedé alebo zelené sfarbenie periférnej časti rohovky. Vyskytuje sa u takmer 100% pacientov s neurologickou formou, u 40-50% s hepatálnou formou a u 20-30% bezpríznakových pacientov. Je dôležitým diagnostickým znakom a na jeho identifikáciu je potrebné vyšetrenie štrbinovou lampou skúseným oftalmológom (22). Metódou, ktorá dokáže detegovať signifikantne viac prípadov Kayser-

Fleischerových prstencov je optická koherentná tomografia predného segmentu (anterior segment optical coherence tomography, AS-OCT). Ide o rýchlu bezkontaktnú vyšetровaciu metódu, ktorá si nevyžaduje lokálnu anestézu. To je veľkou výhodou najmä u pacientov s neuropsychiatrickou formou Wilsonovej choroby (10).

Okrem vyššie spomenutých foriem Wilsonovej choroby sa vyskytujú aj ďalšie, menej časté formy manifestácie. Pozorujeme hematologické prejavy, poškodenie srdca a obličiek, kostné a kĺbové poškodenie, dermatologické zmeny, gastrointestinálne prejavy a poškodenie endokrinného systému.

Diagnostika

Diagnostický algoritmus pre Wilsonovu chorobu je podľa Európskej asociácie pre štúdium pečene (European Association for Study of Liver EASL) založený na diagnostickom indexe, tzv. „Leipzigovom skóre“. Toto skóre zohľadňuje klinické, biochemické a molekulárne nálezy (23).

Na diagnostiku Wilsonovej choroby sa často využíva stanovenie hladiny sérového ceruloplazmínu a medi, medi v 24-hodinovom moči a detekcia Kayser-Fleischerovho prstenca. Medzi neodmysliteľnú časť diagnostiky patrí genetické vyšetrenie, magnetická rezonancia mozgu a dôležitý je aj rodinný skrining (15).

Tabuľka 1: Diagnostický skórovací systém pri Wilsonovej chorobe, upravené podľa Ferenci a kol. (23).

Test	Parameter	Skóre
Typické klinické príznaky		
Kayser-Fleischerov prstenec	prítomný neprítomný	2 0
Neurologické symptómy*	závažné mierne neprítomné	2 1 0
Sérový ceruloplazmín	normálny (> 0,2 g/l) 0,1 – 0,2 g/l < 0,1 g/l	0 1 2
Coombs-negatívna hemolytická anémia	prítomná neprítomná	1 0
Iné testy		
Koncentrácia medi v pečeni v grame sušiny (pri absencii cholestázy)	> 250 µg (> 4 µmol) 50 – 249 µg (0,8-4 µmol) normálna: <50 µg (0,8 µmol) rodamín pozitívne farbenie **	2 1 -1 1
Exkrécia medi v moči (pri absencii akútnej hepatitídy)	normálna 1- až 2-násobok horného limitu normy > 2-násobok horného limitu normy normálna ale > 5-násobok horného limitu normy po podaní D-penicilamínu	0 1 2 2
ATP7B molekulárno-genetické testovanie	mutácia na oboch chromozómoch mutácia na jednom chromozóme žiadna mutácia	4 1 0
Celkové skóre		
Vyhodnotenie	stanovená diagnóza diagnóza možná, potrebné ďalšie testy diagnóza veľmi nepravdepodobná	≥ 4 3 ≤ 2

* alebo typické abnormality na MRI mozgu

** ak nie je dostupné kvantitatívne stanovenie medi v pečeni

1. Laboratórne vyšetrenia

Sérový ceruloplazmín

Pri Wilsonovej chorobe je koncentrácia ceruloplazmínu zvyčajne pod 0,1 g/l. Sérové zníženie ceruloplazmínu pozorujeme najmä u pacientov s neurologickou formou Wilsonovej choroby. Treba myslieť na to, že v prípade akútneho zápalu môže dôjsť k nárastu koncentrácie na normálnu hladinu, keďže patrí medzi proteíny akútnej fázy. Sérový ceruloplazmín môže byť nízky aj v prípade značnej renálnej alebo črevnej straty bielkovín, malabsorpčného syndrómu alebo pri konečnom štádiu ochorenia pečene akejkoľvek etiológie (24).

Meď v sére

Množstvo sérovej medi je pri Wilsonovej chorobe zvyčajne znížené, porovnateľne so zníženým ceruloplazmínom. U pacientov so závažným poškodením pečene môže byť v norme. V prípade akútneho zlyhania pečene v dôsledku Wilsonovej choroby môže byť hladina medi v sére dokonca výrazne zvýšená. Je to spôsobené náhlym uvoľnením kovu z tkanivových zásob pečene (24).

Exkrécia medi v moči

Množstvo vylúčenej medi v 24-hodinovom moči je užitočné na diagnostiku a monitorovanie liečby Wilsonovej choroby. Ide o citlivý test, ktorý odráža hladinu voľnej sérovej medi. Moč je potrebné zbierať do nádoby bez obsahu medi a test sa má vykonať pred podaním chelátov. Je to výborný test u symptomatických pacientov, u asymptomatických však môže byť falošne negatívny (15, 24).

Pri diagnostike Wilsonovej choroby u detí môže byť nápomocný provokačný penicilamínový test. Pozitívny je, ak po podaní 1000 mg penicilamínu (500 mg podaných na začiatku zberu moču a ďalších 500 mg podaných po 12 hodinách v priebehu zberu moču) stúpne exkrécia medi nad 1600 µg/24 hod (25 µmol/24 hod). (10).

2. Biopsia pečene a kvantitatívne stanovenie medi v pečeni

Obsah medi v pečeni > 250 µg (4 µmol)/g tkaniva po vysušení sa považuje za najlepší biochemický dôkaz Wilsonovej choroby (22). Biopsia pečene s kvantifikáciou medi v parenchýme pečene je potrebná v prípade ak klinické príznaky a neinvasívne vyšetrenia neumožňujú určiť konečnú diagnózu alebo ak je podozrenie na inú, prípadne ďalšiu patológiu pečene.

3. Genetické vyšetrenie

Genetické testy sa stávajú čoraz dôležitejšími pre validáciu Wilsonovej choroby a umožňujú identifikovať postihnutých členov rodiny ešte v presymptomatickom štádiu. Výsledok je veľmi užitočný aj z dôvodu poznania či ide o homozygotného alebo heterozygotného jedinca (15). V prvom kroku sa pri podozrení na Wilsonovu chorobu zisťuje genetickým vyšetrením prítomnosť najčastejších mutácií vyskytujúcich sa v danej populácii. V slovenskej populácii sú to predovšetkým mutácie 3207>A (H1069Q); 3402delC; W779X; R778G; 1340del4. Diagnostiku môžu urýchliť DNA čipy, ktoré umožňujú súčasnú analýzu viacerých mutácií a polymorfizmov. Ak sa genotypovaním nezistia 2 mutácie génu pre Wilsonovu chorobu a pretrváva podozrenie na ňu, nasleduje sekvenovanie ATP7B génu (10).

4. Rodinný skrining

V rodine pacienta s Wilsonovou chorobou je nevyhnutný skrining ostatných členov rodiny. Riziko, že súrodenc bude homozygot, a preto sa vyvinie aj klinicky ochorenie, je 25%. U potomkov je riziko oveľa nižšie, len 0,5% (24).

5. Zobrazovacie techniky v diagnostike Wilsonovej choroby

Medzi zobrazovacie techniky používané na hodnotenie Wilsonovej choroby patrí magnetická rezonancia (MRI), MRS (magnetic resonance spectroscopy), SPETC (singlephoton emission computed tomography), PET (positron emission tomography) (25).

Terapia

Všetci pacienti s Wilsonovou chorobou, vrátane presymptomatického štádia, vyžadujú celoživotnú medikamentóznú liečbu (16). Cieľom terapie je dosiahnuť normálnu homeostázu medi. U pacientov s preťažením medi je cieľom jej negatívna bilancia, čo možno dosiahnuť zvýšenou exkréciou chelatačnou terapiou a znížením absorpcie medi zinkom (18). Pri liečbe sa využívajú dve skupiny látok- chelatačné látky (D-penicilamín a trietyléntetraamín) a zinkové soli (síran zinočnatý, glukonát zinočnatý, acetát zinočnatý, octan zinočnatý). Transplantácia pečene je jedinou liečebnou metódou u pacientov s Wilsonovou chorobou, u ktorých závažné poškodenie pečene neposkytuje dostatočný časový priestor pre zlepšenie medikamentóznou liečbou alebo u pacientov, u ktorých medikamentózna liečba nevedla k zlepšeniu klinického stavu (10).

Záver

Prejavy Wilsonovej choroby môžu byť veľmi rôznorodé a je potrebné na ne myslieť aj pri pacientoch s akýmkoľvek extrapyramídovým a cerebrálnym poškodením či s psychiatrickými poruchami. Je dôležité, aby sa toto ochorenie dostalo do povedomia praktických lekárov rovnako ako špecialistov. Hepatolentikulárna degenerácia je jednou z mála metabolických chorôb, ktoré možno úspešne farmakologicky liečiť, ak je diagnóza stanovená včas. Oneskorená diagnostika je jedným z

najvýznamnejších faktorov, ktorý je zodpovedný za nedostatočné liečebné výsledky. Pri včasnom nasadení terapie je prognóza pacientov dobrá a dĺžka života nie je v porovnaní so zdravou populáciou skrátená. Laboratórium stanovením sérovej koncentrácie medi a ceruloplazmínu, a medi v moči vie výrazne prispieť ku včasnému stanoveniu diagnózy, u diagnostikovaných pacientov môže monitoringom pacientov dopomôcť k adekvátnemu manažmentu terapie a tým k zlepšeniu klinického stavu pacientov.

Literatúra:

1. Bandmann O., Weiss K.H., Kaler S.G. Wilson's disease and other neurological copper disorders. *Lancet Neurol.* 2015;14:103–13; doi: 10.1016/S1474-4422(14)70190-5.
2. Weiss K.H., Schilsky M. Wilson Disease. In: Adam MP, Bick S, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Amemiya A, editors. *GeneReviews*®. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993.
3. Bull P.C., Thomas G.R., Rommens J.M., Forbes J.R., Cox D.W. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes gene. *Nat Genet.* 1993;5:327–37; doi: 10.1038/ng1293-327.
4. Tanzi R.E., Petrukhin K., Chernov I., Pellequer J.L., Wasco W., Ross B., et al. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nat Genet.* 1993;5:344–50; doi: 10.1038/ng1293-344.
5. Ferenci P. Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease: impact on genetic testing. *Hum Genet.* 2006;120:151–9; doi: 10.1007/s00439-006-0202-5.
6. Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., Evans K., Hayden M., Heywood S., et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet.* 2017;136:665–77; doi: 10.1007/s00439-017-1779-6.
7. Sandahl T.D., Laursen T.L., Munk D.E., Vilstrup H., Weiss K.H., Ott P. The Prevalence of Wilson's Disease: An Update. *Hepatology.* 2020;71:722–32; doi: 10.1002/hep.30911.
8. Lo C., Bandmann O. Epidemiology and introduction to the clinical presentation of Wilson disease. *Handb Clin Neurol.* 2017;142:7–17; doi: 10.1016/B978-0-444-63625-6.00002-1.
9. Dedoussis G.V.Z., Genschel J., Sialvera T.-E., Bochow B., Manolaki N., Manios Y., et al. Wilson disease: high prevalence in a mountainous area of Crete. *Ann Hum Genet.* 2005;69 Pt 3:268–74; doi: 10.1046/j.1529-8817.2005.00171.x.
10. Žigrai M. Wilsonova choroba. Herba; 2021.
11. Gupta A., Lutsenko S. Human copper transporters: mechanism, role in human diseases and therapeutic potential. *Future Med Chem.* 2009;1:1125–42; doi: 10.4155/fmc.09.84.
12. Pavelková M., Vysloužil J., Kubová K., Vetchý D. Biological role of copper as an essential trace element in the human organism. *Ceska Slov Farm.* 2018;67:143–53.
13. Gromadzka G., Tarnacka B., Flaga A., Adamczyk A. Copper Dyshomeostasis in Neurodegenerative Diseases- Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci.* 2020;21:9259; doi: 10.3390/ijms21239259.
14. Lucena-Valera A., Perez-Palacios D., Muñoz-Hernandez R., Romero-Gómez M., Ampuero J. Wilson's disease: Revisiting an old friend. *World J Hepatol.* 2021;13:634–49; doi: 10.4254/wjh.v13.i6.634.
15. Nagral A., Sarma M.S., Matthai J., Kukkle P.L., Devarbhavi H., Sinha S., et al. Wilson's Disease: Clinical Practice Guidelines of the Indian National Association for Study of the Liver, the Indian Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, and the Movement Disorders Society of India. *J Clin Exp Hepatol.* 2019;9:74–98; doi: 10.1016/j.jceh.2018.08.009.
16. Huster D. Wilson disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24:531–9; doi: 10.1016/j.bpg.2010.07.014.
17. Pfeiffer R.F. Wilson Disease. *Continuum (Minneap Minn).* 2016;22 4 Movement Disorders:1246–61; doi: 10.1212/CON.0000000000000350.

18. Mulligan C., Bronstein J.M. Wilson Disease: An Overview and Approach to Management. *Neurol Clin.* 2020;38:417–32; doi: 10.1016/j.ncl.2020.01.005.
19. Dalvi A. Wilson's disease: neurological and psychiatric manifestations. *Dis Mon.* 2014;60:460–4; doi: 10.1016/j.disamonth.2014.07.003.
20. Litwin T., Dusek P., Szafranski T., Dzieżyc K., Członkowska A., Rybakowski J.K. Psychiatric manifestations in Wilson's disease: possibilities and difficulties for treatment. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2018;8:199–211; doi: 10.1177/2045125318759461.
21. Goel S., Sahay P., Maharana P.K., Titiyal J.S. Ocular manifestations of Wilson's disease. *BMJ Case Rep.* 2019;12:e229662; doi: 10.1136/bcr-2019-229662.
22. Członkowska A., Litwin T., Dusek P., Ferenci P., Lutsenko S., Medici V., et al. Nature Reviews Disease Primers article: Wilson disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2018;4:21; doi: 10.1038/s41572-018-0018-3.
23. Ferenci P., Caca K., Loudianos G., Mieli-Vergani G., Tanner S., Sternlieb I., et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int.* 2003;23:139–42; doi: 10.1034/j.1600-0676.2003.00824.x.
24. Ferenci P. Diagnosis of Wilson disease. *Handb Clin Neurol.* 2017;142:171–80; doi: 10.1016/B978-0-444-63625-6.00014-8.
25. Członkowska A., Litwin T., Chabik G. Wilson disease: neurologic features. *Handb Clin Neurol.* 2017;142:101–19; doi: 10.1016/B978-0-444-63625-6.00010-0.

Mgr. Miroslava Alexa

Medirex a. s., člen MEDIREX GROUP
Galvaniho 17/C, Bratislava
miroslava.alex@medirex.sk

Biobankovanie na Slovensku a jeho výzvy

Kristína Hriňová¹, Andrej Minich¹, Dominik Slezák²

¹ Medirex Group Academy, n.o., Nitra

² Medirex Servis, s.r.o., Bratislava

Biobanky označujú kolekcie biologických vzoriek alebo genetických dát určených na výskumné účely. Sú kľúčové pre biomedicínsky výskum, klinické skúšky a prírodné vedy, najmä s rozvojom „omics“ disciplín a elektronických databáz. Biobanky sú nevyhnutné pre pokroky v personalizovanej a preventívnej medicíne. Existujú rôzne typy biobánk – od akademických až po komerčné – pričom akademické biobanky tvoria približne 95 % všetkých a zohrávajú zásadnú úlohu vo výskume. Organizácie ako ISBER (International Society for Biological and Environmental Repositories) a BBMRI-ERIC (Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure – European Research Infrastructure Consortium) podporujú štandardizáciu a kvalitu biobankovania. Európa, ktorá patrí k lídrom v oblasti biobankovania, čelí viacerým výzvam, vrátane etických, právnych a sociálnych otázok. Na zabezpečenie kvality a udržateľnosti biobankovania sú potrebné jasne definované postupy, štandardy a adekvátne financovanie, čo predstavuje kľúčovú tému odborných seminárov a konferencií. Slovensko, ktoré zatiaľ nie je plnohodnotným členom BBMRI-ERIC, pracuje na vytvorení národnej biobankovej siete.

Kľúčové slová: biobanky, biobankovanie, výzvy

Biobanking in Slovakia and its challenges

Summary

Biobanks are collections of biological samples or genetic data intended for research purposes. They are crucial for biomedical research, clinical trials, and the life sciences, particularly with the advancement of “omics” disciplines and electronic databases. Biobanks are essential for progress in personalized and preventive medicine. There are different types of biobanks, ranging from academic to commercial, with academic biobanks accounting for approximately 95% of all biobanks and playing a key role in research. Organizations such as ISBER and BBMRI-ERIC promote standardization and quality in biobanking. Europe, which is a global leader in the field, faces several challenges, including ethical, legal, and social issues. Clearly defined procedures, standards, and sustainable funding are needed to ensure both the quality and long-term viability of biobanking, and these remain key topics at workshops and conferences. Slovakia, which is not yet a full member of BBMRI-ERIC, is working towards establishing a national biobanking network.

Key words: biobanks, biobanking, challenges

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 41-43

Termín „biobanka“ bol prvýkrát použitý v roku 1996 v publikácii, ktorá skúmala úlohu oxidačného poškodenia DNA ako nezávislého rizikového faktora pri rakovine, a označoval využitie ľudského biologického materiálu (1). Odvtedy sa tento pojem používa na označenie akejkoľvek kolekcie biologických vzoriek alebo ľudských genetických dát vhodných na výskumné účely. Oblasť biobankovania sa neustále rozvíja a stala sa kľúčovým nástrojom biomedicínskeho výskumu, klinických štúdií a prírodných vied. Významný pokrok v tejto oblasti priniesol rozmach „omics“ disciplín, ako sú genomika, transkriptomika a proteomika, ako aj možnosť vytvárať rozsiahle elektronické databázy uchovávajúce veľké množstvá štruktúrovaných dát. Dostupnosť rozsiahlej zbierky patientskych vzoriek s príslušnými dátami je dnes kritickou požiadavkou pre rozvoj biomedicínskeho výskumu a klinických skúšaní a zároveň predstavuje základ personalizovanej a preventívnej medicíny (2).

Delenie biobánk, medzinárodné organizácie a normy

Existuje široké spektrum biobánk, od špecializujúcich sa na výskum konkrétneho ochorenia, cez projektové, až po komerčné biobanky a najnovšie aj virtuálne biobanky. Približne 95 % všetkých biobánk tvoria akademické biobanky, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu vo výskume na univerzitách. Nasledujú súkromné, komerčné biobanky orientované najmä na poskytovanie vzoriek pre klinické skúšanie (3).

Významnú úlohu pri podpore činnosti biobánk, ako aj pri riešení metodologických a etických výziev, zohrávajú medzinárodné organizácie (4). **ISBER (The International Society for Biological and Environmental Repositories)** podporuje inovácie, rozvoj infraštruktúry a vzdelávanie v oblasti biobankovania a štandardizuje prístupy v tejto oblasti. Jej hlavnou úlohou je tvorba smerníc

garantujúcich vysokú kvalitu vzoriek pre budúci výskum. Dokument ISBER Best Practices: Recommendations for Repositories uvádza najúspešnejšie postupy riadenia vzoriek vrátane zberu, dlhodobého skladovania, vyhľadávania a distribúcie (5).

Ďalšou významnou organizáciou je **BBMRI-ERIC (Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure – European Research Infrastructure Consortium)**, ktorej úlohou je spravovať zoznam európskych biobáň a poskytovať podporu novovznikajúcim biobankám v oblasti manažmentu kvality, informačných technológií a ochrany osobných údajov (GDPR). V súčasnosti je do BBMRI-ERIC zapojených 20 krajín EÚ, pričom najväčší počet biobáň sa nachádza v Spojenom kráľovstve, Švédsku, Holandsku, Francúzsku, Taliansku a Nemecku (6). Slovensko zatiaľ nie je plnohodnotným členom BBMRI-ERIC, figuruje však v pozícii „pozorovateľa“ a plánuje vstúpiť do tejto európskej siete.

S cieľom zabezpečiť konzistentnosť pri správe vzoriek a dát implementovali niektoré európske biobanky QMS (Quality Management System) na základe normy **ISO 9001:2015**. Tento systém však nepriniesol dostatočný efekt v oblasti štandardizácie. Za kľúčový mílnik v harmonizácii biobankovacích postupov na medzinárodnej úrovni sa preto považuje norma **ISO 20387:2018** (ISO 20387:2018 „Biobanking — General requirements for biobanking“). Jej všeobecným účelom je zabezpečiť dostupnosť biologického materiálu, ktorý garantuje reprodukovateľnosť a porovnateľnosť výsledkov vedeckého výskumu prostredníctvom štandardizácie jednotlivých procesov biobankovania, od odberu, transportu a spracovania, až po skladovanie a vydanie vzoriek tretej strane (7).

Biobankovanie na Slovensku

Slovenská republika sa postupne etabluje na oblasti biomedicínskeho výskumu zahŕňajúceho biobankovanie. Na základe Stratégie výskumu a inovácií pre inteligentnú špecializáciu Slovenskej republiky 2021 – 2027 (SK RIS3 2021+) bola v rámci domény Zdravá spoločnosť vytvorená iniciatíva Národnej biobankovej siete. Jej cieľom je vybudovať funkčnú národnú sieť biobáň, implementovať procesy biobankovania do slovenskej legislatívy, dobudovať technické a technologické zázemie na uchovávanie vzoriek a nastaviť štandardy v súlade s normou ISO 20387:2018. Takto má vzniknúť spoločná platforma pre realizáciu špičkového vedeckého výskumu.

Jednou z biobáň zapojených do tejto siete je **Biobanka pre nádorové a zriedkavé ochorenia**, ktorá je špecializovaným vedecko-výskumným pracoviskom Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Martine (8).

Ďalšou významnou biobankou je **MEDIXBANK**, ktorá funguje od roku 2020. Rozvíjala sa vďaka spolupráci s 27 klinikami, 84 lekármi z 12 medicínskych odborov a 4600

dobrovoľnými darcami. Vedeckej komunite ponúka takmer 30 000 vzoriek krvi, tkanív, DNA a iných biologických materiálov. Primárne sa zameriava na civilizačné ochorenia, ako sú diabetes mellitus a zápalové ochorenia čriev, ale poskytuje aj kolekcie vzoriek nádorových a infekčných chorôb. Doteraz bolo vydaných takmer 3 000 vzoriek a príslušných dát slovenským i zahraničným vedcom na účely biomedicínskeho výskumu. MEDIXBANK využíva biobankový softvér OpenSpecimen, vyvíjaný v spolupráci s poprednými biobankami sveta. Tento softvér sa používa v celom procese, od nábore pacienta až po výdaj vzoriek. Kvalitu práce so systémom zabezpečujú pravidelné školenia laboratórnych pracovníkov aj lekárov zapojených do výskumných štúdií (9).

Výzvy biobankovania

Európa vedie biobankový trh a v roku 2023 predstavovala trhovú podiel približne 35,16 % s hodnotou 27,07 miliardy USD (10). Napriek neustálemu progresu čelia biobanky mnohým výzvam – predovšetkým etickým, právnym a sociálnym otázkam. Okrem týchto otázok je potrebné brať do úvahy aj ďalšie aspekty, ako je infraštruktúra (spracovanie a skladovanie vzoriek) a štandardizované operačné postupy (zhromažďovanie, primárne spracovanie, anotácia, výdaj, distribúcia a sledovanie vzoriek).

Neoddeliteľnou súčasťou biobankovania je správa všetkých súvisiacich údajov, tzv. minimum data set (MDS), ktorý zahŕňa klinické informácie (patológia, liečba, výsledky), štruktúru databáz a informačných systémov, informovaný súhlas pacienta, nástroje na správu inventára a vyhľadávanie vzoriek. Ochrana údajov a súkromia je základným ľudským právom a musí byť vždy garantovaná. Darcovia vzoriek pre budúci výskum očakávajú kontrolu nad svojimi osobnými údajmi, ktoré majú zostať dôverné. Ochrana dát preto zahŕňa technické a bezpečnostné opatrenia, ktoré bránia ich zneužitiu a zabezpečujú presnosť. V biobankách je navyše problematika vlastníctva osobných údajov komplexná, keďže zahŕňa rôzne zainteresované strany (11).

Medzi ďalšie problémy biobankovania patria aj národné politiky, ekonomické modely (zdroje financovania, poplatky za využívanie, duševné vlastníctvo), modely správy a vzdelávania všetkých zainteresovaných strán – darcov, výskumníkov, grantových agentúr, inštitúcií uchovávajúcich vzorky či etických komisií (12). Zdroje financovania a samotná udržateľnosť biobanky sú dnes hlavnou témou rôznych seminárov a konferencií. Udržateľnosť bola aj jednou z hlavných tém na „Európskom týždni biobankovania“ (Europe Biobank Week Congress 2024) vo Viedni (13). Účastníci konferencie sa zhodli, že pre úspešnú budúcnosť biobáň je nevyhnutné vytvárať jasne definovanú marketingovú identitu, vypracovať realistický biznis plán a využívať externé zdroje financovania z grantových schém.

Dôležitosť jasne definovanej identity biobanky a vízia v podobe biznis plánu sú navyše jasne definované aj v novej ISO norme.

Záver

Od prvého použitia termínu „biobanka“ prešlo takmer 30 rokov a biobankovanie sa stalo kľúčovým nástrojom v biomedicínskom výskume, klinických skúškach a personalizovanej medicíne. Význam biobankovania

vzrástol najmä s rozmachom „omics“ vied. Rozvoj a vznik nových biobánk však prináša nové otázky v oblasti štandardizácie, harmonizácie postupov a udržateľnosti. Spolupráca, komunikácia, normy a vznik a činnosť organizácií v oblasti biobankovania môžu urýchliť riešenie týchto problémov a zabezpečiť kvalitu vedeckého výskumu a prispieť k zlepšeniu zdravotnej starostlivosti pre celú spoločnosť.

Literatúra:

1. Loft S., Poulsen H.E. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J Mol Med (Berl)*. 1996;74:297–312; doi: 10.1007/BF00207507.
2. Carey D.J., Fetterolf S.N., Davis F.D., Faucett W.A., Kirchner H.L., Mirshahi U., et al. The Geisinger MyCode community health initiative: an electronic health record-linked biobank for precision medicine research. *Genet Med*. 2016;18:906–13; doi: 10.1038/gim.2015.187.
3. Watson P.H., Barnes R.O. A proposed schema for classifying human research biobanks. *Biopreserv Biobank*. 2011;9:327–33; doi: 10.1089/bio.2011.0020.
4. Coppola L., Cianflone A., Grimaldi A.M., Incoronato M., Bevilacqua P., Messina F., et al. Biobanking in health care: evolution and future directions. *J Transl Med*. 2019;17:1–18; doi: 10.1186/s12967-019-1922-3.
5. Snapes E., Astrin J.J., Bertheussen Krüger N., Grossman G.H., Hendrickson E., Miller N., et al. Updating International Society for Biological and Environmental Repositories Best Practices, Fifth Edition: A New Process for Relevance in an Evolving Landscape. *Biopreserv Biobank*. 2023;21:537–46; doi: 10.1089/bio.2023.0140.
6. BBMRI-ERIC. *BBMRI-ERIC*. <https://www.bbmri-eric.eu/>. Accessed 2 Aug 2024.
7. ISO 20387:2018. ISO. <https://www.iso.org/standard/67888.html>. Accessed 2 Aug 2024.
8. Biobankslovakia. <https://www.biobankslovakia.sk/>.
9. medixbank. *medixbank*. <https://medixbank.com/>. Accessed 2 Aug 2024.
10. Biobanking Market. <https://www.precedenceresearch.com/biobanking-market>. Accessed 2 Aug 2024.
11. Hawkins A.K., O'Doherty K.C. “Who owns your poop?": insights regarding the intersection of human microbiome research and the ELSI aspects of biobanking and related studies | *BMC Medical Genomics* | Full Text. *BMC Med Genomics*. 2011;4:1–9; doi: 10.1186/1755-8794-4-72.
12. Rao A., Vaught J., Tulsie B., Olson D., Odeh H., McLean J., et al. Critical Financial Challenges for Biobanking: Report of a National Cancer Institute Study. *Biopreserv Biobank*. 2019;17:129–38; doi: 10.1089/bio.2018.0069.
13. Europe Biobank Week 2025. <https://www.europebiobankweek.eu/>. Accessed 26 Aug 2025.

Kristína Hriňová

Medirex Group Academy, n.o.

Novozámocká 1/67, Nita

kristina.hrinova@medirexgroupacademy.sk

Využitie rádiogenomiky v diagnostike nádorov prostaty – prehľad a perspektívy

Dávid Kocan

Rádiologická klinika, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Bratislava
Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

V dobe sústavne sa rozvíjajúcich nástrojov umelej inteligencie je rádiogenomika schopná poskytnúť personalizovaný prístup k detekcii a diagnostike nádorových ochorení prostaty. Primárnym cieľom tohto systematického prehľadu je zhrnúť súčasný stav poznania a využitia rádiomiky, genomiky a rádiogenomiky v oblasti PCa a zhodnotiť ich prínos v diagnostickom algoritme. Zistenia sú konfrontované s výsledkami aktuálne prebiehajúcich štúdií a ďalšími publikovanými prácami, vrátane porovnania s nádormi pľúc.

Kľúčové slová: nádory prostaty, biomarkery, rádiogenomika, rádiomika, multiparametrické MRI, personalizovaná medicína

The use of radiogenomics in the diagnosis of prostate tumours - a review and perspectives

Summary

In an era of rapidly evolving artificial intelligence tools, radiogenomics offers a personalized approach to the detection and diagnosis of prostate cancer. The primary aim of this systematic review is to summarize the current state of knowledge and the applications of radiomics, genomics, and radiogenomics in PCa, and to evaluate their contribution to the diagnostic algorithm. The findings are compared with ongoing studies and other published work, including parallels with lung cancer.

Key words: prostate cancer, biomarkers, radiogenomics, radiomics, multiparametric magnetic resonance imaging, personalized medicine

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 44-48

Úvod

Nádorové ochorenia prostaty predstavujú pri narastajúcej incidencii a prevalencii v populácii stále intenzívne diskutovanú tému. Pretrvávajúcou otázkou, a to aj podľa súčasných odporúčaní Európskej urologickej spoločnosti, zostáva zavedenie populačného skríningu. Dôkazom významného postavenia tejto problematiky je aj aktuálne prebiehajúci Populačný pilotný program včasného záchytu karcinómu prostaty realizovaný v Českej republike. Jeho cieľom, je nastavenie a vyhodnotenie postupov určených pre včasný záchyt ochorenia. Do diagnostického algoritmu sa zároveň postupne dostáva aj aktuálne diskutovaná téma prepojenia rádiomiky a genomiky, ako aj ich kombinácie, s cieľom ešte presnejšieho záchytu klinicky významného karcinómu prostaty (1).

Prínos rádiomiky, genomiky a rádiogenomiky

Rádiogenomika, ako interdisciplinárny prístup spájajúci rádiomiku (kvantitatívnu analýzu zobrazovacích dát) a genomiku (štúdium genetických a molekulárnych profilov nádorov), môže poskytnúť presné zobrazovacie biomarkery, ktoré by v niektorých prípadoch mohli nahradiť genetické testovanie. Biomarkery rádiomiky a rádiogenomiky majú potenciál predikovať riziko aj terapeutické výsledky a môžu byť využité na

personalizáciu liečby v rámci jednotlivých terapeutických možností. Na ich validáciu sú však nevyhnutné rozsiahlejšie prospektívne štúdie a ďalšia štandardizácia metodických prístupov (2).

Súčasne postavenie zobrazovacích metód vrátane hybridných

Ako uvádzajú Wei a kol., výsledky MULTIPROS štúdie potvrdili, že prebiopické multiparametrické MRI je presné pri zobrazovaní klinicky významného karcinómu prostaty (csPCa). Kombinácia fúznej biopsie s využitím USG/MRI zobrazenia so systematickou biopsiou odhalila viac klinicky významných lézií než samotná systematická biopsia. V ich prospektívnej, randomizovanej štúdii, realizovanej v období január 2015 – august 2020, bolo zahrnutých 582 pacientov (priemerný vek 65 ± 6 rokov), ktorí absolvovali mpMRI. U 413 z nich bolo PI-RADS skóre ≥ 3 . MpMRI správne identifikovalo 131 zo 182 csPCa lézií u 89 mužov (senzitivita 72 %). Špecifická, pozitívna a negatívna prediktívna hodnota boli 71 % (91/128), 78 % (131/168) a 64 % (91/142) (3).

Multiparametrická MRI (mpMRI) sa v súčasnosti používa na zobrazenie nádoru, lokálno-regionálny staging, sledovanie pacientov v rámci aktívneho dohľadu (active surveillance) a na vyhodnotenie terapeutickú odpovede. Fúzia TRUS/MRI vo všeobecnosti zlepšuje výťažnosť

transrektálnych biopsií. Zobrazovanie pomocou prostatického špecifického membránového antigénu (PSMA) v PET vyšetreniach je etablovanou metódou na hodnotenie biochemickej recidívy. PSMA PET/CT je nadradená konvenčným zobrazovacím metódam pri určovaní N a M štádia. PET/MRI navyše zvyšuje senzitivitu pri detekcii karcinómu prostaty (4).

Väčšina prác s využitím PET/MRI sa zameriavala na re-staging karcinómu prostaty po liečbe, pričom diagnostika dominantnej lézie a jej charakterizácia pomocou PET/MRI sa v posledných rokoch stáva predmetom rastúceho záujmu, najmä v súvislosti s vývojom rádioligandov špecifických pre PSMA. Nedávno publikované štúdie ukázali, že PSMA PET/MRI môže zlepšiť diagnostiku PCa v porovnaní so samotnou mpMRI. Štúdia Ferrara a kol. preukázala senzitivitu 96 % a špecificitu 81 %. Ďalšie práce Parka a kol. a Hicksa a kol. ukázali, že 68Ga-PSMA-11 PET/MRI má vyššiu pozitívnu prediktívnu hodnotu než mpMRI pri bilaterálnych nádoroch (70 % oproti 18 %) (5).

Nové pokročilé MRI sekvencie

S rastúcim záujmom o kombináciu MRI dát s klinickými a genomickými údajmi sa adekvátne zvyšuje aj využitie rádiomiky a rádiogenomiky. Takto získané informácie možno využiť pri vývoji nových diagnostických nástrojov založených na automatickej segmentácii a detekcii klinicky významného karcinómu prostaty (PCa) pomocou metód strojového učenia. Do popredia sa dostávajú viaceré pokročilé prístupy v tejto oblasti diagnostiky.

1. Difúzne vážené metódy

a) Restriction spectrum imaging (RSI) - pokročilá difúzne vážená technika, ktorá používa viacnásobné získavanie difúzie s vopred definovaným rozsahom hodnôt b-koeficientu.

b) VERDICT - vaskulárna, extracelulárna a difúzia s reštrikciou pre cytometriu v nádoroch

VERDICT pracuje s modelmi s rôznymi difúznymi časmi a difúznymi váženiami a priraduje signál DWI k trom hlavným zložkám: intracelulárnej tekutine, tekutine v extracelulárnom extravaskulárnom priestore a vaskulárnej tekutine v sieti kapilár.

c) DWIBS - Zoom DWI a difúzne-vážené celotelové zobrazenie s potlačením okolitého signálu - zlepšuje kvalitu obrazu a znižuje skreslenie obrazu pri MRI prostaty.

2. MRI metódy na báze perfúzie

a) DCE-MRI - poskytuje informácie o vaskularite nádoru získaním série snímok pomocou 3D T1 váženej rýchlej gradientnej echo sekvencie s vysokým časovým rozlíšením po podaní kontrastnej látky

b) Arterial Spin Labeled (ASL) - MRI ASL meria úroveň perfúzie v tkanive bez použitia exogénnej kontrastnej látky a vo veľkej miere sa používa v mozgu a obličkách. Potenciál zobrazovania prostaty ASL je pomocou

modifikovanej sekvencie FAIR (spatially confined flow-sensitive alternating inversion recovery)

3. Metódy MR spektroskopie - Proton MRS/MRSI

S rastúcim záujmom o kombináciu MRI dát s klinickými a genomickými informáciami sa primerane zvyšuje aj využitie rádiomiky a rádiogenomiky. Takto získané údaje je možné využiť pri vývoji nových diagnostických nástrojov založených na automatickej segmentácii a detekcii klinicky významného karcinómu prostaty pomocou metód strojového učenia. Nižšie uvádzame viaceré pokročilé prístupy v tejto oblasti diagnostiky (6).

Rádiomika

Rádiomika je kvantitatívna metóda používaná na analýzu údajov získaných zo zobrazovacích vyšetrení, vrátane mpMRI, na hodnotenie nádorových ochorení (vrátane karcinómu prostaty – PCa), ale aj iných patologických procesov. Jej cieľom je extrahovať veľké množstvo kvantitatívnych znakov zo zobrazovacích dát a využiť ich na tvorbu modelov schopných klasifikovať a predikovať rôzne aspekty PCa, ako sú diagnostika, prognóza či odpoveď na liečbu (7).

Dominguez a kol. publikovali prácu zameranú na tvorbu modelu strojového učenia (ML) pre diagnostiku klinicky významného karcinómu prostaty (csPCa) podľa Gleason skóre (GS), založeného na rádiomických parametroch biparametrického MRI (bpMRI) a klinických údajoch. Do retrospektívnej štúdie bolo zaradených 86 hispánskych mužov (vek $60 \pm 8,2$ roka, medián PSA denzity [PSA-D] $0,15 \text{ ng/mL}^2$) s PCa, ktorí absolvovali 3T MRI pred biopsiou, nasledovanou cieľovou MRI-USG fúznou a systematickou biopsiou. Dvaja nezávislí examinátori vykonali 2D segmentáciu lézií v T2-vážených obrazoch a ADC mapách. Klinicky významný nádor bol definovaný ako $GS \geq 7$, nevýznamný ako $GS = 6$. Výsledky ukázali, že rádiomické charakteristiky z T2-vážených obrazov a ADC máp sú asociované s Gleason skóre. Odvođené skóre z týchto črt sa preto javí ako významný marker pri hodnotení agresivity PCa (8).

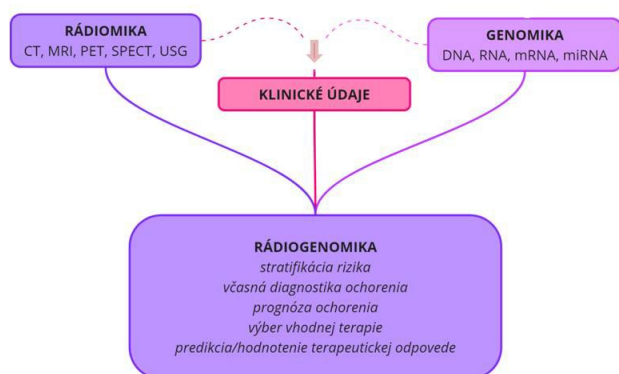
CT a vzájomná korelácia rádiomických charakteristík s cirkulujúcimi nádorovými bunkami

Integrácia tekutej biopsie cirkulujúcich nádorových buniek (CTC) a bezbunkovej DNA (cell-free DNA, cfDNA) s ďalšími minimálne invazívnymi metodikami môže priniesť komplexnejší pohľad na ochorenie. Morrison a kol. skúmali prínos súbežnej bunkovej a molekulárnej analýzy CTC a cfDNA v kombinácii s rádiomickou analýzou CT vyšetrení u pacientov s metastatickým karcinómom prostaty rezistentným na kastráciu (mCRPC). Rádiomická analýza preukázala koreláciu s počtom CTC a s hladinou cfDNA v plazme. Integrácia bunkových, molekulárnych a rádiomických údajov v rámci multiparametrického

prístupu sa ukazuje ako možná a prínosná stratégia pre komplexnejšie modelovanie a predikciu ochorenia (9).

Kľúčové zistenia v prípade kombinácie MRI a nástrojov umelej inteligencie

MRI v kombinácii s nástrojmi umelej inteligencie (AI) prináša významné zlepšenie nielen v samotnej detekcii, ale aj v presnejšej lokalizácii nádorov prostaty. Diagnostický a prognostický prínos spočíva najmä v znížení závislosti od invazívnych biopsií a v efektívnejšom plánovaní liečby. Problémy s interpretovateľnosťou modelov AI si však vyžadujú multicentrické štúdie a širšie overenie. Manažment karcinómu prostaty zaznamenal revolučný posun vďaka využitiu AI pri MRI, ktoré výrazne zlepšilo detekciu a lokalizáciu nádorov. Tieto pokroky, spolu so schopnosťou AI predikovať priebeh ochorenia po liečbe – napríklad riziko biochemickej recidívy – predstavujú významný prínos pre patientsky orientovanú zdravotnú starostlivosť (10).



Obr. 1 Schéma prepojenia rádiomiky a genomiky

Prepojenie metód (rádiomika a genomika) – vlastné spracovanie podľa Mytsyk a kol. (18)

Genomika

Genomika zahŕňa hodnotenie genomických markerov, ktoré sú prítomné v biopsiách nádorov (11). Využíva kombináciu rekombinantnej DNA, metód sekvenovania DNA a bioinformatiky na sekvenovanie, zostavovanie a analýzu štruktúry a funkcie genómov. Genomické biomarkery, overené ako nezávislé prediktory, sa v súčasnosti čoraz viac uplatňujú v klinickej praxi pri rozhodovaní o liečbe pacientov s karcinómom prostaty (PCa). V súčasnosti sú schválené a dostupné tri genomické testy: Oncotype Dx, Prolaris a Decipher. Ďalším skúmaným tkanivovým biomarkerom je mutovaný tumor-supresorový gén fosfatáza a tenzín homolog (PTEN), ktorý sa hodnotil aj v rámci rádiogenomiky karcinómu prostaty v kombinácii s údajmi z celoexómového sekvenovania DNA (12).

Rádiogenomika

Rádiogenomika predstavuje vysoko personalizovaný prístup, ktorý má potenciál stať sa budúcnosťou stratifikácie rizika pri karcinóme prostaty (PCa). Jej prínos spočíva v schopnosti zachytiť heterogenitu ochorenia, ktorá často komplikuje diagnostiku. Aj keď je potrebný ďalší výskum špecifických biomarkerov, súčasne dostupné tri genomické panely poskytujú solídny základ pre nadväzujúce štúdie:

- Prolaris® test (Myriad), využívajúci hodnotenie rizika bunkového cyklu (CCR), preukázal silnú asociáciu medzi CCR skóre a extrakapsulárnym šírením nádoru.
- Kontrastné MRI charakteristiky nádorov v periférnej zóne vykazujú významnú súvislosť s Gleasonovým skóre a stratou expresie PTEN.
- Decipher génový panel v kombinácii s Insight Segmentation and Registration Toolkit (ITK) ukázal silnú koreláciu medzi Gleasonovým skóre a výsledkami testu (11)

Súčasný výzvy a limitácie rádiogenomiky

Rádiogenomika predstavuje veľký prísľub, avšak ide o relatívne novú oblasť výskumu, ktorá so sebou prináša viaceré limitácie. Za posledných päť rokov bolo publikovaných len niekoľko štúdií zameraných na karcinóm prostaty (PCa) a jej praktické využitie v klinickej medicíne zatiaľ nebolo jednoznačne ustanovené (12).

Rádiopatologická integrácia poznatkov a jej úskalia

Diagnostický proces karcinómu prostaty (PCa) má stále svoje slabé stránky. Medzi ne patria falošne pozitívne nálezy na mpMRI, ktoré môžu súvisieť s prostatitídou, stromálnymi a hyperplastickými uzlami alebo uzlami s hemoragickým obsahom v tranzitórnej zóne. Takéto lézie sa často klasifikujú ako PI-RADS 3 alebo vyššie, čo vedie k nadužívaniu biopsií. Podobne, chybná segmentácia podozrivých ložísk môže viesť k odberu vzorky z nesprávneho miesta. Napokon, aj chyby v histologickej interpretácii môžu spôsobiť nesprávnu klasifikáciu nádorových ložísk alebo ich úplné prehliadnutie, čo môže viesť k podhodnoteniu lézií mpMRI pôvodne označených ako klinicky významný karcinóm prostaty (csPCa) (13).

Význam zavedenia multidisciplinárnych tímov

Zriadenie spoločného rádiologicko-patologického tumor boardu by mohlo pomôcť odhaliť a vyriešiť diagnostické nezrovnalosti ešte pred konečným rozhodnutím. Tým by sa znížila diagnostická neistota aj psychologická záťaž pôsobiaca na lekárov a pacientov, podobne ako je to zaužívané pri manažmente karcinómu prsníka. Diskutovať by sa mali najmä lézie so stredným skóre PI-RADS alebo tie, ktoré sa nachádzajú v zložitejších lokalitách. V prípadoch so skóre PI-RADS 4 a vyšším, kde existujú

rádiologicko-patologické diskrepancie, by multidisciplinárny prístup mohol pomôcť odhaliť chyby, ako sú falošne pozitívne nálezy na mpMRI alebo odber biopptickej vzorky z nesprávnej oblasti. Dôležitou otázkou je aj voľba typu biopsie – cieleňá alebo saturačná biopsia podozrivých lézií pomocou mpMRI by mohla znížiť počet opakovaných zákrokov, a tým aj riziko komplikácií. Onkologickým centráram sa preto odporúča preberať jednotlivé prípady v multidisciplinárnych tímoch (13).

Diskusia

Z metaanalýzy publikovanej Castaldo a kol. vyplýva, že do nej bolo zahrnutých 37 štúdií, z ktorých 29 bolo nakoniec spracovaných. Analýza využitia metód strojového učenia na detekciu karcinómu prostaty (PCa) ukazuje na ich obmedzené použitie a nedostatok štandardizácie, čo bráni širšej implementácii týchto prístupov v klinickej praxi (14).

Parciálne odlišná situácia je pri využívaní nástrojov umelej inteligencie (AI) v diagnostike nádorových ochorení pľúc. Podobne ako pri PCa, aj tu prebieha intenzívna diskusia o ich prínose, avšak v tejto oblasti je progres v poznatkoch a štandardizácii výraznejší. Chassagnon a kol. vo svojom prehľade opisujú používanie nástrojov AI v klinickej praxi pre nádory hrudníka. Súčasnú štúdiu sa podľa ich zistení zameriavajú najmä na redukciu falošne pozitívnych náleзов pri detekcii pľúcnych nodulov, s dôrazom na ich ďalšiu charakterizáciu (napr. volumetria). Okrem využitia AI v rámci National Lung Cancer Screening Trial (NLST) sa tieto prístupy uplatňujú aj pri tzv. virtuálnej biopsii, ktorá umožňuje predikciu terapeutickú odpoveď a prežívania pacientov (15).

Podľa zistení Lococo a kol. nástroje umelej inteligencie zásadným spôsobom ovplyvňujú manažment nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC) augmentáciou viacerých aspektov, vrátane určovania štádia ochorenia, hodnotenia prognózy, predikcie liečby a monitorovania terapeutickú odpoveď. Algoritmy dokážu predpovedať odpoveď na jednotlivé terapeutické modalítity – chirurgickú, rádioterapeutickú, chemoterapeutickú aj imunoterapiu (16).

Tieto zistenia podporuje aj práca s nástrojom LUCY (Lung Cancer histology), ktorý sa zameriava na charakterizáciu

NSCLC priamo z CT skenov. Do hodnotenia bolo zahrnutých 182 adenokarcinómov a 186 skvamocelulárnych karcinómov pľúc. LUCY dosiahla hodnotu plochy pod krivkou (AUC) nad 77 % vo všetkých histologických subtypoch NSCLC pri analýze lokalizácie tumoru a gradingu, čo potvrdzuje jej prínos pre predikciu ochorenia. Cucchiara a kol. uvádzajú, že nádory pľúc sa stali paradigmatickým príkladom personalizovanej medicíny v kontexte prepojenia tekutej biopsie a rádiomiky. Rastúci počet publikovaných štúdií naznačuje, že tieto prístupy môžu priniesť účinný spôsob skríningu a včasnej diagnostiky pľúcnych nádorov, ako aj monitorovania zmien v molekulárnom profile tumoru. Implementáciu rádiomiky a tekutej biopsie do klinickej praxe by mohol podporiť systém založený na umelej inteligencii, ktorý by integroval klinické údaje pacientov s molekulárnymi profilmi nádorov a charakteristikami zobrazovacích metód (1, 17).

Záver

Včasná detekcia väčšiny prípadov karcinómu prostaty zostáva výzvou aj napriek neustále narastajúcim poznatkom. V súčasnosti je primárnym spôsobom diagnostiky podozrenia na karcinóm prostaty histopatologické vyšetrenie. Tento proces sa však vo veľkej miere spolieha na biopsiu, ktorá nesie riziko chýbajúcej alebo nesprávnej diagnózy. Takéto chyby v histopatológii majú priamy vplyv na diagnostickú presnosť rádiomických analýz. Zvýšenie presnosti histopatologického vyšetrenia preto môže významne prispieť k zlepšeniu výkonnosti rádiomických modelov. Hoci je potrebný ďalší výskum v oblasti rádiogenomiky, aby sa mohla plnohodnotne uplatniť ako diagnostický nástroj, jej potenciál v poskytovaní personalizovaných údajov o každom nádore je neprehliadnuteľný. Rádiogenomika sa tak môže stať perspektívnou metódou pre lepšiu stratifikáciu rizika karcinómu prostaty (11).

Podakovanie:

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v súvislosti s realizáciou projektu NFP313010Q927 GENOSCAN: Zavedenie inovatívneho testu pre screening a monitoring onkologických pacientov - GenoScan Lbquant.

Literatúra:

1. Věstník MZ ČR 11/2023. 2023.
2. Lo Gullo R., Daimiel I., Morris E.A., Pinker K. Combining molecular and imaging metrics in cancer: radiogenomics. *Insights Imaging*. 2020;11:1; doi: 10.1186/s13244-019-0795-6.
3. Wei C., Szewczyk-Bieda M., Bates A.S., Donnan P.T., Rauchhaus P., Gandy S., et al. Multicenter Randomized Trial Assessing MRI and Image-guided Biopsy for Suspected Prostate Cancer: The MULTIPROS Study. *Radiology*. 2023;308:e221428; doi: 10.1148/radiol.221428.
4. Dos Santos D.N., Horvat N., Dias A.B., Mota M., Veloso Filho G., Schoen K., et al. Prostate Cancer Imaging: What We Already Know and What Is on the Horizon. *Radiographics*. 2022;42:E123-4; doi: 10.1148/rg.210134.
5. Fernandes M.C., Yildirim O., Woo S., Vargas H.A., Hricak H. The Role of MRI in Prostate Cancer, Current and Future Directions. *MAGMA*. 2022;35:503-21; doi: 10.1007/s10334-022-01006-6.

6. Dwivedi D.K., Jagannathan N.R. Emerging MR methods for improved diagnosis of prostate cancer by multiparametric MRI. *Magn Reson Mater Phys.* 2022;35:587–608; doi: 10.1007/s10334-022-01031-5.
7. Chaddad A., Tan G., Liang X., Hassan L., Rathore S., Desrosiers C., et al. Advancements in MRI-Based Radiomics and Artificial Intelligence for Prostate Cancer: A Comprehensive Review and Future Prospects. *Cancers (Basel).* 2023;15:3839; doi: 10.3390/cancers15153839.
8. Dominguez I., Rios-Ibacache O., Caprile P., Gonzalez J., San Francisco I.F., Besa C. MRI-Based Surrogate Imaging Markers of Aggressiveness in Prostate Cancer: Development of a Machine Learning Model Based on Radiomic Features. *Diagnostics (Basel).* 2023;13:2779; doi: 10.3390/diagnostics13172779.
9. Morrison G., Buckley J., Ostrow D., Varghese B., Cen S.Y., Werbin J., et al. Non-Invasive Profiling of Advanced Prostate Cancer via Multi-Parametric Liquid Biopsy and Radiomic Analysis. *Int J Mol Sci.* 2022;23:2571; doi: 10.3390/ijms23052571.
10. Feretzakis G., Juliebø-Jones P., Tsaturyan A., Sener T.E., Verykios V.S., Karapiperis D., et al. Emerging Trends in AI and Radiomics for Bladder, Kidney, and Prostate Cancer: A Critical Review. *Cancers (Basel).* 2024;16:810; doi: 10.3390/cancers16040810.
11. Banerjee V., Wang S., Drescher M., Russell R., Siddiqui M.M. Radiogenomics influence on the future of prostate cancer risk stratification. *Ther Adv Urol.* 2022;14:17562872221125317; doi: 10.1177/17562872221125317.
12. Ferro M., Cobelli O., Vartolomei M.D., Lucarelli G., Crocetto F., Barone B., et al. Prostate Cancer Radiogenomics—From Imaging to Molecular Characterization. *Int J Mol Sci.* 2021;22:9971; doi: 10.3390/ijms22189971.
13. Mata L.A., Retamero J.A., Gupta R.T., García Figueras R., Luna A. Artificial Intelligence-assisted Prostate Cancer Diagnosis: Radiologic-Pathologic Correlation. *Radiographics.* 2021;41:1676–97; doi: 10.1148/rg.2021210020.
14. Castaldo R., Cavaliere C., Soricelli A., Salvatore M., Pecchia L., Franzese M. Radiomic and Genomic Machine Learning Method Performance for Prostate Cancer Diagnosis: Systematic Literature Review. *J Med Internet Res.* 2021;23:e22394; doi: 10.2196/22394.
15. Chassagnon G., De Margerie-Mellon C., Vakalopoulou M., Marini R., Hoang-Thi T.-N., Revel M.-P., et al. Artificial intelligence in lung cancer: current applications and perspectives. *Jpn J Radiol.* 2023;41:235–44; doi: 10.1007/s11604-022-01359-x.
16. Lococo F., Ghaly G., Chiappetta M., Flamini S., Evangelista J., Bria E., et al. Implementation of Artificial Intelligence in Personalized Prognostic Assessment of Lung Cancer: A Narrative Review. *Cancers (Basel).* 2024;16:1832; doi: 10.3390/cancers16101832.
17. Cucchiara F., Petrini I., Romei C., Crucitta S., Lucchesi M., Valleggi S., et al. Combining liquid biopsy and radiomics for personalized treatment of lung cancer patients. State of the art and new perspectives. *Pharmacological Research.* 2021;105643; doi: 10.1016/j.phrs.2021.105643.
18. Mytsyk Y., Borzhiyevs'kyi A., Kobilnyk Y., Shulyak A.V., Dutka I., Borzhiyevs'kyi O., et al. Personalized management of prostate cancer: from molecular and imaging markers to radiogenomics. *Pol J Radiol.* 2022;87:e58–62; doi: 10.5114/pjr.2022.113204.

MUDr. Dávid Kocan

Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Sasinkova 4, Bratislava
davidkocan93@gmail.com

Výskyt *Enterobacteriaceae* produkujúcich karbapenemázy v rokoch 2019 – 2023.

Kissová Soňa¹, Sojka Martin², Krenželoková Michaela²

¹ Oddelenie klinickej mikrobiológie, Medirex, a.s., Bratislava

² Národné referenčné centrum pre sledovanie rezistencie mikroorganizmov na antibiotiká, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

Baktérie produkujúce karbapenemázy predstavujú významný klinický problém v medicíne. V rámci multirezistentných baktérií sú jedným z najzávažnejších problémov v súvislosti s nozokomiálnymi nákazami. Sledovanie týchto kmeňov a následné opatrenia predstavujú dôležitý krok pre nastavenie správnej liečby pacienta a zamedzenie šírenia týchto kmeňov v nemocničných zariadeniach. V nasledujúcom článku sa venujeme výskytu baktérií produkujúcich karbapenemázy vykultivovaných v laboratóriu Oddelenia klinickej mikrobiológie, Medirex, a.s., Bratislava, v rokoch 2019 až 2023.

Kľúčové slová: karbapenémy, karbapenemázy, *Enterobacteriaceae*, fenotypová analýza, molekulárna typizácia

Prevalence of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in 2019-2023

Summary

Carbapenemase-producing bacteria represent a significant issue in clinical medicine. They present one of the most serious challenges in nosocomial infections amongst multidrug-resistant bacteria. Screening, detecting these strains, and conducting subsequent analyses are critical steps in administering appropriate patient treatment and preventing their spread in hospital settings. This article focuses on the carbapenemase-producing bacteria detected in the Clinical Microbiology Laboratory, Medirex, a.s., Bratislava, during the years 2019 to 2023.

Keywords: carbapenems, carbapenemases, *Enterobacteriaceae*, phenotypic analysis, molecular typing

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 49-53

Úvod

Produkcia karbapenemáz predstavuje jeden z najzávažnejších mechanizmov rezistencie baktérií voči antibiotikám. Karbapenemázy sú enzýmy, ktoré štiepia karbapenémy (meropeném, ertapeném, imipeném), betalaktámové antibiotiká tzv. poslednej voľby. Gény zodpovedné za produkciu týchto enzýmov sú lokalizované na plazmidoch, čo im umožňuje presúvať informáciu nielen v rámci druhu, ale aj horizontálne medzi druhmi (13). V súvislosti s rýchlym šírením baktérií produkujúcich karbapenemázy v prostredí zdravotníckych zariadení je potrebné ich zachytiť čo najskôr a v prípade infekcie u pacienta presne identifikovať a následne správne nastaviť liečbu. Infekcie vyvolané týmito mikroorganizmami majú zväčša ťažký priebeh a zároveň ich multirezistencia a produkcia karbapenemáz obmedzuje použitie účinnej terapie (1,5,6).

Najvýznamnejšími producentmi karbapenemáz z gramnegatívnych baktérií sú druhy z radu *Enterobacterales*, hlavne *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*. Najčastejšie produkujú enzýmy typov KPC (skr. z angl. *Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase*), NDM (skr. z angl. *New Delhi Metallo- β -lactamase*), VIM (skr. z angl. *Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase*) a OXA (najčastejšie OXA-48-like) (skr. z angl. *Oxacillinase*)

(7). Pre ich detekciu je nevyhnutné používať rýchle, jednoduché a reprodukovateľné metódy. Medzi kolorimetrické fenotypové metódy radíme napr. Carba NP test (8) na stanovenie produkcie karbapenemáz zmenou farby indikátora pri zmene pH roztoku, spôsobenej hydrolyzou imipenému (9). Z molekulárnych metód sa používajú hlavne rôzne varianty *multiplex* a *real-time* PCR (10,11). V súčasnosti sa rozvíjajú metódy celogenómového sekvenovania, vrátane analýz génov zodpovedných za produkciu karbapenemáz (12).

Sledovanie výskytu karbapenemáz je kľúčové pre kontrolu šírenia rezistentných baktérií. Celosvetovo, aj v rámci Európskej únie, existujú štandardizované postupy a odporúčania na monitorovanie šírenia týchto enzýmov. V Európe koordinuje sledovanie antimikrobiálnej rezistencie Európske centrum pre prevenciu a kontrolu chorôb (ECDC) prostredníctvom siete EARS-Net (*European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*). EARS-Net zhromažďuje údaje o výskyte rezistentných mikroorganizmov vrátane baktérií produkujúcich karbapenemázy (CPE, z angl. *Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*) z členských štátov EÚ. Na základe týchto údajov ECDC vydáva pravidelné správy a odporúčania (1). Na Slovensku sa sledovaniu výskytu karbapenemáz venuje Národné referenčné centrum pre sledovanie rezistencie mikroorganizmov na antibiotiká (NRC pre ATB), pôsobiace

pod Úradom verejného zdravotníctva SR a zároveň je zapojené do európskej siete EARS-Net. Toto centrum zhromažďuje a analyzuje údaje o rezistencii mikroorganizmov voči antibiotikám, vrátane karbapenemáz. Laboratóriá klinickej mikrobiológie z celého Slovenska majú povinnosť zasielať izoláty s podozrením na produkciu karbapenemáz do NRC na potvrdenie a ďalšie analýzy, vrátane typizácie karbapenemáz (2,4).

Súbor vzoriek

Počas rokov 2019 až 2023 sme v našom laboratóriu (OKM Bakteriológia, CL Bratislava, Medirex, a.s.) sledovali výskyt bakteriálnych kmeňov *Enterobacterales* produkujúcich karbapenemázy. Kmene pochádzali z klinických vzoriek (vzorky moču, spúta, výtery z rekta, stery z rán, hemokultúry a iné) od pacientov všetkých vekových skupín s rôznymi diagnózami.

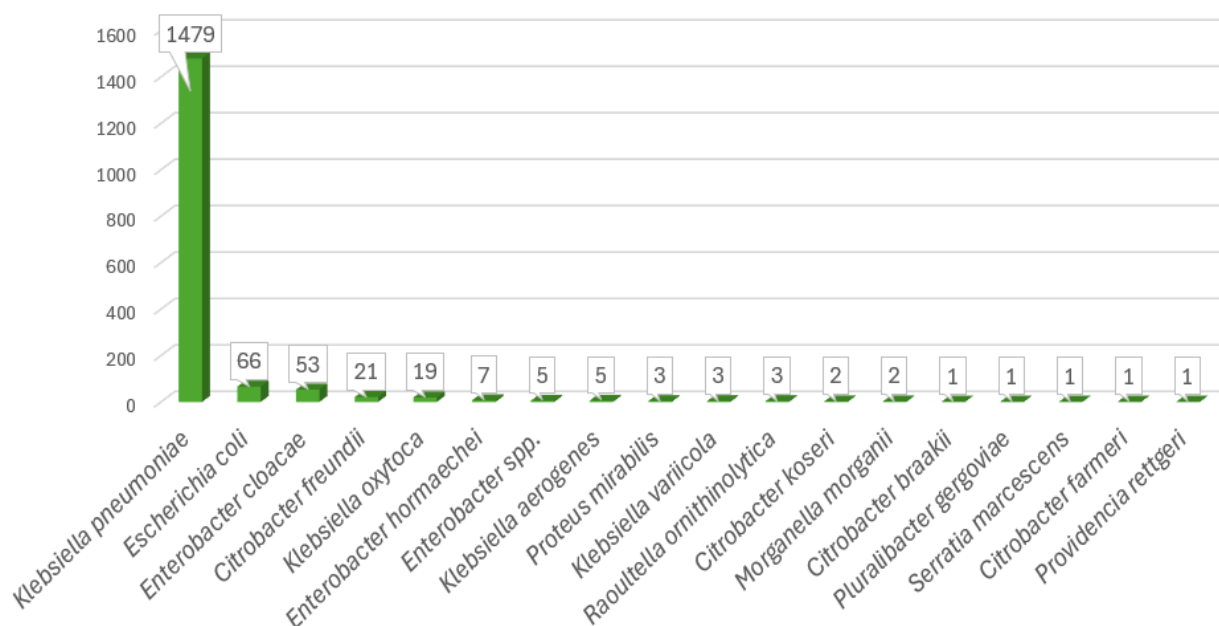
Fenotypová a molekulárna analýza

Kmene so zvýšenou hodnotou minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) na meropeném (> 0,12 mg/l) sme overili opakovaním testu MIC a pomocou diskového difúzneho testu na meropeném (10 µg) na Müller-Hinton agare (MHA). Test sme vyhodnocovali meraním priemeru zóny bez nárastu okolo antibiotického disku podľa štandardov EUCAST (2019-2023). Pokiaľ bola MIC opakovane zvýšená a/alebo inhibičná zóna okolo meropenémového disku mala menej ako 28 mm, kmeň sme podrobili fenotypovému testu CARBA (Diagnostics, Galanta, SR).

Do mikroskúmvky s obsahom imipenému sme pridali 12 až 14 kvapiek roztoku CARBA. Následne sme pomocou inokulačnej kľučky preniesli 10 µl bakteriálnej kultúry a dôkladne zhomogenizovali. Použitá bola čerstvá 24-hodinová bakteriálna kultúra z vhodného kultivačného média (napr. Columbia krvný agar č. 2). Suspenziu sme inkubovali v termostate pri 35 ± 2 °C. Test sa vyhodnocoval maximálne po 2 hodinách. Princípom testu je hydrolyza imipenému produkovanými karbapenemázami. Pozitívny výsledok sa vizualizoval farebnou zmenou suspenzie z červenej na žltú. Každý bakteriálny kmeň s pozitívnym CARBA testom sme odoslali do NRC pre ATB na overenie a detekciu konkrétneho typu karbapenemáz.

Všetky kmene prijaté do NRC pre ATB boli overené na produkciu karbapenemáz, takisto pomocou fenotypového testu podľa vlastného štandardného pracovného postupu. Na extrakciu proteínov bola rozmiešaná plná 10 µl bakteriologická kľučka vykultivovanej kultúry na neselektívnej pevnej pôde v 20 µl extrakčného pufru v mikroskúmvke. Následne sa suspenzia inkubovala pri izbovej teplote maximálne 30 minút.

Na prípravu testovacieho roztoku bolo v kadičke zmiešaných 24 mg imipenému so 16 ml sterilnej destilovanej vody. Bolo pridaných 2 ml 1 mmol/l roztoku $ZnSO_4$ a 2 ml 0,5% fenolovej červene v destilovanej vode. Hodnota pH bola upravená pridaním 1 mmol/l NaOH na 7,8. Na jeden karbapenemázový test sa z reakčného roztoku odobralo 200 µl do 1,5 ml mikroskúmvky.



Obrázok 1 Bakteriálne kmene s pozitívnou produkciou karbapenemáz

Do mikroskúmvky s reakčnou zmesou roztoku bolo pridaných 20 µl bakteriálneho proteínového extraktu, obsah sa premiešal a inkuboval pri teplote 35 ± 2 °C po dobu maximálne 120 minút. S každou vzorkou sa vykonávala negatívna kontrola tak, že rovnaký bakteriálny proteínový extrakt sa premiešal s kontrolným roztokom rovnakého zloženia ako testovací roztok, avšak bez imipenému. Ako pozitívny bol test odčítaný vtedy, ak v testovacej skúmvke došlo k jednoznačnej zmene farby z červenej na žltú a zároveň v kontrolnej skúmvke ostala farba nezmenená.

Tabuľka 1 PCR cykly na detekciu karbapenemáz (prevzaté z ECDC, 2019)

Cyklus	Teplota (°C)	Čas	Počet cyklov
Počiatočná denaturácia	94	5 minút	1
Denaturácia	94	30 sekúnd	30
Annealing	Teplota topenia (52 – 60 °C – podľa génu)	30 sekúnd	
Extenzia	72	1 minúta	
Hold	72	10 minút	1

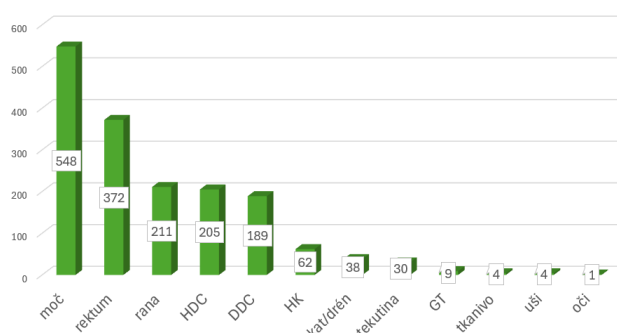
Všetky kmene boli zároveň podrobené analýze pomocou PCR metódy. Postup tejto metódy podlieha technickej správe vydanéj ECDC (3). Na extrakciu DNA sa používa metóda validovaná pre *E. coli* a *K. pneumoniae*. Bakteriálna kultúra sa suspenduje v sterilnom pufrí Tris-EDTA, varí sa pri 100 °C počas 10 minút a centrifuguje sa pri 6000 G počas 5 minút. Supernatant sa rozpustí v pufrí Tris-HCl. Stanovujú sa 4 hlavné enzýmy, ktoré sú kódované na géne *bla*, konkrétne *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}* a *bla_{OXA-48}*. Pre každý z týchto génov sú dostupné špecifické primery. Samotný cyklus PCR reakcie s jednotlivými časmi sú uvedené v tabuľke 1.

Výsledky

V rokoch 2019 až 2023 sme v našom laboratóriu zachytili celkovo 1673 bakteriálnych izolátov, ktoré boli pozitívne na produkciu karbapenemáz pomocou CARBA testu. Najviac kmeňov sme zachytili v roku 2021 (503; 30,1%) a najmenej v roku 2019 (185; 11,1%).

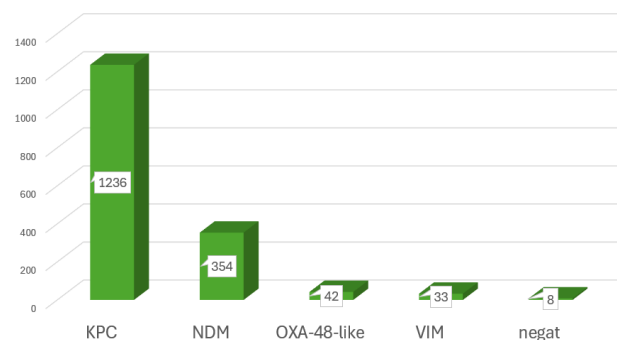
Z celého súboru izolátov boli v najvyššej miere zastúpené kmene *Klebsiella pneumoniae* (1479; 88,4%), nasledovali kmene *Escherichia coli* (66; 3,9%), *Enterobacter cloacae* (53; 3,2%), *Citrobacter freundii* (21; 1,3%) a *Klebsiella oxytoca* (19; 1,1%) (Obrázok 1).

Pozitívne kmene boli najčastejšie izolované zo vzoriek močov (548; 32,8%), nasledovali výtery z rekta (skrining CPE; 372; 22,2%), stery z rán (povrchové rany, ložiská, dekubity, atď.; 211; 12,6%), horné dýchacie cesty (HDC) (205; 12,3%), dolné dýchacie cesty (DDC) (189; 11,3%) (Obrázok 2).

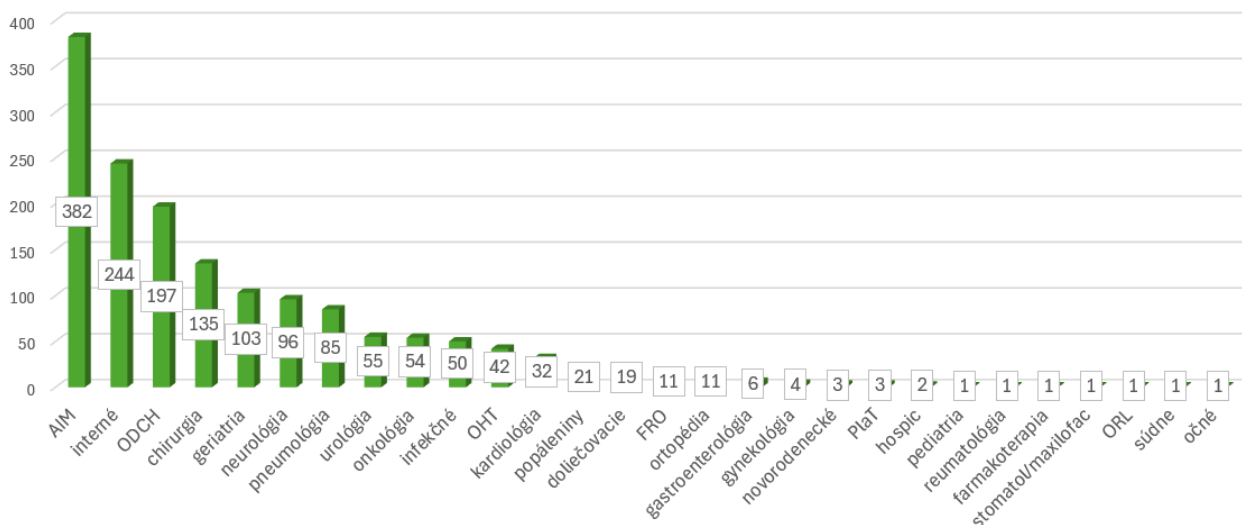


Obrázok 2 Klinické vzorky s izolovanými pozitívnymi bakteriálnymi kmeňmi (Vysvetlivky: HDC – horné dýchacie cesty; DDC – dolné dýchacie cesty; HK – hemokultúra; kat/drén – katéter/drén, GT – genitálny trakt)

Najviac zastúpené oddelenia (1562 vzoriek; 93,4%), z ktorých pochádzali pozitívne vzorky, boli oddelenia anesteziologicko-intenzívnej medicíny (AIM) (382; 24,5%), interné oddelenia (244; 15,6%), oddelenia dlhodobochorých (ODCH) (197; 12,6%), chirurgické oddelenia (135; 8,6%) a geriatrické oddelenia (103; 6,6%).



Obrázok 3 Detegované typy karbapenemáz (Vysvetlivky: negat – negatívne)



Obrázok 4 Oddelenia, z ktorých pochádzali pozitívne vzorky (Vysvetlivky: AIM – anesteziologicko-intenzívnej medicíny; ODCH – odd. dlhodobo chorých; OHT – odd. hematológie a transfuziológie; FRO – fyziatricko-rehabilitačné odd.; Plat – pracovné lekárstvo a toxikológia; ORL – otorinolaryngológia)

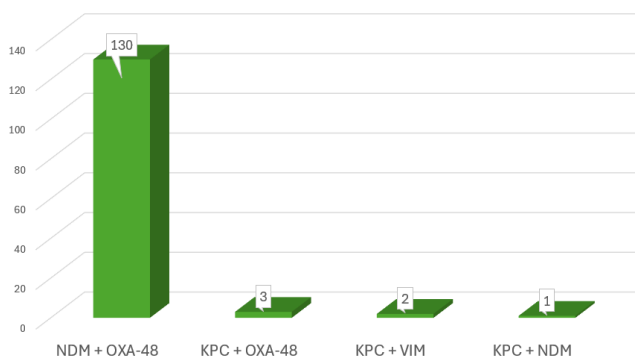
Všetky kmene boli zaslané do NRC pre ATB na overenie produkcie a typizáciu karbapenemáz. Pomocou metód PCR sme detegovali karbapenemázy typu KPC v 1230 (73,5%) prípadoch, typu NDM v 224 (13,4%) prípadoch, typu OXA-48-like v 42 (2,5%) prípadoch a typu

VIM v 33 (2%) prípadoch. Pomocou PCR sa nepodarilo typ karbapenemázy stanoviť v 8 (0,5%) prípadoch, pravdepodobne sa jednalo o iný typ karbapenemáz, aké sú rutinne sledované pomocou PCR (Obrázok 3).

V 136 prípadoch sa nám podarilo zachytiť pri jednom kmeni až dva typy karbapenemáz – v 130 (7,8%) prípadoch sa jednalo o kombináciu NDM a OXA-48-like, v 3 (0,2%) prípadoch sa jednalo o KPC a OXA-48-like, v 2 (0,1%) prípadoch o KPC a VIM a v jednom prípade (0,05%) sme detegovali typy KPC a NDM (Obrázok 5).

Záver

V článku sme prezentovali výsledky prehľadu baktérií produkujúcich karbapenemázy zachytených v laboratóriu OKM Bakteriologie, Medirex, a.s., Bratislava. Celkovo bolo pomocou fenotypového CARBA testu detegovaných 1673 bakteriálnych kmeňov. Najviac zastúpené boli kmene *Klebsiella pneumoniae* (1479; 88,4%), *Escherichia coli* (66; 3,9%) a *Enterobacter cloacae* (53; 3,2%). Najčastejšie pozitívne izoláty pochádzali zo vzoriek močov (548; 32,8%), z výterov z rekta (372; 22,2%) a z ranových infekcií (211; 12,6%). Vzorky pochádzali najmä z oddelení AIM (382; 24,5%), interných oddelení (244; 15,6%) a ODCH (197; 12,6%). Molekulárnou analýzou sme najčastejšie identifikovali karbapenemázy typov KPC (1230; 73,5%), NDM (224; 13,4%) a OXA-48-like (42; 2,5%). Zároveň sa nám podarilo identifikovať kmene produkujúce súčasne dva typy karbapenemáz, najčastejšie to boli kmene produkujúce NDM a OXA-48-like enzýmy (130; 7,8%).



Obrázok 5 Počet kmeňov s dvoma detegovanými typmi karbapenemáz

Baktérie produkujúce karbapenemázy predstavujú závažný globálny problém pri liečbe pacientov. Tieto enzýmy štiepia karbapenémy, antibiotiká tzv. poslednej voľby. Zároveň prinášajú významný problém aj z epidemiologického hľadiska, keďže tieto kmene sa rýchlo šíria v nemocničnom prostredí.

Literatúra:

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Last-line antibiotics are failing: options to address this urgent threat to patients and healthcare systems. Stockholm. 2016.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE). Online: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/directory-guidance-prevention-and-control/prevention-and-control-infections-1>. 2017
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Laboratory manual for carbapenem and colistin resistance detection and characterisation for the survey of carbapenem- and colistin-resistant Enterobacteriaceae. Version 2.0. Stockholm. 2019.
4. Štandardný diagnostický a terapeutický postup pre implementáciu antimikrobiálnej politiky v ústavných zdravotníckych zariadeniach. Online: https://www.mzsr.sk/Zdroje?/Sources/dokumenty/SDTP/standarty/1-6-2020/096_KM_Standardny_diagnosticky_a_therapeuticky_postup_pre_implementaciu_antimikrobialnej_politiky.pdf. 2020.
5. Magiorakos AP, Burns K, Rodríguez Baño J. et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrob Resist Infect Control* 6, Vol. 113. 2017.
6. Hnilicová S. Molekulárno-epidemiologická analýza karpapenemázy-produkujúcich baktérií izolovaných z lôžkových zdravotníckych zariadení v SR. Dizertačná práca. Trnavská univerzita v Trnava. Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce; Katedra Laboratórných a vyšetrovacích metód v zdravotníctve. Trnava: FZaSP, 2018.
7. Escandón-Vargas K, Reyes S, Gutiérrez S, Villegas MV. The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 15(3):277-297. 2016.
8. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg. Infect. Dis.* 18:1503–1507. 2012.
9. Suriya R V, Leela KV, Feliciano J H, et al. Diagnostic Test Precision of Modified Carbapenem Inactivation Method and Carbapenemase Nordmann-Poirel Test for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production in Enterobacterales: A Systematic Review. *Cureus* 16. 2024.
10. Gao N, Zhou J, Li G, Liu R, Lu G, Shen J. Methodological Evaluation of Carbapenemase Detection by Different Methods. *Polish Journal of Microbiology. Sciendo*, 73(3): 383-394. 2024.
11. Wei M, Chen X, Liu J, Li T, Wang P, Wang S, Gu L. Development and Validation of a Novel Multiplex Real-Time PCR Assay for Rapid Detection of Carbapenemase Genes in Carbapenem-Resistant Enterobacterales Isolates and Clinical Samples. *Infection and Drug Resistance*, 17, 3451–3462. 2024.
12. Fuchs F, Xanthopoulou K, Burgwinkel T, del Pino RA, et al. Coexistence of seven different carbapenemase producers in a single hospital admission screening confirmed by whole-genome sequencing. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, Volume 39. Pg. 184-188. 2024.
13. Cui X, Zhang H, Du H. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Detection and Antimicrobial Therapy. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 10. 2019.

RNDr. Soňa Kissová, PhD.

Oddelenie klinickej mikrobiológie
Medirex, a.s., Bratislava
sona.kissova@medirexgroup.sk

Tubulo-squamous vaginal polyp with basaloid features. Case report

Michal Zámečník^{1,2}, Davorín Dibák³

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

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

³ Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty Hospital, Trenčín, Slovak Republic

A rare case of tubulo-squamous polyp of the vagina (TSP) with basaloid features is described. A 9 mm polyp occurred in 65-year-old woman, and it was located in the lower lateral part of the vagina. Histologically, it was composed of bland basaloid and basosquamous appearing nests with exceedingly rare small tubules, and its morphology resembles that of adenoid basal epithelioma of the cervix. The epithelium of the lesion was fully negative for p16 and p53. The tubules and isolated rare cells of the basaloid epithelium expressed prostate marker NKX3.1. The stroma of the lesion was cellular myofibroblastic, resembling pattern of myofibroblastoma, angiomyofibroma or myoid stroma in prostatic nodular hyperplasia. Its immunophenotype was desmin+/CD34+/actin+/PT+/ER+/AR+/RB1+. Our case supports the view that tubulo-squamous polyp of the vagina and p16-negative adenoid basal epithelioma could be interrelated from histogenetic point of view.

Keywords: tubulo-squamous polyp, vagina, adenoid basal epithelioma, adenoid basal carcinoma, NKX3.1, angiomyofibroblastoma, myofibroblastoma

Abstrakt

Prezentovaný je zriedkavý prípad vaginálneho tubuloskvamózneho polypu s bazaloidnou morfológiou. Jednalo sa o 9 mm-ový polyp dolnej laterálnej časti vagíny u 65-ročnej ženy. Histologicky bol tvorený blandnými bazaloidnými a bazoskvamóznymi skupinami buniek, s veľmi ojedinelými a nenápadnými tubulmi. Morfológia lézie napodobňovala adenoidne bazálny epitelióm cervixu uteru. Tubuly a izolované bunky bazaloidného epitelu exprimovali prostatický markeer NKX3.1. Epitel lézie bol negatívny na p16. Stróma bola celulárna myofibroblastická, fokálne vaskularizovaná, čím pripomínala angiomyofibroblastóm, myofibroblastóm alebo myoidnú strómu prostatickej nodulárnej hyperplázie. Imunofenotyp tejto strómy bol desmin+/CD34+/actin+/PT+/ER+/AR+. Prezentované pozorovanie, spolu s niekoľkými predchádzajúcimi už publikovanými ukazujú, že tubuloskvamózny polyp vagíny a p16-negatívne „adenoid basal“epiteliómy môžu mať spoločnú histogenezu.

Kľúčové slová: Tubuloskvamózny vaginálny polyp s bazaloidnou morfológiou. Popis prípadu

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 54-58

Introduction

So called tubulo-squamous polyp of the vagina (TSP) was described in 2007 by McCluggage and Young (1). The lesion occurs in upper part of the vagina in postmenopausal women or in lower part of the vagina in premenopausal patients (1-3). The lesion shows focal prostatic differentiation that is probably related to so-called female prostate, a glandular structure termed traditionally as Skene's periurethral glands (4,5). Histologically, TSP typically consists of bland squamous cell nests with small tubules and cysts. There were described some unusual features such as sebaceous differentiation or mucinous and goblet cell differentiation (6,7). In 2009, Stewart described an interesting case of TSP, in which the cell nests showed proliferative basaloid morphology that had resembled low-grade adenoid basal carcinoma (epithelioma) (8). Further similar case was added by Kazakov et al. in 2010 (9). To our knowledge, no additional case was reported till now. Recently we have

seen in our practice basaloid TSP. We would like to present this case here.

Case report

In a 65-year-old, para 2, gravida 3, postmenopausal patient, a cervical polyp was found by cervical screening examination. The polyp measured 9 mm, and it was located in lower left lateral part of the vagina. Medical history of the patient includes one missed abortion and three fractional curettages for benign irregular endometrium a long time ago. Otherwise, her medical history was unremarkable. An excision of the polyp was performed, and the tissue was submitted for histologic examination.

Histologically, the polyp consisted of basaloid and basosquamous appearing nests of epithelium (figure 1). The superficial squamous epithelium appeared hyperplastic, and it was connected focally with basaloid lobules of the lesion. Very rare tubular structures with cuboidal epithelium were found inside basaloid nests and

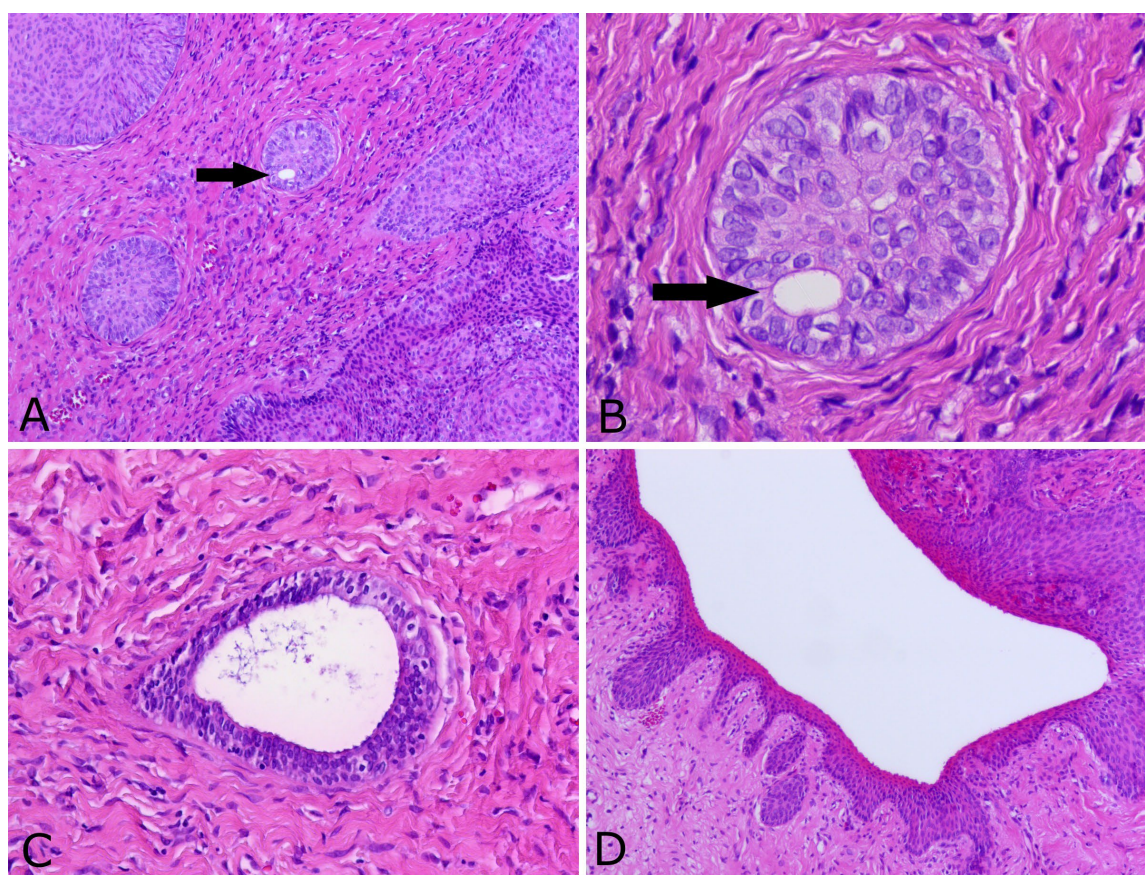


Figure 1. Tubulo-squamous vaginal polyp. **A** shows basaloid and basosquamous appearing nests of the epithelium. In one nest, a small tubule is seen (arrow). **B** depicts the tubule in the cell nest (arrow). **C** rare isolated tubule in the stroma. **D** shows periphery of the lesion. Adjacent mucosa (left part of the picture) contained basal cell proliferations which represent probably an early lesion.

in the stroma (figures 1B and 1C). They were small and quite inconspicuous. Adjacent epithelium showed focal basal cell proliferation suggesting that it is probably early stage of the lesion (figure 1D). The stroma of the polyp appeared myofibroblastic, focally with numerous small vessels (angiomyofibroblastoma-like) (figure 1E). Mitoses and nuclear atypia were not found.

Immunohistochemically (figure 2), prostatic marker NKX3.1 (EP356, Biocare Medical) was positive in scarce tubules and several isolated cells of the epithelium. It was negative in adjacent epithelium, including small foci of basal cell hyperplasia. The epithelium of the lesion showed strong expression of estrogen receptor (ER) (EP1, Dako) but this positivity was absent in small tubules. Expression of androgen receptor (AR) (AR441, Dako) was mild and it was fully negative in tubules. Progesterone receptor (PR) (R1294, Dako) was completely negative in the epithelium. MIB1 showed low proliferation. The stroma was positive for desmin, alpha-smooth muscle actin, CD34, ER, PR, AR and RB1 (all from Dako). In contrast with strong desmin expression, the stroma of adjacent vaginal mucosa was fully desmin-negative, and it was otherwise

positive for all above-mentioned stromal expressions (alpha-smooth muscle actin, CD34, ER, PR, AR and RB1).

Discussion

The present case of TSP is similar to those described by Stewart and by Kazakov et al. (8,9). The predominance of basaloid pattern caused resemblance with adenoid-basal carcinoma (ABC). After Stewart found this basaloid morphology in TSP, studies of expression of prostatic markers were performed in cases of ABC and they found positivities of prostatic markers in many of these tumors (5,10). The authors suggest that at last cases of "pure" ABC (especially HPV-independent cases) represent prostatic type lesion that is related to TSP or to basal cell hyperplasia of the male prostate. It can explain indolent behavior of majority of pure ABCs. For the reason of good prognosis, some authors prefer to name the tumor as adenoid basal epithelioma (ABE) rather than carcinoma (8,11,12), and we concur with this opinion (13).

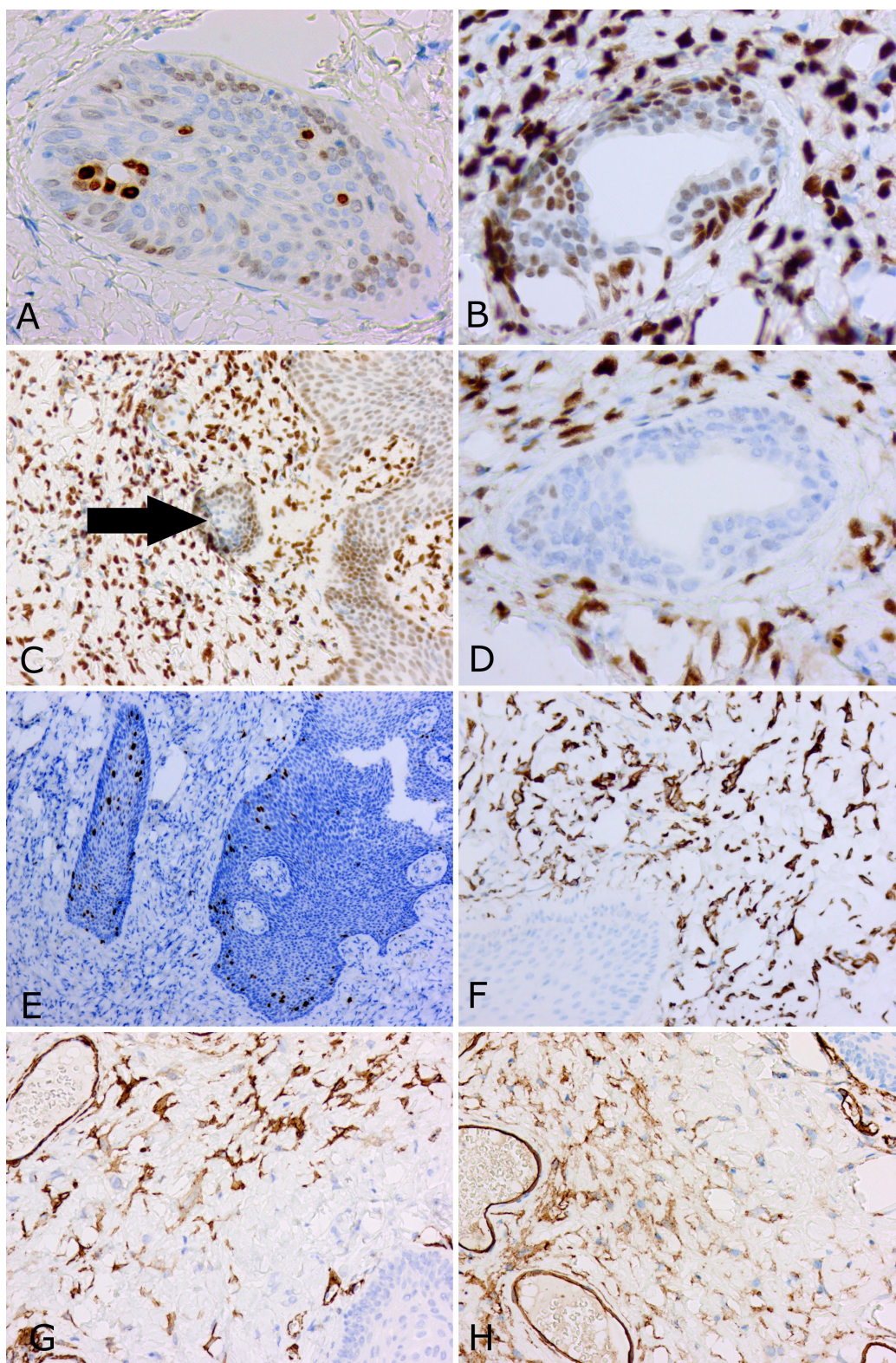


Figure 2. Immunohistochemical features. Panel **A** shows expression of NKX3.1 in the tubule and in scarce isolated cells. **B** demonstrates ER positivity and its absence in cuboidal cells of tubule. **C** shows AR negativity in the tubule (arrow). **D** expression of PR is limited to the stromal cells. **E** low proliferation of the lesion demonstrated by MIB-1 immunostaining. **F** desmin positivity in the stroma is strong and diffuse. **G** expression of alpha-smooth muscle actin. **H** shows moderate CD34 positivity in the stromal cells.

Immunohistochemically, TSP typically express prostate marker NKX3.1 in the small tubules, as seen in our case. The tubules were quite inconspicuous and scarce, and therefore immunohistochemistry for NKX3.1 was very usually positive in TSP. In our case we have seen expression of ER and AR in the basaloid/basosquamous epithelium, with absence of the staining in tubules. P16 is typically negative in TSP as it was in present case. It proves HP-independent genesis of this lesion. AR positivity can be interpreted as a demonstration of male type differentiation of the tissue, i.e. that the cells are capable to react on androgen stimulation. It is known that testosterone therapy stimulates prostatic differentiation in transmasculine individuals (14,15).

We think that prostate type differentiation can apply not only to the epithelium, but also to the stroma of TSP. In our case, the stroma was myofibroblastic and focally it contained numerous small vessels. It expressed myoid markers, CD34 and AR, and it resembled stroma of prostatic nodular hyperplasia. This stroma differed from desmin-negative subepithelial stroma in adjacent normal mucosa. Recently Vasallo et al. (16) described in their

case of TSP a prominent myofibroblastic stroma which they termed "angiomyofibroblastoma-like", and we think that this morphology was quite similar to that seen in our case. Eleven years ago, we have described unusual case of prostate type lesion which we considered myofibroblastoma with prostate type glands (17). We speculate currently that the case could represent prostate type lesion (nodule) with tumor-like hyperplasia of the myofibroblastic stroma. However, this unusual case expressed also mammary markers and thus it remains still enigmatic from histogenetic point of view. We think that thorough study of the stroma in additional cases of TSP as well as in p16-negative ABEs is necessary for better knowledge of these lesions.

In sum, we described unusual TSP with basaloid differentiation. The features of basaloid TSP resembles those of ABE. This morphology supports the opinion that at least some ABEs (particularly small lesions with p16 negativity) shares histogenesis with TSP. For diagnosis of basaloid TSP a proof of prostatic differentiation with immunohistochemistry is important.

References:

1. McCluggage WG, Young RH. Tubulo-squamous polyp: a report of ten cases of a distinctive hitherto uncharacterized vaginal polyp. *Am J Surg Pathol* 2007; 31(7): 1013-1019.
2. Petrova M, Laco J, Cervíček K, et al. Tubulo-squamous polyp of the vagina. *Ceska Gynekol* 2015; 80(3): 173-175.
3. Dundr P, Povysil C, Mara M, et al. Tubulo-squamous polyp of the vagina. *Cesk Patol* 2008; 44(2): 45-47.
4. Zaviacic M, Ablin RJ. The female prostate and prostate-specific antigen. Immunohistochemical localization, implications of this prostate marker in women and reasons for using the term "prostate" in the human female. *Histol Histopathol* 2000; 15(1):131-142.
5. Stewart CJR, Moses J. NKX3.1 expression in cervical 'adenoid basal cell carcinoma': another gynaecological lesion with prostatic differentiation? *Pathology* 2021; 53(2): 193-198.
6. Chaturvedi A., Padel A. Tubulo-squamous polyp of the vagina with sebaceous glands: novel features in an uncommon recently described entity. *Int J Gynecol Pathol* 2010; 29(5): 494-496.
7. Tong, B, Clarke, BA, Ghazarian D. Tubulo-squamous polyp with mucinous and goblet cell differentiation: a unique morphologic variant. *Int J Gynecol Pathol*, 2011; 30(5): 518-519.
8. Stewart CJ. Tubulo-squamous vaginal polyp with basaloid epithelial differentiation. *Int J Gynecol Pathol* 2009; 28(6): 563-566.
9. Kazakov DV, Stewart CJ, Kacerovska D, et al. Prostatic-type tissue in the lower female genital tract: a morphologic spectrum, including vaginal tubulosquamous polyp, adenomyomatous hyperplasia of paraurethral Skene glands (female prostate), and ectopic lesion in the vulva. *Am J Surg Pathol* 2010; 34(7): 950-955.
10. Hawari R, Fernandes L, Park KJ, et al. Skene's gland derivatives in the female genital tract and cervical adenoid basal carcinoma are consistently positive with prostatic marker NKX3.1. *Int J Gynecol Pathol* 2021; 40(4): 400-407.
11. Brainard JA, Hart WR. Adenoid basal epitheliomas of the uterine cervix: a reevaluation of distinctive cervical basaloid lesions currently classified as adenoid basal carcinoma and adenoid basal hyperplasia. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 965-975.
12. Russell MJ, Fadare O. Adenoid basal lesions of the uterine cervix: evolving terminology and clinicopathological concepts. *Diagn Pathol* 2006; 1(18).
13. Zamecnik M, Skrivanek A. Adenoid basal epithelioma of the uterine cervix in 21-year-old patient. Report of a case with histologic and immunohistochemical study. *Cesk Patol* 2005; 41(4): 157-162.
14. Xu R, Diamond DA, Borer JG, et al. Prostatic metaplasia of the vagina in transmasculine individuals. *World J Urol* 2022; 40(3): 849-855.
15. Anderson WJ, Kolin DL, Neville G, et al. Prostatic metaplasia of the vagina and uterine cervix: An androgen-associated glandular lesion of surface squamous epithelium. *Am J Surg Pathol* 2020; 44(8): 1040-1049.
16. Vassallo L, Lio R, Vestri M, et al. Tubulo-squamous polyp of the vagina. A case with cellular, "angiomyofibroblastic-like" stroma. *Pathologica* 2012; 104(1): 38-41.

17. Zamecnik M, Sedlacek T, Wallenfels I, et al. Vaginal myofibroblastoma with glands expressing mammary and prostatic antigens. *Cesk Patol* 2012; 48(1): 40–43.

Michal Zámečník, MD

Medicyt, a. s., lab. Trenčín
Legionárska 28, 91171 Trenčín
Slovak Republic
zamecnikm@seznam.cz

Myokarditída ako komplikácia COVID-19

Michaela Kušnierová¹, Silvia Líšková^{2,3}, Andrea Janegová¹

¹ Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

² Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

³ Centrum experimentálnej medicíny, Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava

COVID-19 a jeho dopad na organizmus sú stále aktuálnou témou. V poslednom období sa pozornosť čoraz viac sústreďuje na dlhodobé účinky infekcie a jej vplyv na jednotlivé orgány vrátane kardiovaskulárneho systému. Je známe, že infekcia SARS-CoV-2 môže postihovať kardiovaskulárny systém a pacienti s kardiovaskulárnymi komorbiditami majú vyššie riziko ťažkého priebehu ochorenia. Okrem toho samotná infekcia SARS-CoV-2 môže negatívne ovplyvniť myokard a viesť k vzniku komplikácií aj v období, keď sa akútna infekcia už priamo neprejavuje. Hoci v prezentovanom súbore nebola preukázaná významná asociácia medzi histopatologickými zmenami myokardu a ochorením COVID-19, ukazuje sa, že u časti pacientov môže dochádzať k rozvoju tichej (inaparentnej) lymfocytovej infiltrácie myokardu. Klinický význam takejto nepoznanej myokarditídy asociovanej s COVID-19 je však stále nejasný. Zatiaľ nepoznáme všetky mechanizmy jej účinku a nemáme spoľahlivo definovanú terapeutickú stratégiu pre prevenciu a liečbu postcovidových kardiovaskulárnych komplikácií. Tento nález môže mať dopad na dlhodobé zdravie pacientov s prekonaným COVID-19 a súvisieť s neskorými komplikáciami, ktoré sú často pozorované v rámci postcovidového syndrómu.

Kľúčové slová: COVID-19, myokarditída, poškodenie tkaniva, dlhodobý efekt

Myocarditis as a complication of COVID-19.

Summary

COVID-19 and its impact on the body remain a hot topic. Increasing attention is being given to the long-term effects of the infection and its impact on various organs, including the cardiovascular system. Cardiovascular involvement is known to be associated with SARS-CoV-2 infection, with patients having cardiovascular comorbidities at a greater risk of severe infection. Additionally, SARS-CoV-2 infection itself affects the myocardium, posing a risk of complications later, even after the infection is no longer directly evident. Although no significant association between myocardial histopathological changes and COVID-19 was observed in the present cohort, it appears that some patients with COVID-19 develop inapparent infiltration of myocardial tissue by lymphocytes. However, the clinical significance of unrecognized COVID-19-associated myocarditis remains unclear. We do not know all the mechanisms of its impact, and we do not have a reliably defined therapeutic strategy for future cardiovascular post-COVID complications. This finding may have implications for the long-term impact of COVID-19, potentially leading to late complications and being related to the post-COVID syndrome observed in many patients.

Key words: COVID-19, myocarditis, tissue damage, long-term effect

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 59-65

Úvod

Chorobu COVID-19, ktorú spôsobuje vírus SARS-CoV-2, prvýkrát identifikovali koncom roka 2019 u pacientov v meste Wu-chan v Číne. V roku 2020 sa vírus rýchlo rozšíril do viac než 140 krajín sveta a spôsobil celosvetovú pandémiu. COVID-19 mal oveľa závažnejšie symptómy v porovnaní s bežnými ľudskými koronavírusmi, ktoré typicky postihujú horné dýchacie cesty (1).

SARS-CoV-2 spôsobuje u ľudí respiračnú infekciu so symptómami podobnými chrípke. Tá môže vyústiť do zápalu pľúc, akútnej respiračnej tiesne až následne k multiorgánovému zlyhávaniu a smrti (2). Medzi najčastejšie klinické prejavy COVID-19 patria horúčka

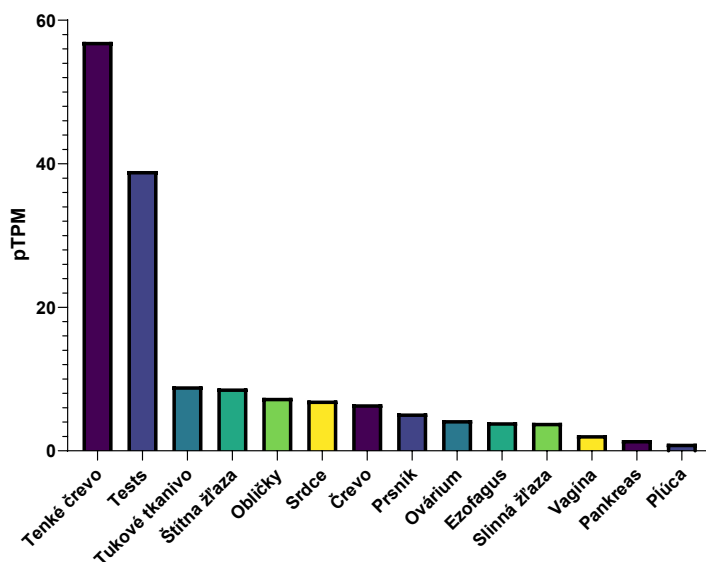
(≈83 %), kašeľ (≈82 %) a dýchavičnosť (≈31 %) (3). Najčastejšími komorbiditami pacientov s COVID-19, ktorí vyžadujú hospitalizáciu, sú hypertenzia a diabetes mellitus. Podľa viacerých štúdií hypertenzia významne zvyšuje riziko úmrtia u pacientov s COVID-19. V porovnaní s ostatnými koronavírusmi má SARS-CoV-2 častejšie kratšiu inkubačnú dobu. Počas pandémie, sa zistilo, že SARS-CoV-2 nespôsobuje iba respiračné alebo gastrointestinálne choroby, ale napáda aj kardiovaskulárny systém, čo môže mať vážne a dlhodobé následky (4).

Cieľom SARS-CoV-2 je najmä ACE2 receptor, prostredníctvom ktorého vírus preniká do bunky.

Postihnuté sú najmä bunky nachádzajúce sa v dýchacom trakte, predovšetkým ciliárne bunky v bronchiálnom epiteli (5). Expresiu ACE2 receptora ale pozorujeme aj v iných orgánoch ako sú napr. obličky, črevá, bunky hematopoetického systému, ale aj kardiovaskulárneho systému vrátane srdca a endotelových buniek artérií a vén (6). Na základe databázy Genotype-Tissue Expression vieme, že vysoká expresia ACE2 sa nachádza v tráviacom

19, najmä u pacientov s komorbiditami, ako sú hypertenzia, diabetes mellitus a chronické kardiovaskulárne choroby (11). Pri zníženej expresii ACE2 prevažujú účinky angiotenzínu II, ktorý pôsobí prozápalovo, vazokonstrikčne a profibroticky (12).

Patologické zmeny na srdci u pacientov s COVID-19 sú veľmi rôznorodé. Vo väčšine prípadov nepozorujeme žiadne zjavné histologické zmeny. Viaceré štúdie



Obr. 1 Expresia ACE2 v rôznych orgánoch

Bunky jednotlivých orgánov vykazujú rôznu expresiu receptorov ACE2 na svojom membránovom povrchu, spracované podľa Chen et Chi (28)

trakte, v čreve, po ktorom nasledujú semenníky a obličky (obr. 1). Práve vysoká expresia ACE2 receptora v tráviacom trakte a v obličkách vysvetľuje pozitívnu detekciu SARS-CoV-2 v stolici a moči pacientov (7).

Expresia ACE2 v myokarde je síce nižšia ako v čreve a obličkách, ale vyššia ako v pľúcach, ktoré sú hlavným cieľovým orgánom SARS-CoV-2 v prvých fázach infekcie, čo naznačuje aj potenciálnu náchylnosť kardiovaskulárneho systému k infekcii. ACE2 receptor je vo veľkom množstve exprimovaný v pericytoch v dospelom myokarde (7, 8). V dôsledku prítomnosti receptora na kardiomyocytoch a pericytoch dokáže SARS-CoV-2 vstúpiť do hostiteľských buniek a spustiť kaskádu rôznych mechanizmov zahŕňajúc priame poškodenie myokardu, systémový zápal ale aj hypoxiu. Následkom je vznik myokarditídy, ale aj ischemických zmien, akútneho koronárneho syndrómu, arytmií a srdcového zlyhania.

SARS-CoV-2 po naviazaní na receptor pre ACE2 znižuje jeho membránovú pozitivitu. Receptor môže byť internalizovaný, čo znižuje jeho dostupnosť pre ďalšie fyziologické deje (9, 10). ACE2 je kľúčovým regulátorom systému renín-angiotenzín-aldosterón (RAAS). Vírus spôsobuje narušenie rovnováhy ACE/ACE2 a aktiváciu RAAS, čo v konečnom dôsledku vedie k progresii COVID-

nepreukázali žiadne zjavné štrukturálne postihnutie myokardu u pacientov, ktorí zomreli na infekciu SARS-CoV-2 (13, 14). Dôkaz vírusu v myokarde je často minimálny, niektoré štúdie nepreukázali prítomnosť vírusu v kardiomyocytoch. To je ale v rozpore s predstavou difúzneho zápalu a myokarditídy vyvolanej SARS-CoV-2 pozorovanej v iných štúdiách (13, 15).

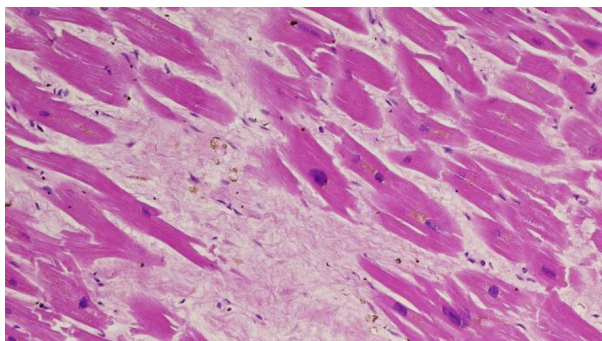
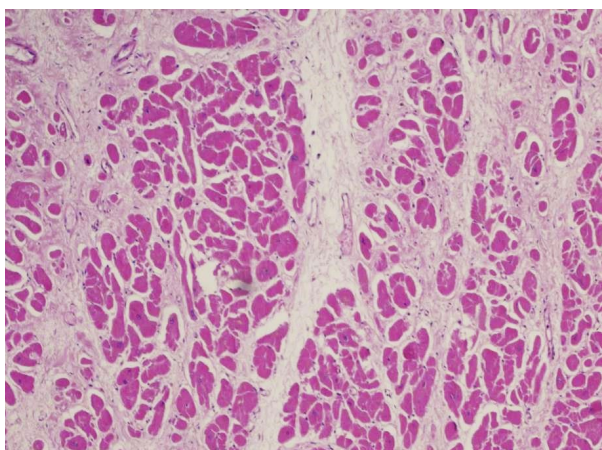
Infekcia SARS-CoV-2 ovplyvňuje aj imunitný systém, vedie k zníženiu adaptívnej imunity v organizme. Zvýšená produkcia prozápalových cytokínov môže u ťažkých prípadov vyústiť až do vzniku tzv. cytokínovej búrky. U pacientov s ťažkým priebehom COVID-19 dochádza v drobných cievach k tvorbe tzv. NET – neutrofilných extracelulárnych sietí. Tie sa pokladajú za možných potenciátorov patogenézy COVID-19 (16, 17). Ťažký priebeh choroby COVID-19 sprevádzaný systémovým zápalom môže vyústiť až do multiorgánového zlyhania vrátane vzniku ARDS. V dôsledku zníženia množstva kyslíka v krvi vzniká nerovnováha medzi ponukou a dopytom kyslíka v myokarde, čo môže vyústiť do akútneho poškodenia myokardu (18).

Cieľom predloženej práce bolo posúdiť histopatologické zmeny v tkanive myokardu u pacientov, ktorí zomreli v súvislosti s infekciou SARS-CoV-2 a charakterizovať vzťah

medzi klinickým nálezom u pacientov a histopatologickými zmenami myokardu.

Metodika

Základný hodnotený súbor tvorilo 31 pacientov, ktorí boli pitvaní na Ústave patologickej anatómie. Hodnotený súbor tvoria pacienti, u ktorých boli k dispozícii klinické údaje a súčasne bolo možné analyzovať histologické vzorky tkaniva myokardu. Pitva prebehla štandardne, vzorky myokardu odobraté pri štandardnej pitve boli fixované v 4% formaldehide a histopatologicky spracované.



Obr. 2 **Difúzna a disseminovaná myofibróza myokardu.** V tkanive myokardu môžeme vidieť nápadnú difúznú a perivaskulárnu fibrózu s ojedinelou prítomnosťou polymorfonukleárných leukocytov a lymfocytov, HE, 200x, 400x

Základný súbor sme na základe diagnóz infekcie SARS-CoV-2 rozdelili do troch skupín. Výber pacientov zahŕňal pacientov

1. skupina s infekciou SARS-CoV-2 s ťažkým priebehom choroby COVID-19 (10 pacientov)
2. skupina s infekciou SARS-CoV-2 s nekomplikovaným priebehom choroby COVID-19 (5 pacientov)
3. skupina zahŕňala pacientov bez preukázanej infekcie SARS-CoV-2 (16 pacientov)

V klinickom obraze sme sa sústredili na vek, pridružené choroby, laboratórny nález, klinický obraz a kardiovaskulárne komplikácie. Z pridružených chorôb sme sa zameriavali najmä na prítomnosť kardiovaskulárnych chorôb. Pri histologickom obraze sme sa zamerali na regresívne zmeny myokardu, najmä na prítomnosť difúznej fibrózy, disseminovanej resp. perivaskulárnej fibrózy, polymorfonukleárných buniek, lymfocytov, histiocytov a na prítomnosť čerstvých ischemických zmien. Ojedinele sme mali možnosť vidieť prítomnosť hypertrofických jadier kardiomyocytov, extravazáciu erytrocytov a lipofuscínové zrníčka. Následne sme pristúpili k imunofenotypizácii chronického zápalového infiltrátu. Zamerali sme sa na prítomnosť histiocytov (s pozitívou markera CD68) a T-lymfocytov (s pozitívou markra CD3) v tkanive myokardu.

Typizácia buniek bola realizovaná imunohistochemicky; odparafínované preparáty boli prepláchnuté 5 minút v PBS, tkanivové epitopy boli demaskované použitím Dako PT Link (Dako, Glostrup, Denmark) s inkubáciou preparátov v roztoku TRIS-EDTA (10mM TRIS, 1mM EDTA pH 9.0) pri teplote 98 °C počas 20 minút, rezy boli následne inkubované 60 minút s myšacou monoklonálnou protilátkou proti CD3 (ready to use, Agilent, USA) a CD68 (ready to use, Agilent, USA), po premytí následne inkubované 30 minút s Histofine sekundárnou protilátkou (Nichirei Biosciences, Japonsko) a farbené 5 minút diaminobenzidínom (DAB+, DAKO, Carpinteria, USA) a dofarbené hematoxytínom.

Vzorky boli hodnotené vo svetelnom mikroskope semikvantitatívne. Výsledky boli štatisticky spracované pomocou software Graph Pad Prism (veria 10) s použitím one-way ANOVA testu s následným Tukey posttestom, resp. t-testu. Kvalitatívne hodnoty boli porovnané χ^2 testom. Hodnoty s $p < 0,05$ boli považované za významné.

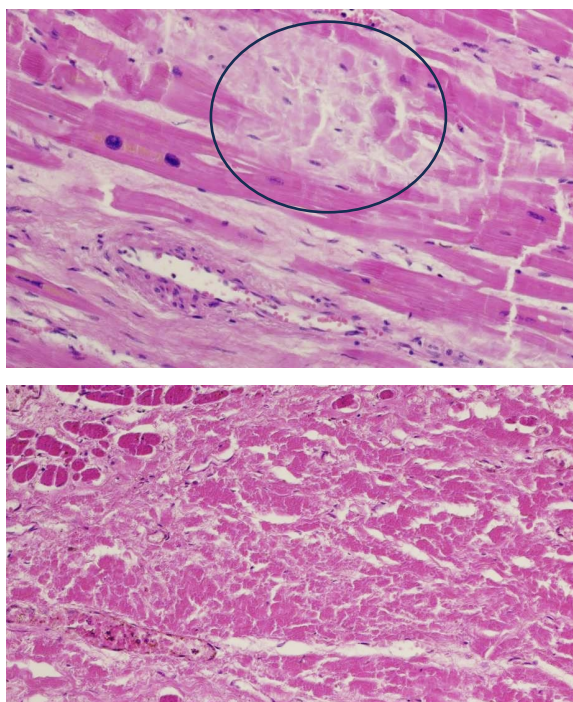
Výsledky

Základný súbor tvoril 31 pacientov, z toho 18 mužov a 13 žien. U prevažnej väčšiny pacientov (77,4%) sa počas hospitalizácie prejavili kardiovaskulárne komplikácie, u 22,6% bolo diagnostikované srdcové zlyhanie, u 9,7% pľúcna embólia, u 19,4% arytmie, u 12,9% musela byť riešená hypertenzná urgencia, u jedného pacienta bol diagnostikovaný infarkt myokardu. Nepozorovali sme významné rozdiely vo výskyte kardiovaskulárnych komplikácií počas hospitalizácie v závislosti od toho, či pacient bol hospitalizovaný v súvislosti s chorobou COVID-19 alebo nie. Signifikantné rozdiely neboli pozorované ani v súvislosti od závažnosti priebehu infekcie SARS-CoV-2. Pacienti s ťažkým priebehom infekcie mali ale významne vyšší výskyt dyspnoe ($p < 0,05$) a respiračných ťažkostí ($p < 0,001$) s klinickým obrazom pneumónie ($p < 0,05$).

Celkovo u 83,9% pacientov boli anamnesticky prítomné prejavy kardiovaskulárnych chorôb. Anamnestické informácie o aterosklerotickej koronárnej chorobe

(prejavy ischemickej choroby srdca, angíny pectoris, predchádzajúce infarkty myokardu) boli prítomné u 83,9 % pacientov, bez rozdielu medzi skupinami. Hypertenzná choroba bola diagnostikovaná u 80,6% pacientov, diabetes mellitus u 48,4% pacientov.

Histologicky dominoval v myokarde obraz difúznej a perivaskulárnej fibrózy, tento koreloval s anamnestickou informáciou o koronárnej aterosklerotickej chorobe. (obr. 2). U časti pacientov (45,1 %) sme pozorovali fokálne ischemické zmeny s drobnoložiskovou myomaláciou kardiomyocytov (obr. 3). U jedného pacienta bol prítomný histologický obraz infarktu myokardu. Tieto zmeny nevykazovali signifikantné rozdiely medzi skupinami.



Obr. 3 Čerstvé ischemické zmeny myokardu s ložiskovými myomaláciami Ložiskovo bolo možné pozorovať čerstvé ischemické zmeny myokardu s ložiskovými nekrotizáciami kardiomyocytov. HE, 200x

Zaujímavý je nález mierneho difúzneho a ložiskového nahromadenia lymfocytov (CD3+) a polymorfonukleárov v myokarde u časti pacientov s SARS-CoV-2 infekciou, ktorý bol nápadnejší v porovnaní s pacientami bez diagnostikovanej choroby COVID-19 (obr. 4), u ktorých sme podobné zhľuky nepozorovali. Tento nebol asociovaný so známami ischemie myokardu. Histiocyty nevykazovali významnejšiu pozitivitu.

Aj keď bola prítomnosť lymfocytového infiltrátu len diskretná, asociácia s diagnostikovanou infekciou SARS-CoV-2 môže naznačovať skrytú, nenápadne prebiehajúcu myokarditídu a môže mať potenciálne závažný efekt do budúcnosti.

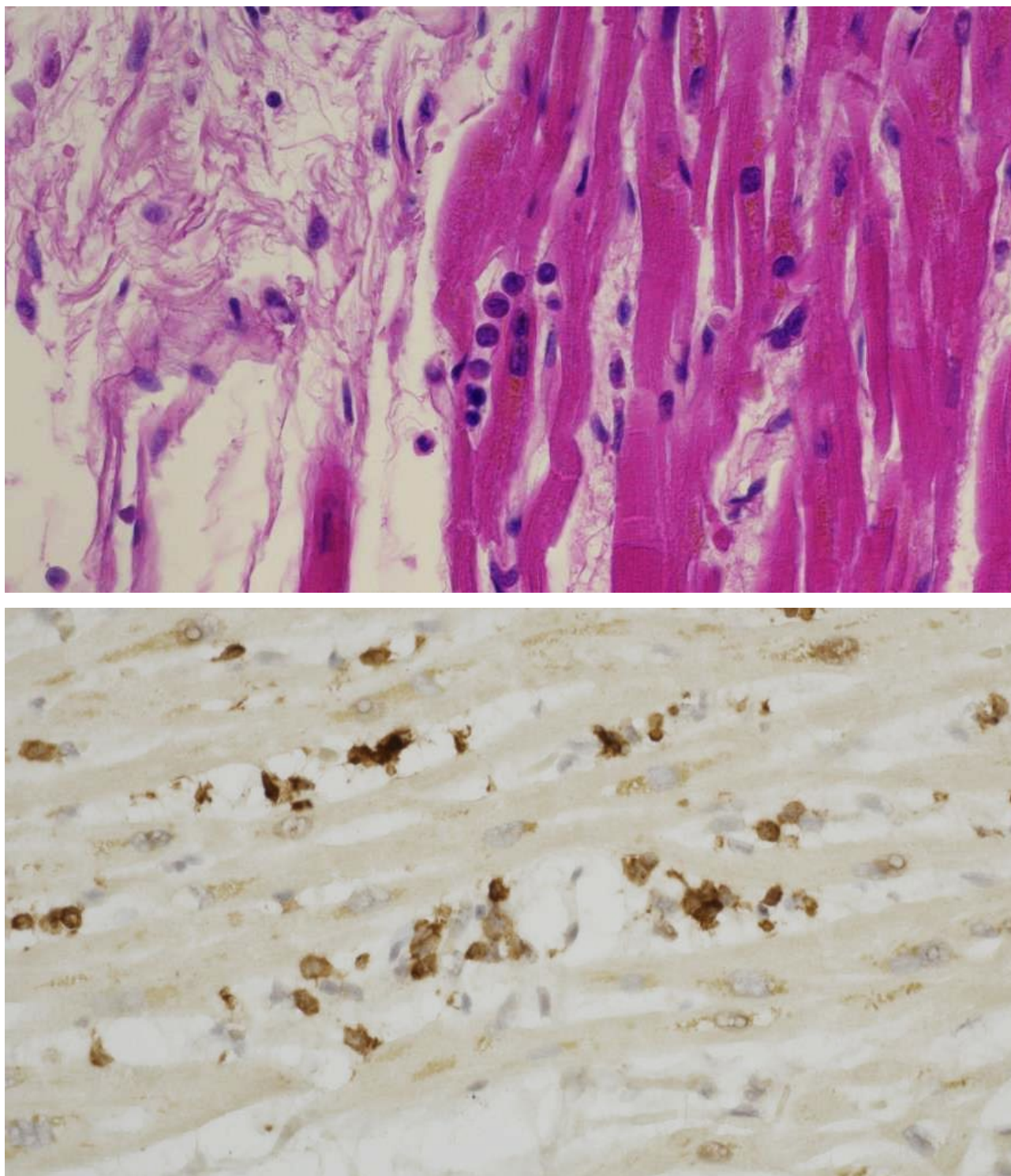
Diskusia

Priebeh choroby COVID-19 má multiorgánový patologický dopad. Aj keď sa primárne prejavuje zmenami v dýchacom systéme, ktoré kľúčovým spôsobom prispievajú k mortalite pacientov, postihuje aj iné orgány. Infekcia SARS-CoV-2 je spájaná aj s chorobami kardiovaskulárneho systému. Pacienti so závažnými kardiovaskulárnymi komorbiditami majú väčšie riziko ťažkého priebehu infekcie (19). Na druhej strane má aj samotná infekcia SARS-CoV-2 vplyv na myokard. Štúdie ukázali, že pacienti po prekonaní COVID-19 majú zvýšené riziko výskytu akútneho infarktu myokardu v neskoršom období, v čase keď sa už samotná infekcia priamo neprejavuje (20).

Cieľom predloženej práce bolo porovnať kardiovaskulárne komplikácie u pacientov s ľahkým a ťažkým priebehom choroby COVID-19 v porovnaní s kontrolnou skupinou bez infekcie SARS-CoV-2. Aj keď sme v celom súbore pacientov pozorovali signifikantný výskyt kardiovaskulárných komplikácií vrátane prejavov závažného kardiálneho zlyhania, arytmií, cirkulačného zlyhania kombinovanej etiológie, hypertenznej choroby a infarktu myokardu, nepozorovali sme rozdielny výskyt týchto komplikácií v súvislosti s infekciou SARS-CoV-2 ani so závažnosťou priebehu choroby COVID-19. U pacientov dominovalo najmä srdcové zlyhanie, cirkulačné zlyhanie kombinovanej etiológie a výskyt arytmií. Histologicky sme v postihnutom myokarde pozorovali prítomnosť difúznej a diseminovanej fibrózy a ischemických zmien. Zaujímavým nálezom je ale difúzne ako aj ložiskové nahromadenie lymfocytov v myokarde u časti pacientov s SARS-CoV-2 infekciou. Aj mierna zápalová reakcia, v kombinácii priameho poškodenia buniek a cytotoxicity T-buniek zosilnená syndrómom cytokínovej búrky v myokarde môže mať závažné dlhodobé prejavy (21). Zvýšený počet T lymfocytov a intersticiálnych histiocytov v histologických vzorkách myokardu získaných pomocou endomyokardiálnej biopsie u ľudí s chorobou COVID-19 pozorovali Shah et al. (22).

Aj keď je prítomnosť lymfocytového infiltrátu len mierna a nevýrazná a na jej lepšie diferencovanie by bolo potrebné použiť špecifické imunohistochemické farbenie, pozorovaný vzťah s infekciou SARS-CoV-2 môže naznačovať inaparentne prebiehajúcu myokarditídu. Akútna myokarditída je opisovaná ako relatívne zriedkavá komplikácia infekcie COVID-19. Vyskytuje sa približne u 0,2 z 1000 pacientov, ktorí prekonali a prežili infekciu COVID-19, pacienti vyliečení z COVID-19 ale majú výrazne vyššie riziko vzniku myokarditídy do 1 roka od infekcie. Aj keď sú samotné vírusové infekcie pomerne častou príčinou akútnej myokarditídy, takýto priebeh v prípade infekcie SARS-CoV-2 nepozorujeme (20, 21).

Výskum v poslednom období sa zamerával najmä na potenciálne patofyziologické mechanizmy akútneho poškodenia myokardu buď ako komplikácie infekcie počas akútnej fázy ochorenia, alebo postvákcinácie. V súčasnosti ale nemáme dostatočnú predstavu o možných dlhodobých komplikáciách a o výskyte postakútnej



Obr. 4 **Ložiskové nahromadenie lymfocytov a polymorfonukleárov v myokarde** Zaujímavý je nález mierneho difúzneho a ložiskového nahromadenia lymfocytov (CD3+) a polymorfonukleárov v myokarde u časti pacientov s SARS-CoV-2 infekciou. HE, 400x

myokarditídy asociovanej s COVID-19. Uvažuje sa, že zvýšené riziko kardiovaskulárnych komplikácií po prekonaní infekcie, vrátane vyššieho rizika akútneho

infarktu myokardu môže byť spôsobené narušenou neurohumorálnou reguláciou, sprevádzanou napr. zvýšenou hladinou interleukínu-6. Plazmatické hladiny IL-

6 sú potenciálnym markerom rizika budúcich aterotrombotických príhod u postkovidových pacientov (23–25). Iným mechanizmom môže byť aj tvorba extracelulárnych pascí neutrofilov (NETs) a inhibícia tvorby NETs by mohli zohrávať úlohu v prevencii kardiovaskulárnych chorôb po prekonaní COVID-19 (26).

Potenciálna postakútna myokarditída predstavuje závažnú kardiovaskulárnu chorobu. Práve nepoznaná myokarditída môže mať dopad aj na dlhodobý vplyv choroby COVID-19 na populáciu a môže sa prejavíť neskorými komplikáciami. Inaparentná nepoznaná myokarditída môže súvisieť aj s komplikáciami v rámci postkovidového syndrómu resp. dlhodobého „long“ COVID syndrómu pozorovaného u mnohých pacientov. V súčasnosti predstavuje práve dlhodobý COVID závažný problém u časti pacientov, sprevádzaný dlhotrvajúcim postihnutím viacerých orgánov vrátane

kardiovaskulárneho systému, pretrvávajúceho mesiace po odznení infekcie (27).

Doposiaľ s istotou nevieme, aké faktory zvyšujú riziko rozvinutia kardiovaskulárnych komplikácií po prekonaní COVID-19. Výskum v tejto oblasti je dôležitý a predstavuje základ pre identifikovanie potenciálnych rizikových faktorov v budúcnosti s potenciálom ich terapeutického ovplyvnenia.

Podakovanie:

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Vývoj biomodelov pre zlepšenie hodnotenia účinnosti liekov a látok, ktoré majú potenciál pri liečbe COVID-19 (BIOVID-19), kód ITMS: 313011AVG3, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra:

1. Zeouk I., Bekhti K., Lorenzo-Morales J. From Wuhan to COVID-19 Pandemic: An Up-to-Date Review of Its Pathogenesis, Potential Therapeutics, and Recent Advances. *Microorganisms*. 2020;8:850; doi: 10.3390/microorganisms8060850.
2. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323:1061–9; doi: 10.1001/jama.2020.1585.
3. Chen T., Wu D., Chen H., Yan W., Yang D., Chen G., et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*. 2020;368:m1091; doi: 10.1136/bmj.m1091.
4. Puntmann V.O., Carerj M.L., Wieters I., Fahim M., Arendt C., Hoffmann J., et al. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020;5:1265–73; doi: 10.1001/jamacardio.2020.3557.
5. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181:271–280.e8; doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
6. Hamming I., Timens W., Bulthuis M.L.C., Lely A.T., Navis G.J., van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203:631–7; doi: 10.1002/path.1570.
7. Chen L., Li X., Chen M., Feng Y., Xiong C. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovasc Res*. 2020;116:1097–100; doi: 10.1093/cvr/cvaa078.
8. Nishiga M., Wang D.W., Han Y., Lewis D.B., Wu J.C. COVID-19 and cardiovascular disease: from basic mechanisms to clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17:543–58; doi: 10.1038/s41569-020-0413-9.
9. Bourgonje A.R., Abdulle A.E., Timens W., Hillebrands J.-L., Navis G.J., Gordijn S.J., et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Pathol*. 2020;251:228–48; doi: 10.1002/path.5471.
10. Sadria M., Layton A.T. Use of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Blockers During the COVID-19 Pandemic: A Modeling Analysis. *PLoS Comput Biol*. 2020;16:e1008235; doi: 10.1371/journal.pcbi.1008235.
11. Beyerstedt S., Casaro E.B., Rangel É.B. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2021;40:905–19; doi: 10.1007/s10096-020-04138-6.
12. Ni W., Yang X., Yang D., Bao J., Li R., Xiao Y., et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24:422; doi: 10.1186/s13054-020-03120-0.
13. Xu S.-C., Wu W., Zhang S.-Y. Manifestations and Mechanism of SARS-CoV2 Mediated Cardiac Injury. *Int J Biol Sci*. 2022;18:2703–13; doi: 10.7150/ijbs.69677.
14. Yao X.-H., He Z.-C., Li T.-Y., Zhang H.-R., Wang Y., Mou H., et al. Pathological evidence for residual SARS-CoV-2 in pulmonary tissues of a ready-for-discharge patient. *Cell Res*. 2020;30:541–3; doi: 10.1038/s41422-020-0318-5.
15. Lindner D., Fitzek A., Bräuninger H., Aleshcheva G., Edler C., Meissner K., et al. Association of Cardiac

Infection With SARS-CoV-2 in Confirmed COVID-19 Autopsy Cases. *JAMA Cardiol.* 2020;5:1281–5; doi: 10.1001/jamacardio.2020.3551.

16. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H., et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020;8:475–81; doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.

17. Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H., Gockman K., Zuo M., Madison J.A., et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight.* 2020;5:e138999, 138999; doi: 10.1172/jci.insight.138999.

18. Iwasaki M., Saito J., Zhao H., Sakamoto A., Hirota K., Ma D. Inflammation Triggered by SARS-CoV-2 and ACE2 Augment Drives Multiple Organ Failure of Severe COVID-19: Molecular Mechanisms and Implications. *Inflammation.* 2021;44:13–34; doi: 10.1007/s10753-020-01337-3.

19. John K.J., Mishra A.K., Ramasamy C., George A.A., Selvaraj V., Lal A. Heart failure in COVID-19 patients: Critical care experience. *World J Virol.* 2022;11:1–19; doi: 10.5501/wjv.v11.i1.1.

20. Zuin M., Rigatelli G., Battisti V., Costola G., Roncon L., Bilato C. Increased risk of acute myocardial infarction after COVID-19 recovery: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2023;372:138–43; doi: 10.1016/j.ijcard.2022.12.032.

21. Zuin M., Rigatelli G., Bilato C., Porcari A., Merlo M., Roncon L., et al. One-Year Risk of Myocarditis After COVID-19 Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Can J Cardiol.* 2023;39:839–44; doi: 10.1016/j.cjca.2022.12.003.

22. Shah J.Z., Kumar S.A., Patel A.A. Myocarditis and Pericarditis in Patients with COVID-19. *Heart Views Off J Gulf Heart Assoc.* 2020;21:209–14; doi: 10.4103/HEARTVIEWS.HEARTVIEWS_154_20.

23. Kaptoge S., Seshasai S.R.K., Gao P., Freitag D.F., Butterworth A.S., Borglykke A., et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *Eur Heart J.* 2014;35:578–89; doi: 10.1093/eurheartj/eh367.

24. Kow C.S., Ramachandram D.S., Hasan S.S. The Potential Cardiovascular Benefits of COVID-19 Vaccination: Lessons from Influenza and Emerging Evidence. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2024;38:421–2; doi: 10.1007/s10557-023-07485-6.

25. Kow C.S., Ramachandram D.S., Hasan S.S. Should COVID-19 be considered cardiovascular disease risk equivalent? *Int J Cardiol.* 2023;377:123; doi: 10.1016/j.ijcard.2023.01.076.

26. George P.M., Reed A., Desai S.R., Devaraj A., Faiez T.S., Lavery S., et al. A persistent neutrophil-associated immune signature characterizes post-COVID-19 pulmonary sequelae. *Sci Transl Med.* 2022;14:eabo5795; doi: 10.1126/scitranslmed.abo5795.

27. Gyöngyösi M., Alcaide P., Asselbergs F.W., Brundel B.J.J.M., Camici G.G., Martins P. da C., et al. Long COVID and the cardiovascular system-elucidating causes and cellular mechanisms in order to develop targeted diagnostic and therapeutic strategies: a joint Scientific Statement of the ESC Working Groups on Cellular Biology of the Heart and Myocardial and Pericardial Diseases. *Cardiovasc Res.* 2023;119:336–56; doi: 10.1093/cvr/cvac115.

28. Chen C.-C., Chi C.-Y. Reply to Rapid on-site evaluation and the COVID-19 pandemic. *Cancer Cytopathol.* 2020;128:910–2; doi: 10.1002/cncy.22296.

MUDr. Michaela Kušnierová

Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava

*From tissue architecture to precision oncology: spatial transcriptomics of bladder cancer***Andrea Janegova¹, Kristina Mikus Kuracinova¹, Stanislav Ziaran², Tatiana Sedlackova³, Tomas Szemes³, Pavel Babal¹, Pavol Janega¹**¹ Comenius University, Faculty of Medicine, Institute of Pathology, Bratislava, Slovakia,² Comenius University, Faculty of Medicine, Department of Urology, Bratislava, Slovakia,³ Comenius University, Science Park, Bratislava, Slovakia

Urothelial carcinoma of the urinary bladder is a biologically heterogeneous malignancy characterized by substantial variability in its morphological and molecular features. The aim of this study was to evaluate the potential of spatial transcriptomics for identifying biologically distinct tumour populations within invasive urothelial carcinoma. Spatial transcriptomic profiling was performed on a formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) specimen of invasive bladder carcinoma using the 10x Genomics Visium Spatial Gene Expression platform. Transcriptomic data were analysed using cluster analysis and differential gene expression analysis. Six transcriptionally distinct clusters with a clear spatial organization were identified. Cluster 1 corresponded to superficial papillary non-invasive tumour formations, whereas Clusters 2 and 4 were localized within deeper papillary structures. Cluster 6 was localized at the invasive tumour front. Clusters 3 and 5 represented transitional populations containing stromal and inflammatory cells. Expression of EPCAM was detected in all tumour-associated clusters, confirming their epithelial origin. The superficial cluster was characterized by genes associated with epithelial differentiation, mucosal defence, and maintenance of epithelial polarity. The deeper Cluster 2 exhibited increased expression of cell-cycle and proliferation-related genes, including PCLAF, PLK1, STMN1, and E2F3. Cluster 4 was associated with metabolic and signalling pathways. The invasive Cluster 6 demonstrated increased expression of genes related to mitotic activity as well as genes involved in immune processes. This pilot analysis confirmed marked transcriptional heterogeneity among individual tumour compartments. The findings demonstrate the potential of spatial transcriptomics for investigating the biological diversity of urothelial carcinoma and for identifying molecular mechanisms associated with tumour progression and invasion.

Keywords: bladder cancer, spatial transcriptomics, diagnostic markers, prognostic markers**Od tkanivovej architektúry k precíznej onkológii: priestorová transkriptomika karcinómu močového mechúra****Abstrakt**

Urotelový karcinóm močového mechúra patrí medzi biologicky heterogénne nádory s výraznou variabilitou morfológických a molekulových vlastností. Cieľom práce bolo zhodnotiť možnosti priestorovej transkriptomiky pri identifikácii biologicky odlišných nádorových populácií v invazívnom urotelovom karcinóme. Analýza bola realizovaná pomocou platformy 10X Genomics Visium Spatial Gene Expression na formalínom fixovanej v parafíne zaliatej (FFPE) vzorke invazívneho karcinómu močového mechúra. Transkriptomické dáta boli analyzované prostredníctvom klastrovej analýzy a diferenciálnej expresnej analýzy génov. Identifikovaných bolo šesť transkripčne odlišných klastrov s jasnou priestorovou organizáciou. Klaster 1 zodpovedal povrchovým papilárnym neinvazívnym nádorovým formáciám, zatiaľ čo klastre 2 a 4 boli lokalizované v hlbších papilárných štruktúrach. Klaster 6 bol lokalizovaný v oblasti invazívneho infiltračného frontu. Klastre 3 a 5 predstavovali prechodné populácie so zastúpením stromálnych a zápalových buniek. Vo všetkých nádorových klastroch bola prítomná expresia génu EPCAM, potvrdzujúca ich epitelový pôvod. Povrchový klaster bol charakterizovaný génmi spojenými s epitelovou diferenciáciou, slizničnou ochranou a bunkovou polaritou. Hlbší klaster 2 vykazoval zvýšenú expresiu génov bunkového cyklu a proliferácie vrátane PCLAF, PLK1, STMN1 a E2F3. Klaster 4 bol asociovaný s metabolickými a signalizačnými procesmi. Invazívny klaster 6 vykazoval zvýšenú expresiu génov súvisiacich s mitotickou aktivitou a zároveň génov zapojených do imunitných procesov. Realizovaná pilotná analýza potvrdila výraznú transkripčnú heterogenitu medzi jednotlivými nádorovými kompartmentmi. Výsledky dokumentujú potenciál priestorovej transkriptomiky pri štúdiu biologickej diverzity urotelového karcinómu a pri identifikácii molekulových mechanizmov spojených s nádorovou progresiou a inváziou

Kľúčové slová: karcinóm močového mechúra, priestorová transkriptomika, diagnostické markery, prognostické markery

Introduction

Urinary bladder carcinoma is a relatively common malignancy with an increasing incidence worldwide. According to GLOBOCAN 2022 data, it is the 9th most frequently diagnosed cancer, with over 610.000 new cases and over 220.000 deaths annually. Approximately 75% of cases are observed in males, who are affected 3-4x more frequently than females (1, 2).

The highest incidence is reported in high-income countries, and the strongest demographic risk factor is increasing age, with 90% of patients diagnosed after the age of 55. The overall prognosis is variable. The 5-year survival ranges from 96% for non-invasive and lamina propria-invasive tumours to 5% in cases with distant metastases (3, 4). Tobacco smoking is an important environmental and modifiable risk factor. Tobacco smoke contains polycyclic aromatic hydrocarbons and aromatic amines, which, when excreted in urine, are potent urothelial carcinogens. Additional risk factors include chronic bladder inflammation and chronic irritation from

long-term catheterisation. In some countries, the crucial risk factor is chronic *Schistosoma* infection. (5).

Genetic predisposition is less prominent, but hereditary syndromes, such as Lynch syndrome, may also predispose to urothelial carcinoma, and germline DNA mutations can be identified in approximately 14% of bladder cancer patients. (6, 7). Bladder carcinogenesis follows at least partially distinct molecular pathways that differ from early dysplasia through papillary precursor lesions to invasive carcinoma. Early events in low-grade papillary tumours frequently include loss of chromosome 9 and activating mutations in the *FGFR3* gene. *TP53* mutations and additional chromosomal aberrations characterise progression to high-grade dysplasia. The critical point in carcinogenesis is a progression from non-invasive disease to lamina propria-invasive (pT1) and subsequently muscle-invasive (pT2) disease (8, 9). At this stage, urothelial tumours exhibit pronounced intratumoral molecular heterogeneity.

Gene	Full name	Main biological function	Functional category
C10orf99 (GPR15L)	G protein-coupled receptor 15 ligand	Antimicrobial peptide expressed in epithelial tissues	Mucosal defence / epithelial protection
KIAA1324 (EIG121)	Estrogen-induced gene 121	Regulates autophagy and epithelial cell survival	Epithelial homeostasis
CLIC3	Chloride intracellular channel 3	Endosomal recycling and extracellular matrix remodelling	Membrane trafficking / ECM remodelling
FBLN1	Fibulin-1	Extracellular matrix glycoprotein involved in tissue integrity and epithelial differentiation	Extracellular matrix / epithelial differentiation
P2RY2	Purinergic receptor P2Y2	Regulates proliferation, differentiation and ion secretion in epithelial cells	Cell signalling
FDX1	Ferredoxin 1	Mitochondrial protein involved in steroid biosynthesis and copper metabolism	Cellular metabolism
PIFO	Pitchfork	Participates in ciliogenesis and ciliary formation	Ciliogenesis
SLPI	Secretory leukocyte protease inhibitor	Antimicrobial and anti-inflammatory protein of mucosal surfaces	Mucosal defence / inflammation control
MAL	Myelin and lymphocyte protein	Lipid raft-associated protein involved in apical transport in polarized epithelial cells	Epithelial polarity / membrane transport
MREG	Melanoregulin	Regulates vesicular trafficking and exocytosis	Vesicular transport
MALL	MAL-like protein	Involved in apical membrane transport, functionally related to MAL	Epithelial polarity / membrane transport

Table 1. Representative marker genes identified in Cluster 1 and their principal biological functions. The cluster was predominantly localised within superficial papillary non-invasive tumour structures and was characterised by genes associated with epithelial differentiation, mucosal defence, membrane trafficking, epithelial polarity, and tissue homeostasis (21–23, 38).



Figure 1. Spatial transcriptomic clustering of invasive urothelial carcinoma. Representative hematoxylin and eosin (H&E)-stained tissue section (top) and corresponding spatial transcriptomic map generated using the 10x Genomics Visium platform (bottom). Unsupervised graph-based clustering identified six transcriptionally distinct clusters within the analysed tumour specimen. Cluster 1 (black) was predominantly localised within superficial non-invasive papillary tumour structures. Clusters 2 (yellow-green) and 4 (orange) were mainly distributed within deeper papillary formations extending towards the bladder wall. Cluster 6 (dark red) was concentrated at the invasive tumour front and corresponded to areas of infiltrative growth. Clusters 3 (blue) and 5 (green) represented transitional populations located between the major tumour compartments and were associated with regions containing stromal elements, inflammatory infiltrates, and mixed cellular populations. The spatial distribution of clusters demonstrates marked intratumoral transcriptional heterogeneity and reveals distinct molecular profiles associated with superficial, deep, and invasive tumour compartments.

Functional group	Genes
Epithelial differentiation and homeostasis	KIAA1324, FBLN1, MAL, MALL
Mucosal defence and antimicrobial activity	C10orf99, SLPI
Membrane trafficking and epithelial polarity	CLIC3, MAL, MALL, MREG
Cell signalling and regulation	P2RY2
Metabolism	FDX1
Ciliogenesis	PIFO

Table 2. Summary of the major functional groups represented by genes in Cluster 1. The identified genes were categorized according to their predominant biological functions. The transcriptional profile of Cluster 1 is consistent with a differentiated epithelial phenotype characterized by preserved epithelial polarity, active membrane transport, mucosal protective mechanisms, and tissue homeostasis. These findings are in accordance with the spatial localization of Cluster 1 within superficial papillary non-invasive tumour formations.

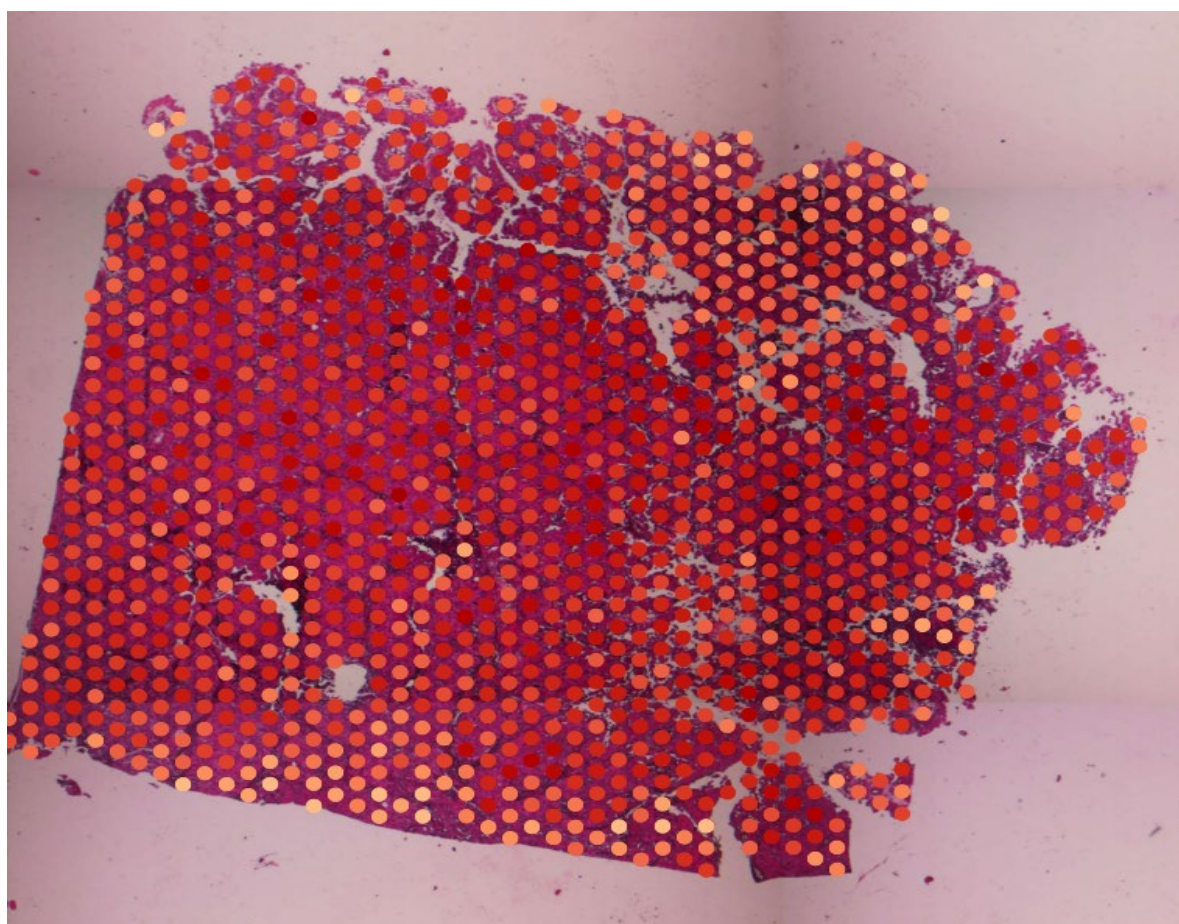


Figure 2. Spatial distribution of EPCAM expression within the analysed urothelial carcinoma specimen. Spatial transcriptomic mapping demonstrated widespread EPCAM expression across the tumour tissue. EPCAM-positive spots were detected throughout all major tumour-associated clusters, confirming the predominantly epithelial origin of the analysed cellular populations. The relatively homogeneous distribution of EPCAM expression across superficial, deep, and invasive tumour compartments indicates preservation of epithelial lineage characteristics despite the marked transcriptional heterogeneity observed between individual clusters. Colour intensity corresponds to normalised EPCAM expression levels within individual Visium spots.

Gene	Full name	Main biological function	Functional category
PCLAF	PCNA Clamp Associated Factor	Regulates DNA replication and progression through the S phase of the cell cycle	DNA replication / Cell cycle
PTTG1	Pituitary Tumor-Transforming Gene 1 (Securin)	Controls chromatid segregation during mitosis by inhibiting separase until anaphase	Mitosis / Chromosome segregation
PLK1	Polo-Like Kinase 1	Essential for mitotic entry, spindle assembly, and cytokinesis	Cell cycle / Mitosis
STMN1	Stathmin 1	Regulates microtubule dynamics and mitotic spindle formation	Mitosis / Cytoskeleton regulation
E2F3	E2F Transcription Factor 3	Controls G1/S transition and transcription of DNA replication genes	Cell cycle regulation
ASF1B	Anti-Silencing Function 1B Histone Chaperone	Histone chaperone associated with cellular proliferation and cell-cycle progression	Chromatin regulation / Proliferation
ASRGL1	Asparaginase-Like Protein 1	Catalyzes hydrolysis of L-asparagine and isoaspartyl peptides; linked to tumorigenesis	Metabolism / Tumour progression
FABP5	Fatty Acid-Binding Protein 5	Promotes tumour cell proliferation and survival through lipid signalling pathways	Lipid metabolism / Tumour proliferation

Table 3. Representative marker genes identified in Cluster 2 and their principal biological functions. The cluster was predominantly localized within deeper papillary tumour structures and was characterized by genes involved in DNA replication, cell-cycle progression, mitotic regulation, cellular proliferation, and tumour growth (23, 39–41).

Functional group	Genes
DNA replication and S-phase progression	PCLAF, E2F3
Mitosis and chromosome segregation	PTTG1, PLK1, STMN1
Cell-cycle regulation and proliferation	PCLAF, PLK1, E2F3, ASF1B, STMN1
Chromatin organization	ASF1B
Metabolism and tumour progression	ASRGL1, FABP5
Lipid signalling and tumour survival	FABP5

Table 4. Summary of the major functional groups represented by genes in Cluster 2. The transcriptional profile of Cluster 2 is consistent with a highly proliferative tumour cell population characterised by active DNA replication, cell-cycle progression, mitotic activity, and enhanced tumour cell survival. The predominance of genes involved in cell-cycle regulation and mitosis suggests that this cluster represents a biologically aggressive proliferative compartment located within the deeper papillary regions of the tumour.

This heterogeneity reflects the diverse histological and molecular subtypes and participates in variable clinical behaviour (10, 11).

The molecular complexity makes diagnosing and classifying urothelial carcinoma more difficult and can result in varied responses to treatment. Traditional morphological classification is often insufficient to fully describe disease biology (10, 11). Integrating mutational, transcriptomic, epigenetic, and proteomic profiles enables molecular subtyping with potential prognostic and predictive value. In this context, spatial transcriptomics has recently emerged as a promising approach to better characterise tumour biology. The spatial analysis of gene expression mapped to specific locations within a tissue section helps to better understand cellular changes in their histological context, which is especially important in malignancies

characterised by marked intratumoral heterogeneity, such as urothelial carcinoma. (12, 13).

Methods

The multidisciplinary study "BLAC-GPRO" (Genetic Profile Variability in Bladder Cancer: Implications for Diagnosis and Therapy) was realised in collaboration with Comenius University in Bratislava (Faculty of Medicine and University Science Park) and the University Hospital in Bratislava. The study protocol was approved by the ethics committee, and the participants signed the informed consent. To date, 257 patients are enrolled. The inclusion criteria comprised patients with clinical pathology of the urinary bladder or suspected bladder carcinoma who were indicated for

Gene	Full name	Main biological function	Functional category
OAS1	2'-5'-Oligoadenylate Synthetase 1	Synthesizes 2'-5'-oligoadenylates and activates RNase L as part of the innate antiviral response	Antiviral immunity
MAPK3 (ERK1)	Mitogen-Activated Protein Kinase 3	Regulates signalling pathways involved in proliferation, differentiation, and innate immune responses	Signal transduction
ASS1	Argininosuccinate Synthase 1	Catalyzes argininosuccinate synthesis in the urea cycle and arginine metabolism	Amino acid metabolism
PLA2G2F	Phospholipase A2 Group IIF	Secreted phospholipase involved in lipid metabolism and inflammatory responses	Lipid metabolism / Inflammation
SCNN1G	Sodium Channel Epithelial 1 Gamma Subunit	Component of the epithelial sodium channel (ENaC), essential for sodium transport and reabsorption	Ion transport
ZNF90	Zinc Finger Protein 90	Putative transcription factor involved in the regulation of gene expression	Transcriptional regulation

Table 5. Representative marker genes identified in Cluster 4 and their principal biological functions. This cluster exhibited a heterogeneous transcriptional profile associated with signal transduction, metabolic processes, interferon-related responses, ion transport, and transcriptional regulation (26, 42, 43).

Functional group	Genes
Antiviral and innate immunity	OAS1, MAPK3
Signal transduction	MAPK3
Amino acid metabolism	ASS1
Lipid metabolism and inflammatory response	PLA2G2F
Ion transport and epithelial homeostasis	SCNN1G
Transcriptional regulation	ZNF90

Table 6. The transcriptional profile of Cluster 4 represents the most functionally heterogeneous cluster identified in the analysis. The enriched genes are involved in diverse biological processes, including innate antiviral immunity, signal transduction, amino acid metabolism, lipid metabolism, ion transport, and transcriptional regulation. Unlike Clusters 1, 2, and 6, no single dominant biological pathway is evident. These findings suggest that Cluster 4 may represent a metabolically and functionally adaptive tumour population reflecting local microenvironmental influences within deeper tumour compartments.

diagnostic biopsy. Patients with concurrent multiple malignancies and patients who had previously received neoadjuvant chemotherapy were excluded from the study.

In this report, we present the results of a pilot spatial transcriptomic analysis of invasive urothelial carcinoma, comparing superficial and deep tumour compartments. This approach identified spatially distinct gene expression patterns associated with tumour invasion and interactions with the tumour microenvironment.

Spatial transcriptomic profiling was performed on a selected formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) bladder tumour specimen using the 10x Genomics Visium Spatial Gene Expression platform (10x Genomics, Pleasanton, CA, USA). Whole-transcriptome sequencing libraries were generated from tissue sections captured on Visium slides, enabling alignment and visualisation of mRNA expression profiles directly within their histological context. Raw sequencing data were processed using Cell

Ranger (10x Genomics), and gene expression profiles were visualised in Loupe Browser v 9.1.0 (10x Genomics) according to the manufacturer's recommendations.

To further investigate intratumoral transcriptional heterogeneity, the dataset was reanalysed. Secondary analysis and reclustering were performed directly within the software's reanalysis module. Dimensionality reduction via UMAP was executed with the parameters optimised to $\text{min_dist} = 0.05$ and neighbors number = 10, using the top 30 principal components. Graph-based clustering was subsequently performed using the integrated Louvain algorithm at a resolution of 0.05. Differential expression analysis was performed for each cluster, and genes with the highest positive \log_2 fold-change (L2FC) values were selected as representative cluster-associated markers.

The resulting L2FC values were visualised as heatmaps in GraphPad Prism version 11.0.2 (GraphPad Software,

Gene	Full name	Main biological function	Functional category
CENPF	Centromere Protein F	Localizes to kinetochores during mitosis and is essential for accurate chromosome segregation	Kinetochores / Mitosis
CENPBD1	CENP-B DNA-Binding Domain Containing 1	Centromere-associated protein involved in chromosome organization	Kinetochores / Centromere function
MIS12	MIS12 Kinetochores Complex Component	Component of the MIS12 complex linking inner and outer kinetochores and enabling chromosome attachment to spindle microtubules	Kinetochores / Chromosome segregation
BLNK	B-Cell Linker Protein	Adaptor protein required for B-cell receptor signalling and B-cell development	Adaptive immunity / B-cell signalling
IGHG1	Immunoglobulin Heavy Constant Gamma 1	Encodes the constant region of the IgG1 heavy chain and participates in humoral immune responses	Humoral immunity
NMNAT1	Nicotinamide Nucleotide Adenylyltransferase 1	Catalyzes NAD ⁺ biosynthesis and contributes to cellular homeostasis and DNA repair	Cellular metabolism
GGPS1	Geranylgeranyl Diphosphate Synthase 1	Synthesizes geranylgeranyl diphosphate required for prenylation of small GTPases and intracellular signalling	Cellular metabolism / Signal transduction

Table 7. Representative marker genes identified in Cluster 6 and their principal biological functions. The cluster corresponded to the invasive tumour front and was characterized by genes involved in chromosome segregation, kinetochores assembly, mitotic progression, immune-related processes, and cellular metabolism (26, 28).

Functional group	Genes
Kinetochores assembly, mitosis and chromosome segregation	CENPF, CENPBD1, MIS12
B-cell signalling and humoral immunity	BLNK, IGHG1
Cellular metabolism and signalling	NMNAT1, GGPS1

Table 8. The transcriptional profile of Cluster 6 comprises two major biological modules. The first are involved in kinetochores assembly, chromosome segregation, and mitotic progression, indicating active cellular proliferation. The second consists of genes associated with B-cell receptor signalling and humoral immune responses. The coexistence of mitotic and immune-related genes suggests that Cluster 6 may represent a biologically distinct invasive compartment characterised by active proliferation and close interaction with the local immune microenvironment, rather than a single uniform biological pathway.

Boston, MA, USA), enabling direct comparison of cluster-specific transcriptional signatures across superficial, deep, and invasive tumour compartments.

The manuscript was linguistically reviewed and grammatically corrected using AI Grammarly (Grammarly Inc., San Francisco, CA, USA).

Results

Spatial transcriptomic analysis identified six transcriptionally distinct clusters within the analysed urothelial carcinoma specimen. Correlation of the spatial transcriptomic map with the corresponding histological structure revealed a clear spatial organisation of the identified clusters (Figure 1).

Cluster 1 was predominantly localised within superficial, non-invasive papillary tumour structures. Clusters 2 and 4 were mainly detected in deeper papillary formations extending into the bladder wall. Cluster 6 was concentrated at the invasive tumour front and corresponded to areas of infiltrative tumour growth. Clusters 3 and 5 represented transitional populations located between the major tumour compartments and were associated with regions containing stromal elements, inflammatory infiltrates, and mixed cellular populations.

Expression of EPCAM was detected across all analysed tumour-associated clusters, supporting the epithelial origin of the cells (Figure 2). Differential expression analysis identified distinct groups of genes showing increased expression within individual clusters compared with the remaining cell populations (Figure 3).

The superficial Cluster 1 was characterised by increased expression of C10orf99, KIAA1324, CLIC3, FBLN1, P2RY2, FDX1, PIFO, SLPI, MAL, MREG and MALL. The genes identified in this cluster are predominantly associated with the functions of differentiated epithelial tissues and mucosal surfaces, including epithelial polarity, mucosal defence, and tissue homeostasis. These findings are consistent with a relatively differentiated urothelial phenotype corresponding to superficial papillary tumour components (Table 1-2).

Cluster 2 demonstrated increased expression of ZMAT4, PCDH10, FABP5, ASRGL1, STEAP1, PCLAF, PTTG1, PLK1, STMN1, E2F3 and ASF1B. Several of these genes are directly involved in DNA replication, cell-cycle progression, mitotic regulation and cellular proliferation. This cluster is strongly associated with cellular proliferation and cell-cycle progression. The observed transcriptional profile suggests enhanced proliferative activity within deeper tumour compartments (Table 3-4).

Cluster 4 was characterised by increased expression of ZNF90, ASS1, PLA2G2F, SCNN1G, MAPK3 and OAS1. In

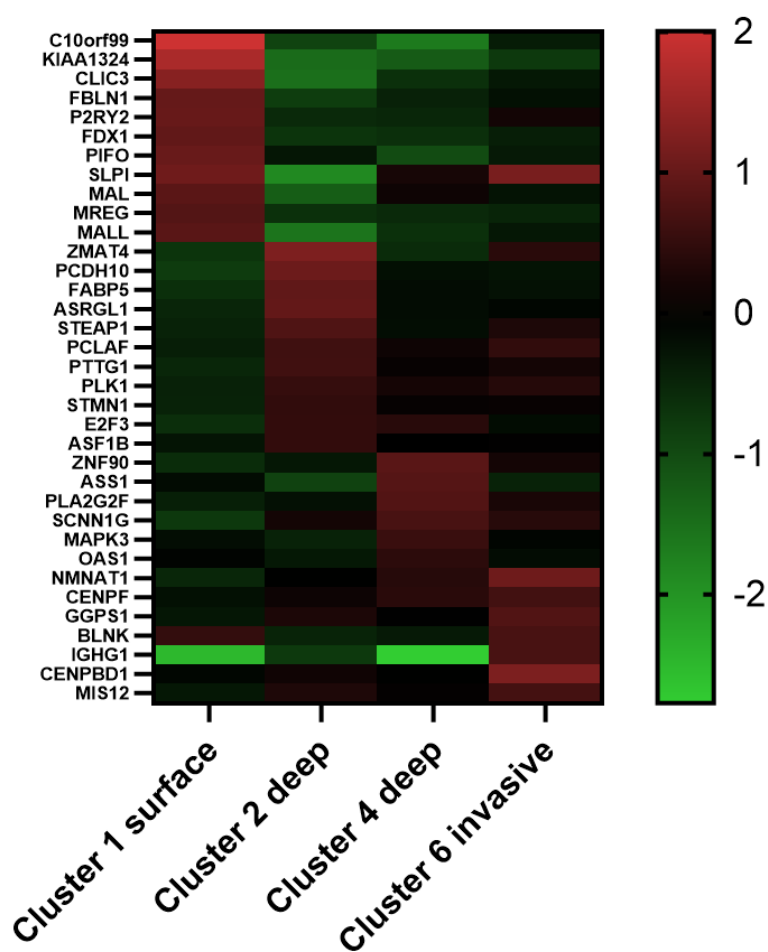


Figure 3. Heatmap of representative cluster-associated genes identified by spatial transcriptomic analysis of urothelial carcinoma. The heatmap demonstrates distinct transcriptional signatures corresponding to superficial papillary (Cluster 1), deep papillary (Clusters 2 and 4), and invasive (Cluster 6) tumour compartments. Cluster 1 was enriched for genes associated with epithelial differentiation and mucosal homeostasis, Cluster 2 for genes involved in cell-cycle progression and proliferation, Cluster 4 for genes related to signalling, metabolism, and innate immune responses, and Cluster 6 for genes associated with mitotic activity and immune-related functions. The observed expression patterns highlight substantial intratumoral transcriptional heterogeneity and clear molecular segregation of superficial, deep, and invasive tumour regions.

contrast to Cluster 2, the genes identified in this cluster did not form a single dominant biological pathway. Instead, they are associated with a broad range of cellular processes, including antiviral immunity, signal transduction, amino acid metabolism, lipid metabolism, ion transport, and transcriptional regulation (Table 5-6).

Cluster 6, corresponding to the invasive tumour front, demonstrated increased expression of *NMNAT1*, *CENPF*, *GGPS1*, *BLNK*, *IGHG1*, *CENPBD1* and *MIS12*. Functional analysis revealed enrichment for genes involved in chromosome segregation, kinetochore assembly, and mitotic progression (*CENPF*, *CENPBD1*, *MIS12*), as well as genes associated with immune-related functions (*BLNK*, *IGHG1*). These findings indicate a biologically distinct invasive compartment characterised by active cellular proliferation and interactions with the local immune microenvironment (Table 7-8).

To compare cluster-specific transcriptional signatures, genes from Clusters 1, 2, 4, and 6 were visualised on a heatmap of \log_2 fold-change values (Figure 3). The heatmap showed clear separation of superficial, deep, and invasive tumour compartments and revealed transcriptional heterogeneity within the urothelial carcinoma specimen.

Discussion

Bladder urothelial carcinoma is characterised by significant intratumoral heterogeneity in both morphology and biological behaviour. This diversity reflects distinct transcriptional programs among cells within the same tumour and strongly influences progression, invasiveness, and treatment response (14–16). The present pilot spatial transcriptomic analysis demonstrates the ability of the 10X spatial transcriptomic method to identify biologically distinct tumour cell populations within urothelial carcinoma while preserving precise histological localisation. Unlike conventional transcriptomic approaches, spatial transcriptomics enables direct correlation between gene expression profiles and morphological structures, revealing intratumoral heterogeneity.

Recent studies combining single-cell and spatial transcriptomic approaches have demonstrated the presence of multiple epithelial subpopulations within bladder cancer, each characterised by distinct biological functions, mutational burdens, and spatial localisation (17–19). Our pilot study identified six transcriptionally distinct clusters in the analysed tumour, corresponding to superficial papillary tumour formations, deeper tumour compartments, transitional stromal regions, and the invasive tumour front. These findings highlight the considerable molecular complexity of urothelial carcinoma and illustrate how morphologically related tumour areas may harbour markedly different

transcriptional programs. Spatial transcriptomic analyses of recurrent bladder tumours reveal more pronounced interactions among epithelial cells, immune cells, and the extracellular matrix than in primary tumours, despite comparable or lower abundances of malignant and immune cell populations (20). Despite molecular differences among individual tumour compartments, *EPCAM* expression remained detectable across all major tumour-associated clusters, confirming their epithelial origin.

The identified clusters appeared to represent different biological states of tumour progression. The superficial papillary compartment was enriched in genes associated with epithelial differentiation, mucosal defence, membrane trafficking, and maintenance of epithelial polarity, consistent with a relatively differentiated urothelial phenotype (21–23). In contrast, deeper clusters demonstrated strong enrichment of genes involved in DNA replication, mitosis, and cell-cycle progression, suggesting the presence of a highly proliferative tumour population (24, 25). In deeper parts of the tumour, the expression profile was more heterogeneous, involving metabolic pathways, interferon-related responses, and signal transduction, potentially reflecting tumour adaptation to local microenvironmental conditions. The invasive tumour front exhibited increased expression of genes associated with chromosome segregation and mitotic activity, as well as immune-related genes, indicating biologically distinct features characterised by active proliferation and interactions with the surrounding immune microenvironment (26–28).

The identification of a deeper highly proliferative compartment, dominated by genes involved in DNA replication, mitosis, and cell-cycle progression, is a reproducible finding across molecular classification systems. The International Society of Urological Pathology consensus recognises that bladder cancer has three major molecular subtypes—luminal, basal-squamous, and neuroendocrine, which are associated with considerable biological diversity (29). The luminal unstable subtype is characterised by higher cell-cycle activity and genomic instability compared with other luminal subtypes. The genes identified in Cluster 2 are well-established markers of proliferative activity in urothelial carcinoma. *E2F3* amplification has been reported in approximately 10% of urothelial carcinomas and is associated with tumour progression (30). The spatial localisation of this proliferative signature in deeper tumour regions suggests a gradient of increasing proliferative activity from the tumour surface toward the invasive front, a pattern observed in other epithelial malignancies.

The heterogeneous expression profile observed in Cluster 4, involving metabolic pathways, interferon-related responses, and signal transduction, may reflect the

complex metabolic and immunological adaptations that occur within the tumour microenvironment. Metabolic reprogramming is a hallmark of bladder cancer, with tumour cells exhibiting altered glycolysis and amino acid metabolism that directly influence the surrounding immune landscape (31). The presence of interferon-stimulated genes in this compartment is particularly noteworthy, as interferon signalling plays a dual role in the biology of urothelial carcinoma. On the one hand, it has been shown to drive the transition from luminal to basal-squamous transcriptional states; on the other hand, interferon signalling activates cancer-associated fibroblast subpopulations that promote cancer stemness, associated with poor outcomes and resistance to chemotherapy and immunotherapy (32–34).

The invasive tumour front exhibited a distinctive combination of mitotic activity and immune-related gene expression. This can have significant biological and clinical implications. The invasive front is recognised as a biologically special region in urothelial carcinoma. The pattern of tumour growth at the invasion front is an independent predictor of survival and progression (35–37). The increased expression of chromosome segregation

genes at the invasive front indicates active cell division, consistent with active tumour expansion.

Our findings suggest that tumour invasion is accompanied by morphological alterations that reflect the activation of distinct transcriptional programmes. The spatial transcriptomic analysis enabled clear delineation of superficial, deep, and invasive tumour regions and provided insight into the biological processes associated with tumour progression. Although the present study is based on a single representative case, the results highlight the potential of spatial transcriptomics to identify biologically meaningful tumour populations, improve our understanding of tumour architecture, and facilitate the discovery of biomarkers associated with invasion and disease progression in urothelial carcinoma.

Acknowledgment

Funded by the EU NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under the project No. 09I03-03-V03-00046 „Genetic profile variability in urinary bladder carcinoma; implications for diagnostics and therapy“

References:

- Filho A.M., Briganti A., Jemal A., Bray F. Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. *European Urology*. 2026;89:426–36; doi: 10.1016/j.eururo.2025.12.011.
- Zhang Y., Rungay H., Li M., Yu H., Pan H., Ni J. The global landscape of bladder cancer incidence and mortality in 2020 and projections to 2040. *Journal of Global Health*. 2023;13; doi: 10.7189/jogh.13.04109.
- Li H., Zeng S., Yang C., Yang Y., Cao Z., Hu Z., et al. Global, regional, and national burden and trends of bladder cancer in individuals aged 55 years and older from 1990 to 2021: findings from the Global Burden of Disease Study 2021. *International Journal of Surgery*. 2025;111:8916; doi: 10.1097/JS9.0000000000003254.
- Wéber A., Vignat J., Shah R., Morgan E., Laversanne M., Nagy P., et al. Global burden of bladder cancer mortality in 2020 and 2040 according to GLOBOCAN estimates. *World J Urol*. 2024;42:237; doi: 10.1007/s00345-024-04949-8.
- Mostafa M.H., Sheweita S.A., O'Connor P.J. Relationship between Schistosomiasis and Bladder Cancer. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12:97–111; doi: 10.1128/cmr.12.1.97.
- Burger M., Catto J.W.F., Dalbagni G., Grossman H.B., Herr H., Karakiewicz P., et al. Epidemiology and Risk Factors of Urothelial Bladder Cancer. *European Urology*. 2013;63:234–41; doi: 10.1016/j.eururo.2012.07.033.
- Carlo M.I., Ravichandran V., Srinivasan P., Bandlamudi C., Kemel Y., Ceyhan-Birsoy O., et al. Cancer Susceptibility Mutations in Patients With Urothelial Malignancies. *J Clin Oncol*. 2020;38:406–14; doi: 10.1200/JCO.19.01395.
- Wolff E.M., Liang G., Jones P.A. Mechanisms of Disease: genetic and epigenetic alterations that drive bladder cancer. *Nat Rev Urol*. 2005;2:502–10; doi: 10.1038/ncpuro0318.
- Bedore S., Aguilar K., Lokeshwar V.B. Natural history of bladder cancer: Validation of the multiple pathway model in multi-omics era. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2025;43:88–93; doi: 10.1016/j.urolonc.2024.10.003.
- Sjödahl G., Jackson C.L., Bartlett J.M., Siemens D.R., Berman D.M. Molecular profiling in muscle-invasive bladder cancer: more than the sum of its parts. *The Journal of Pathology*. 2019;247:563–73; doi: 10.1002/path.5230.
- Meeks J.J., Al-Ahmadie H., Faltas B.M., Taylor J.A., Flaig T.W., DeGraff D.J., et al. Genomic heterogeneity in bladder cancer: challenges and possible solutions to improve outcomes. *Nat Rev Urol*. 2020;17:259–70; doi: 10.1038/s41585-020-0304-1.
- Lindskrog S.V., Prip F., Lamy P., Taber A., Groeneveld C.S., Birkenkamp-Demtröder K., et al. An integrated multi-omics analysis identifies prognostic molecular subtypes

- of non-muscle-invasive bladder cancer. *Nat Commun.* 2021;12:2301; doi: 10.1038/s41467-021-22465-w.
13. Eagles N.J., Bach S.V., Tippiani M., Ravichandran P., Du Y., Miller R.A., et al. Integrating gene expression and imaging data across Visium capture areas with visiumStitched. 2024; doi: 10.1101/2024.08.08.607222.
14. Hedegaard J., Lamy P., Nordentoft I., Algaba F., Høyer S., Ulhøi B.P., et al. Comprehensive Transcriptional Analysis of Early-Stage Urothelial Carcinoma. *Cancer Cell.* 2016;30:27–42; doi: 10.1016/j.ccell.2016.05.004.
15. Wang Z., Zhou Z., Yang S., Li Z., Shi R., Wang R., et al. Pathway-based cancer transcriptome deciphers a high-resolution intrinsic heterogeneity within bladder cancer classification. *J Transl Med.* 2025;23:666; doi: 10.1186/s12967-025-06682-1.
16. Kerzeli I.K., Lord M., Doroszko M., Elgendy R., Chourlia A., Stepanek I., et al. Single-cell RNAseq and longitudinal proteomic analysis of a novel semi-spontaneous urothelial cancer model reveals tumor cell heterogeneity and pretumoral urine protein alterations. *PLOS ONE.* 2021;16:e0253178; doi: 10.1371/journal.pone.0253178.
17. Shi Z.-D., Sun Z., Zhu Z.-B., Liu X., Chen J.-Z., Hao L., et al. Integrated single-cell and spatial transcriptomic profiling reveals higher intratumour heterogeneity and epithelial-fibroblast interactions in recurrent bladder cancer. *Clinical and Translational Medicine.* 2023;13:e1338; doi: 10.1002/ctm2.1338.
18. Janesick A., Shelansky R., Gottscho A.D., Wagner F., Williams S.R., Rouault M., et al. High resolution mapping of the tumor microenvironment using integrated single-cell, spatial and in situ analysis. *Nat Commun.* 2023;14:8353; doi: 10.1038/s41467-023-43458-x.
19. Jin X., Wang Q., Luo F., Pan J., Lu T., Zhao Y., et al. Single-cell transcriptomic analysis of tumor heterogeneity and intercellular networks in human urothelial carcinoma. *Chinese Medical Journal.* 2023;136:690; doi: 10.1097/CM9.0000000000002573.
20. Biswas A., Sahoo S., Riedlinger G.M., Ghodoussipour S., Jolly M.K., De S. Transcriptional state dynamics lead to heterogeneity and adaptive tumor evolution in urothelial bladder carcinoma. *Commun Biol.* 2023;6:1292; doi: 10.1038/s42003-023-05668-3.
21. Mahajan D., Kancharla S., Kolli P., Sharma A.K., Singh S., Kumar S., et al. Role of Fibulins in Embryonic Stage Development and Their Involvement in Various Diseases. *Biomolecules.* 2021;11:685; doi: 10.3390/biom11050685.
22. Greig A.V.H., Linge C., Cambrey A., Burnstock G. Purinergic receptors are part of a signaling system for keratinocyte proliferation, differentiation, and apoptosis in human fetal epidermis. *J Invest Dermatol.* 2003;121:1145–9; doi: 10.1046/j.1523-1747.2003.12567.x.
23. Tantiwetrueangdet A., Panvichian R., Sornmayura P., Leelaudomlipi S., Macoska J.A. PCNA-associated factor (KIAA0101/PCLAF) overexpression and gene copy number alterations in hepatocellular carcinoma tissues. *BMC Cancer.* 2021;21:295; doi: 10.1186/s12885-021-07994-3.
24. Emanuele M.J., Ciccia A., Elia A.E.H., Elledge S.J. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-associated KIAA0101/PAF15 protein is a cell cycle-regulated anaphase-promoting complex/cyclosome substrate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108:9845–50; doi: 10.1073/pnas.1106136108.
25. van Vugt M.A.T.M., Medema R.H. Getting in and out of mitosis with Polo-like kinase-1. *Oncogene.* 2005;24:2844–59; doi: 10.1038/sj.onc.1208617.
26. Arthur J.S.C., Ley S.C. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2013;13:679–92; doi: 10.1038/nri3495.
27. Gomes I.M., Maia C.J., Santos C.R. STEAP proteins: from structure to applications in cancer therapy. *Mol Cancer Res.* 2012;10:573–87; doi: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0281.
28. Berto A., Doye V. Regulation of Cenp-F localization to nuclear pores and kinetochores. *Cell Cycle.* 2018;17:2122–33; doi: 10.1080/15384101.2018.1520569.
29. Warrick J.I., Al-Ahmadie H., Berman D.M., Black P.C., Flaig T.W., Höglund M., et al. International Society of Urological Pathology Consensus Conference on Current Issues in Bladder Cancer. Working Group 4: Molecular Subtypes of Bladder Cancer-Principles of Classification and Emerging Clinical Utility. *Am J Surg Pathol.* 2024;48:e32–42; doi: 10.1097/PAS.0000000000002053.
30. Lenis A.T., Lec P.M., Chamie K., MSHS M. Bladder Cancer: A Review. *JAMA.* 2020;324:1980–91; doi: 10.1001/jama.2020.17598.
31. Scholtes M.P., de Jong F.C., Zuiverloon T.C.M., Theodorescu D. Role of Bladder Cancer Metabolic Reprogramming in the Effectiveness of Immunotherapy. *Cancers (Basel).* 2021;13:288; doi: 10.3390/cancers13020288.
32. Ma Z., Li X., Mao Y., Wei C., Huang Z., Li G., et al. Interferon-dependent SLC14A1+ cancer-associated fibroblasts promote cancer stemness via WNT5A in bladder cancer. *Cancer Cell.* 2022;40:1550-1565.e7; doi: 10.1016/j.ccell.2022.11.005.
33. Lawrence S.S., Yamashita H., Shuman L., Raman J.D., Joshi M., Yochum G.S., et al. Interferon- γ /Janus Kinase 1/STAT1 Signaling Represses Forkhead Box A1 and Drives a Basal Transcriptional State in Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Am J Pathol.* 2025;195:1013–30; doi: 10.1016/j.ajpath.2025.01.013.
34. Cheon H., Borden E.C., Stark G.R. Interferons and their stimulated genes in the tumor microenvironment. *Semin*

Oncol. 2014;41:156–73; doi: 10.1053/j.seminocol.2014.02.002.

35. Hodgson A., Xu B., Satkunasivam R., Downes M.R. Tumour front inflammation and necrosis are independent prognostic predictors in high-grade urothelial carcinoma of the bladder. *J Clin Pathol.* 2018;71:154–60; doi: 10.1136/jclinpath-2017-204562.

36. Miyake M., Hori S., Morizawa Y., Tatsumi Y., Toritsuka M., Ohnishi S., et al. Collagen type IV alpha 1 (COL4A1) and collagen type XIII alpha 1 (COL13A1) produced in cancer cells promote tumor budding at the invasion front in human urothelial carcinoma of the bladder. *Oncotarget.* 2017;8:36099–114; doi: 10.18632/oncotarget.16432.

37. Kawamura K., Miyai K., Asakuma J., Sato K., Matsukuma S., Tsuda H., et al. Tumor budding in upper urinary tract urothelial carcinoma: a putative prognostic factor for extraurothelial recurrence and overall survival. *Virchows Arch.* 2021;479:45–55; doi: 10.1007/s00428-020-02989-0.

38. Nugteren S., Samsom J.N. Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) in mucosal tissues: Protects against inflammation, but promotes cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2021;59:22–35; doi: 10.1016/j.cytogfr.2021.01.005.

39. Mora-Santos M., Limón-Mortés M.C., Giráldez S., Herrero-Ruiz J., Sáez C., Japón M.Á., et al. Glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) negatively regulates PTTG1/human securin protein stability, and GSK3beta inactivation correlates with securin accumulation in breast tumors. *J Biol Chem.* 2011;286:30047–56; doi: 10.1074/jbc.M111.232330.

40. Combes G., Alharbi I., Braga L.G., Elowe S. Playing polo during mitosis: PLK1 takes the lead. *Oncogene.* 2017;36:4819–27; doi: 10.1038/onc.2017.113.

41. Lv X.-F., Hong H.-Q., Liu L., Cui S.-H., Ren C.-C., Li H.-Y., et al. RNAi-mediated downregulation of asparaginase-like protein 1 inhibits growth and promotes apoptosis of human cervical cancer line SiHa. *Mol Med Rep.* 2018;18:931–7; doi: 10.3892/mmr.2018.9018.

42. Hornung V., Hartmann R., Ablasser A., Hopfner K.-P. OAS proteins and cGAS: unifying concepts in sensing and responding to cytosolic nucleic acids. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:521–8; doi: 10.1038/nri3719.

43. Edelstein L.C., Collins T. The SCAN domain family of zinc finger transcription factors. *Gene.* 2005;359:1–17; doi: 10.1016/j.gene.2005.06.022.

Andrea Janegova, MD, PhD.

Institute of Pathological anatomy
Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava
Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
andrea.janegova@fmed.uniba.sk

Limitácie neinvazívneho prenatalného testovania – falošná pozitivita

Michaela Hýblová, Gabriel Minárik

Trisomy test s.r.o., Nitra, Slovensko

Neinvazívne prenatalné testovanie (NIPT) predstavuje modernú skriningovú metódu založenú na analýze voľnej cirkulujúcej DNA placentárneho pôvodu v krvi tehotnej ženy. Vďaka vysokej citlivosti a špecificite umožňuje spoľahlivú detekciu najčastejších fetálnych aneuploidií vrátane trizómií chromozómov 21, 18 a 13. Napriek veľmi dobrým diagnostickým parametrom sa v klinickej praxi stretávame aj s falošne pozitívnymi výsledkami, ktorých biologické príčiny sú dnes pomerne dobre známe. Najčastejšou príčinou je skrytý placentárny mozaicizmus, pri ktorom je chromozómová abnormalita prítomná v placente, zatiaľ čo karyotyp plodu zostáva normálny. Keďže analyzovaná DNA pochádza prevažne z buniek cytotrofoblastu, placentárne aberácie môžu viesť k pozitívnemu výsledku NIPT bez prítomnosti fetálnej abnormality. Medzi ďalšie biologické príčiny patria maternálny mozaicizmus alebo syndróm miznúceho dvojčaťa. V práci prezentujeme reprezentatívne kazuistiky z laboratórnej praxe dokumentujúce biologické pozadie falošne pozitívnych nálezov. Uvedené prípady poukazujú na význam správnej interpretácie výsledkov v kontexte ultrazvukových, klinických a genetických vyšetrení. NIPT predstavuje vysoko presnú skriningovú metódu, avšak pozitívny výsledok musí byť vždy potvrdený invazívnou prenatalnou diagnostikou. Poznanie biologických príčin falošnej positivity je nevyhnutné pre správne genetické poradenstvo a optimálny manažment gravidity.

Kľúčové slová: Neinvazívne prenatalné testovanie, NIPT, skrytý placentárny mozaicizmus, falošne pozitívny výsledok, voľná cirkulujúca fetálna DNA, prenatalný skrining

Limitations of non-invasive prenatal testing - false positivity

Summary

Non-invasive prenatal testing (NIPT) is an advanced screening method based on the analysis of cell-free placental DNA circulating in maternal blood. Owing to its high sensitivity and specificity, NIPT enables reliable detection of the most common fetal aneuploidies, including trisomies 21, 18, and 13. Despite its excellent diagnostic performance, false-positive results are occasionally encountered in clinical practice, and their biological causes are increasingly well understood. The most common cause is confined placental mosaicism, in which a chromosomal abnormality is present in the placenta while the fetal karyotype remains normal. Because the analyzed cell-free DNA originates predominantly from placental cytotrophoblast cells, placental chromosomal abnormalities may result in a positive NIPT finding without fetal involvement. Other biological causes include maternal mosaicism and vanishing twin syndrome. We present representative cases from routine laboratory practice illustrating the biological background of false-positive NIPT results. These cases highlight the importance of interpreting NIPT findings in conjunction with ultrasound, clinical, and genetic data. Although NIPT is a highly accurate screening tool, all positive findings require confirmation by invasive prenatal diagnostic procedures. Understanding the biological mechanisms underlying false-positive results is essential for appropriate genetic counseling and optimal pregnancy management.

Keywords: Non-invasive prenatal testing, NIPT, confined placental mosaicism, false-positive result, cell-free fetal DNA, prenatal screening

NewsLab, 2025, roč. 15 (2): 78-83

Úvod

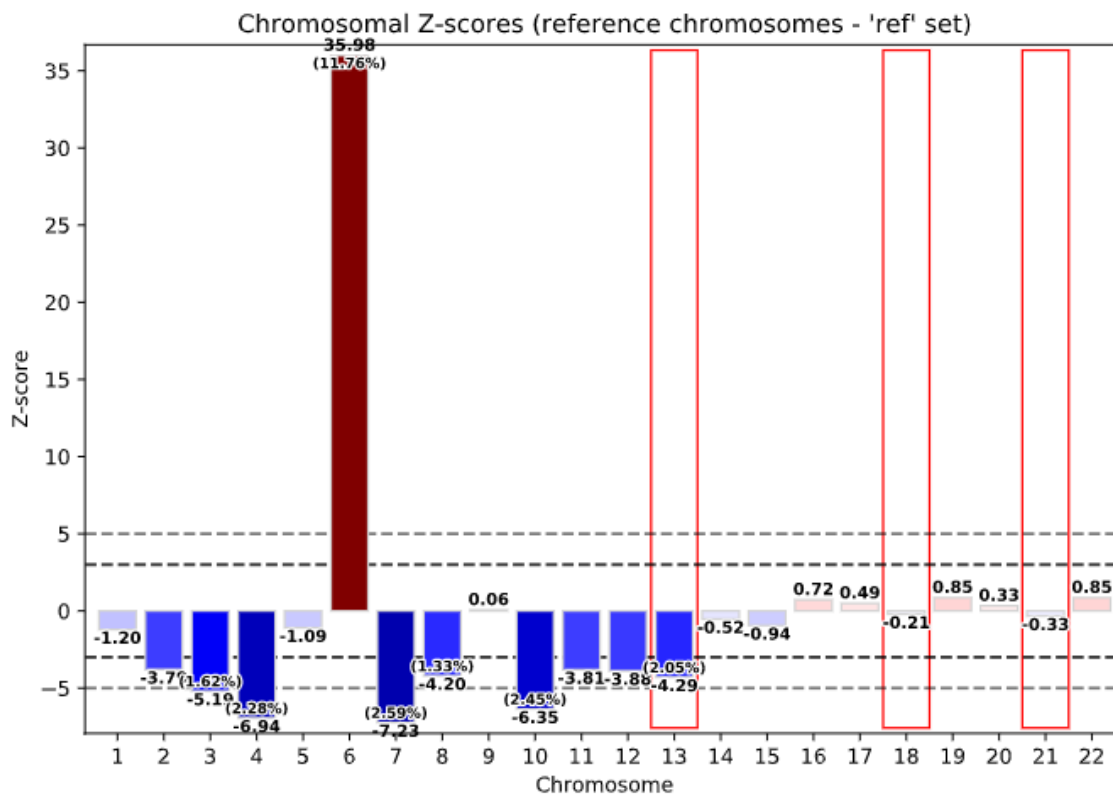
Neinvazívne prenatalné testovanie (NIPT) sa stalo široko rozšírenou pokročilou skriningovou metódou využívanou v prenatalnom skriningu na zisťovanie chromozómových abnormalít plodu, ktoré sú asociované so zmenami množstva kópií chromozómov alebo ich častí. Vychádza z analýzy voľnej cirkulujúcej „fetálnej“ DNA v krvi tehotnej (cffDNA – cell free fetal DNA). Dôležité je ale uvedomenie si stavu, že sa v skutočnosti nejedná o pôvodom fetálnu, ale o placentárnu DNA, konkrétne o DNA z buniek cytotrofoblastu placenty.

Štandardným cieľom NIPT je identifikovať predovšetkým relatívne časté a klinicky závažné trizómie, a to predovšetkým trizómiu chromozómu 21 (T21, spôsobuje Downov syndróm), trizómiu chromozómu 18 (T18, spôsobuje Edwardsov syndróm) a trizómiu chromozómu 13 (T13, spôsobuje Patauov syndróm). Okrem týchto častých trizómií umožňuje skrining aj detekciu iných, zriedkavých autozomálnych trizómií (RAT – rare autosomal trisomy), aneuploidie pohlavných chromozómov (SCA – sex chromosome aneuploidy) a pri dostatočnom rozlíšení a za splnenia špecifických, pre každú vzorku prakticky individuálnych podmienok a parametrov, aj subchromozomálnych aberácií, všeobecne známych ako

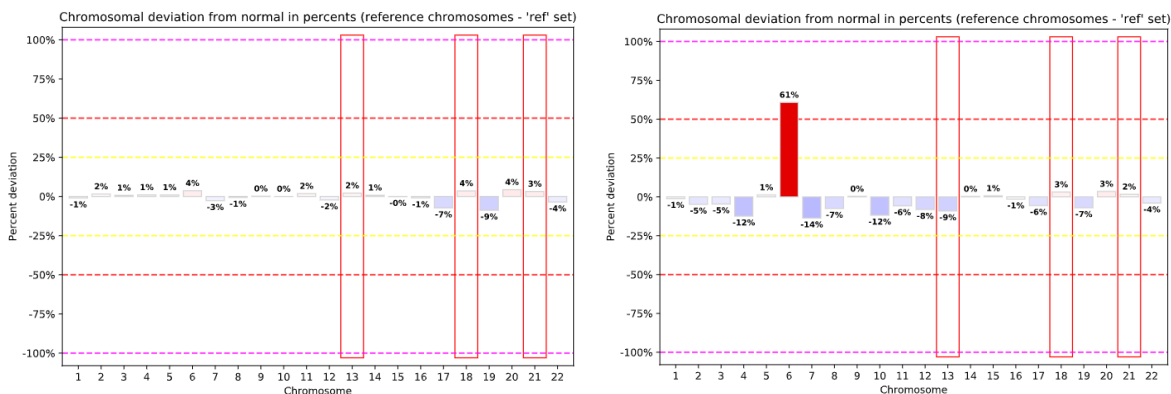
mikrodelécie a mikroduplikácie alebo tzv. varianty počtu kópií (CNV – copy number variant).

Na základe mnohých štúdií a v rôznych krajinách už dostupných skriningových programov zahrňujúcich NIPT bolo jednoznačne preukázané, že táto forma skriningu ponúka vysokú citlivosť a špecifickosť detekcie sledovaných chromozómových abnormalít a tiež, že existujú relatívne dobre popísané biologické a technické príčiny, ktoré sú zdrojom falošnej pozitivity (FP). Jej miera je však v porovnaní s inými formami skriningu veľmi nízka. V

rozsiahlych štúdiách sa sumarizovali štatistické parametre z NIPT organizovaného v rámci plošného skriningu tehotných v Holandsku a Belgicku, v ktorých boli analyzované kohorty s počtom vzoriek 73 239 a 153 575. Pre T21, T18 a T13 bola zistená citlivosť na úrovni 98 %, 91 % a 100 % (pri 239 prípadoch s vysokým rizikom pre T21, 49 pre T18 a 55 pre T13) v holandskej a 98,91 %, 97,47 % a 100 % (pri 494 prípadoch s vysokým rizikom pre T21, 115 pre T18 a 91 pre T13) v belgickej populácii. Kumulatívne pre všetky tieto tri najčastejšie trizómie bola zistená falošná pozitivita v oboch štúdiách na úrovni 0,06 %,



Obr. 1: Detekcia trizómie chromozómu 6 v rámci NIPT vyšetrenia.



Obr. 2: Detekcia trizómie chromozómu 6 s rôznou úrovňou mozaicizmu vo vzorkách z placenty; A – 0%, B – 61%, 72%, D – 83%.

príčom v najväčšej miere boli medzi falošnými pozitívitami zastúpené prípady s vysokým rizikom pre T13 1,2. V porovnateľnej miere k celkovej falošnej pozitívite NIPT prispieva detekcia SCA a mierne vyššou mierou aj RAT, ak sú súčasťou použitého testu z kategórie NIPT 3.

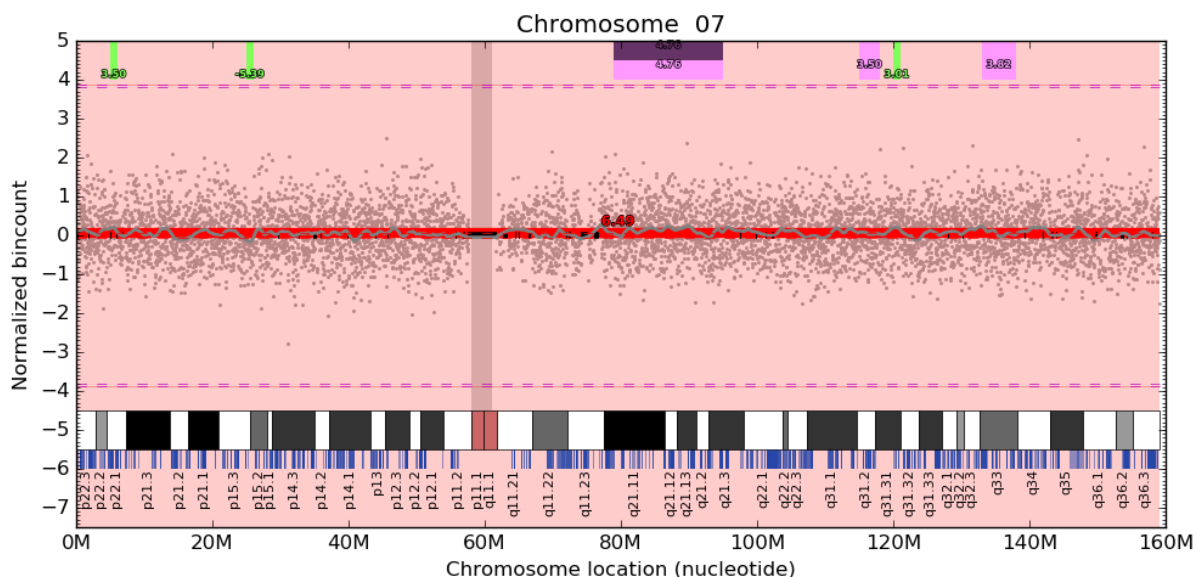
Vo všetkých prípadoch to súvisí s rôznymi biologickými fenoménmi, medzi ktorými je najviac zastúpený skrytý placentárny mozaicizmus, v menšej miere sú zastúpené maternálny mozaicizmus alebo syndróm miznúceho dvojčaťa. V tomto kontexte FP netreba vnímať ako niečo principiálne zlé, je absolútne prirodzene očakávateľná (v skutočnosti nepredstavuje ani z klinického pohľadu žiadny postrach, na rozdiel od falošnej negativity), ale treba na ňu nahliadať ako na každý iný zriedkavý biologický fenomén, ktorý má svoje príčiny a potenciálne aj následky (v

kontexte NIPT spojené s klinickým dosahom na prebiehajúce tehotenstvo alebo vývoj plodu).

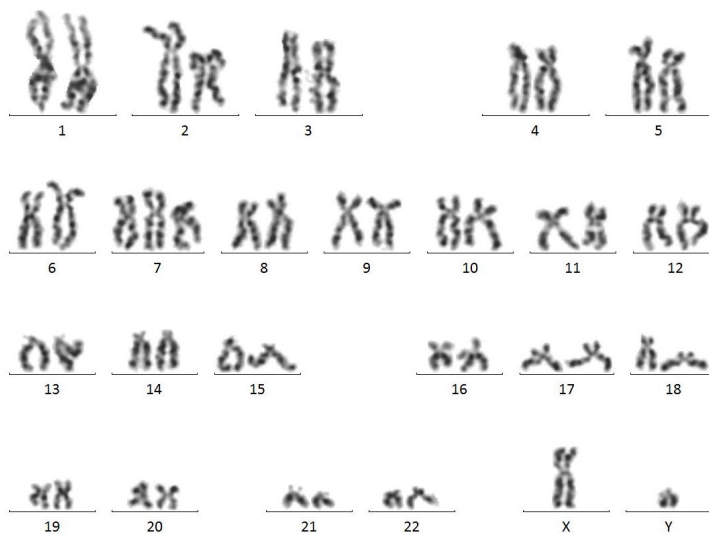
Reprezentatívne prípady z laboratórnej praxe Trisomy test laboratórií a v nadväznosti na vyššie uvedené biologické príčiny FP ilustrujeme na konkrétnych kazuistikách.

Skrytý placentárny mozaicizmus (CPM – confined placental mosaicism)

Skrytý placentárny mozaicizmus je definovaný ako prítomnosť chromozómovej abnormality v placente, ale nie v plode. Tento stav sa potvrdí, keď cytogenetická analýza vzorky placenty alebo choriových klkov (CVS) preukáže prítomnosť bunkových línií s normálnym a abnormálnym karyotypom, ale následná analýza buniek



Obr. 3: Detekcia trizómie chromozómu 7 v NIPT analýze.



Obr. 4: Detekcia trizómie chromozómu 7 v cytogenetickej analýze získanej amniocentézou.

plodovej vody alebo fetálneho tkaniva je normálna. Keďže NIPT v skutočnosti analyzuje placentárnu DNA, abnormality obmedzené na placentu môžu viesť k falošne pozitívnym výsledkom.

Kazuistika

U 24-ročnej tehotnej sme v 14. týždni gravidity detegovali vysoké riziko trizómie chromozómu 6 (T6) na úrovni zodpovedajúcej očakávaniu reálnej detekcie (obr. 1) podľa vo vzorke stanovenej fetálnej frakcie (fetálna frakcia predstavuje podiel fetálnej DNA na celkovej cirkulujúcej DNA získanej z plazmy tehotnej a slúži ako dôležitý parameter pri hodnotení pôvodu a prípadnej úrovni mozaicizmu detegovanej aberácie). Biochemický skrining bol negatívny. V anamnéze figuroval polyhydramnion a dilatácia dutého systému plodu. Diagnostické vyšetrenie z plodovej vody pomocou stanovenia karyotypu a FISH nepotvrdil T6 u plodu. Na základe týchto voči Trisomy test výsledkom diskordantným výsledkom prenatalných analýz bolo po pôrode realizované vyšetrenie vzoriek placenty. Analyzovaných bolo celkovo 12 vzoriek, po 6 z maternálnej a fetálnej strany placenty, reprezentujúcej jej rôzne časti a vrstvy, pričom bola preukázaná prítomnosť T6 v rozsahu 0% - 83% (obr. 2). To znamená, že výsledok NIPT nebol v skutočnosti FP, ale reprezentoval reálny stav chromozómovej abnormality v placente, ktorá je zdrojom cfDNA a vyšetřovaná v rámci NIPT.

Syndróm miznúceho dvojčata (VTS – vanishing twin syndrome)

Syndróm miznúceho dvojčata predstavuje situáciu, kedy sa jeden plod vo viac plodovom tehotenstve prestane vyvíjať alebo odumrie v maternici a potom sa čiastočne alebo úplne resorbuje placentou alebo druhým plodom. V krvnom obehú matky môžeme potom zachytiť prítomnú zvyškovú DNA zo zaniknutého dvojčata, čo v prípade prítomnosti chromozómovej abnormality u odumretého plodu môže viesť k falošne pozitívnemu výsledku NIPT vo vzťahu k prežívajúcemu plodu, ktorý je bez tejto chromozómovej abnormality. Signál reprezentujúci abnormalitu by mal s pokračujúcim tehotenstvom a postupnou resorpciou odumretého plodu slabnúť až úplne vymiznúť, preto je namieste v takýchto prípadoch realizovať vyšetrenie NIPT opakovane a s odbermi s dostatočným časovým odstupom, aby bolo možné sledovať aj dynamiku signálu detegovanej aberácie a v ideálnom prípade ju korelovať aj s opakovaným ultrazvukovým vyšetrením tehotnej.

Kazuistika

U 41-ročnej tehotnej sme v 16. týždni u dvojplodovej gravidity s ultrazvukom potvrdeným VTS, identifikovali signál trizómie chromozómu 7 (T7) na úrovni 1,9% fetálnej frakcie (obr. 3) a tiež signál chromozómu Y, ktorý poukazoval na aspoň jeden plod mužského pohlavia v danom tehotenstve. Po opakovanom odbere došlo k strate

signálu T7 a výsledok analýzy zodpovedal plodu ženského pohlavia (s fetálnom frakciou 18,96%). Následne vykonaná amniocentéza a analýza získaných vzoriek detegovala po cytogenetickej analýze u jedného z plodov T7 s nálezom 47,XY,+7 (obr. 4), druhý plod bol 46,XX. V takomto prípade je T7 možné interpretovať ako jednoznačne patogénny nález vo vzťahu k odumretému plodu. To znamená, že výsledok NIPT nebol v skutočnosti FP, ale reprezentoval reálny stav chromozómovej abnormality v danom špecifickom prípade a v tomto tehotenstve v čase, kedy bola vzorka tehotnej odoberaná.

Chromozómové abnormality matky

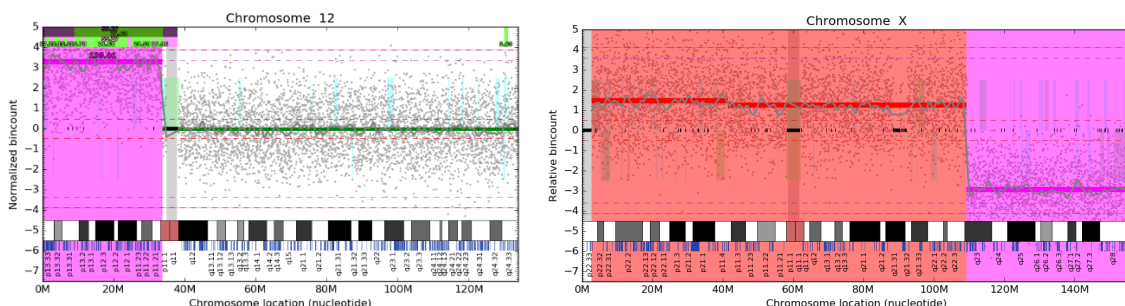
Chromozómové abnormality matky vrátane ich mozaikovej formy (zriedkavo aj takých, ktoré sú spôsobené premalígnym alebo malígnym ochorením matky) sú relatívne častou príčinou falošne pozitívnych výsledkov, ktoré dokážu ovplyvniť výsledok NIPT. V ideálnom prípade a nešpecificky je možné maternálny nález odlíšiť od fetálneho na základe rozdielu medzi úrovňou signálu detegovanej abnormality a v rámci NIPT zistenou fetálnou frakciou, pričom je signál tejto detegovanej abnormality významne vyšší.

Kazuistika

U 26-ročnej tehotnej v 17. týždni gravidity po IVF s darovanými oocytmi sme pomocou NIPT identifikovali dva rozsiahle nálezy – trizómiu 12p a deléciu Xq25-q28 (obr. 5), ktorých signál výrazne prevyšoval v NIPT zistenú fetálnu frakciu. Konfirmačné vyšetrenie z plodovej vody nepreukázalo žiadny nález u plodu. Cytogenetické vyšetrenie z periférnej krvi tehotnej preukázalo rozsiahlu balansovanú prestavbu 46,XX,der(X)t(X;12)(q23;p11.1). Trizómia krátkeho ramena chromozómu 12 nebola vyjadrená vo fenotype tehotnej, čo možno vysvetliť inaktíváciou tej kópie X, ktorá obsahovala translokované rameno 12p, no zároveň rozsiahla delécia na chromozóme X bola jasne prepajiteľná s neplodnosťou tehotnej.

Okultná malignita matky

Detekcia viacnásobných chromozómových abnormalít naprieč celým genómom môže indikovať premalignitu alebo malignitu matky. Okultná malignita matky počas tehotenstva je veľmi zriedkavá. Predpokladaná incidencia okultnej malignity stanovená prostredníctvom NIPT je približne 1:10 000 1,4, no v skutočnosti je až desaťnásobne vyššia. Citlivosť NIPT metód pre detekciu malignity je preto vo všeobecnosti nízka a preto nie sú vhodné na skrining onkologických ochorení, na druhej strane majú vysokú pozitívnu prediktívnu hodnotu, podľa niektorých štúdií je to takmer 70% v závislosti od použitej technológie 1,5. Na základe rozsiahlych populačných retrospektívnych štúdií sa ukázalo, že najčastejšie identifikovanými typmi rakoviny sú lymfómy, po ktorých nasleduje rakovina prsníka. Zatiaľ čo rakovina prsníka je hlavným typom rakoviny u žien v reprodukčnom veku, prevaha



Obr. 5: Detekcia trizómie 12p a delécie Xq25-q28.

hematologických diagnóz prostredníctvom NIPT, ako sú lymfómy a leukémie (predstavujú takmer polovicu všetkých identifikovaných prípadov rakoviny), je pravdepodobná vzhľadom na úzky kontakt krvných nádorových buniek s materským obehom a skutočnosť, že najväčšia časť plazmatickej DNA je hematologického pôvodu 6.

Kazuistika

U 29-ročnej tehotnej v 14. týždni tehotenstva sme opakovane pomocou NIPT identifikovali profil početných chromozómových abnormalít. Diagnostické vyšetrenie z plodovej vody bolo bez patologického nálezu (obr. 6). Pacientka bola ďalej suspenzarizovaná v hematologickej ambulancii. V roku 2024 bola evidovaná s diagnózou Hodgkinov lymfóm.

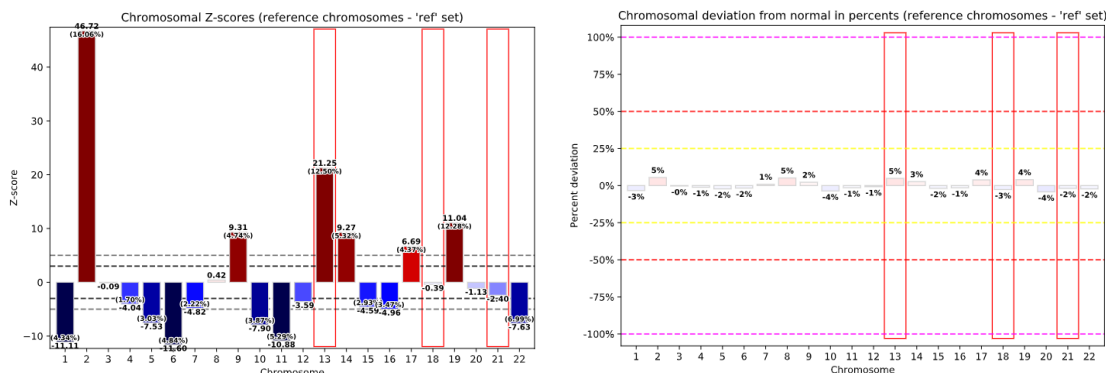
Predanalytické, analytické a technické chyby

Patria sem chyby pri odbere, transporte a spracovaní primárnych vzoriek krvi, zámena vzoriek v procese ich laboratórneho spracovania, ich kontaminácia alebo interpretácia výsledkov z nedostatočne vyplnených anamnestických údajov, ktoré môžu mať za následok nesprávne závery testu napr. chýbajúca informácia o transplantácii orgánu alebo transfúzii krvi a krvných

derivátov od mužského donora, informácia o tehotenstve po IVF (s darovaným oocytom alebo embryom). Falošne pozitívne výsledky môžu byť tiež výsledkom štatistickej náhody, keďže hranica pre pozitívny test je často určená na základe praxou stanoveného násobku štandardnej odchýlky napr. pri arteficiálne stanovenej hraničnej hodnote pre detekciu trizómii na úrovni + 3 to zodpovedá falošnej pozitívite pri 1 z 1 000 testovaných vzoriek.

Vplyv falošne pozitívnych výsledkov

Falošne pozitívne výsledky NIPT môžu mať významné psychologické a klinické dôsledky. Tehotné ženy, ktoré dostanú falošne pozitívny výsledok, môžu prežívať zbytočný stres a úzkosť. Okrem toho takýto výsledok často vedie k ďalším invazívnym zákrokom na tehotnej, ako je amniocentéza alebo odber choriových klkov (CVS), ktoré so sebou nesú vlastné riziká. V prípade nálezov ktoré majú maternálny pôvod môže pozitívny nález vyvolať sériu ďalších vyšetrení krvi, kostnej drene alebo dodatočne hematologické, biochemické ale aj zobrazovacie vyšetrenia, ktoré však môžu ozrejmiť už prebiehajúce ochorenie, ktoré nemusí mať v danom čase jasné klinické prejavy alebo je poddiagnostikované. Môže však pomôcť k rýchlejšej diagnóze, skrátiť cestu od diagnózy k liečbe alebo dokonca dokáže zachrániť život. V prípade maternálnych nálezov s možným prenosom na plod môže



Obr. 6: Okultná malignita; A – profil výsledku analýzy s detekciou mnohopočetných chromozómových abnormalít v NIPT po analýze DNA z plazmy tehotnej, B – štandardný profil získaný po analýze DNA z amniovej tekutiny.

mať zásadný dopad na každé ďalšie tehotenstvo. Zároveň môže byť v špecifických prípadoch potrebné do diagnostiky zahrnúť aj ďalších príbuzných v oboch rodičovských vetvách, aby sa doplnila rodinná anamnéza, čo je pri geneticky determinovaných ochoreniach dôležitou súčasťou zdravotnej starostlivosti prenositeľnej na ďalších členov danej rodiny.

Snaha o úplnú elimináciu FP nie je reálna a dnes takmer nesúvisí s kvalitou komerčných NIPT testov. Dá sa pracovať na zlepšení predanalytických techník, ktoré zlepšujú presnosť a kvalitu prípravy vzorky, dajú sa zlepšovať bioinformatické prístupy, ktoré zlepšujú predikciu a dokážu eliminovať falošné pozitívity vyplývajúce z technického šumu. V prípade biologických dôvodov na strane matky alebo placenty môže byť dobrým východiskom kvalitná predtestová a potestová konzultácia s odborníkom, najčastejšie klinickým

genetikom, ktorý vysvetľuje a navrhuje optimálny postup realizácie testov a inej poskytovanej zdravotnej starostlivosti. Vzdelávanie lekárov ale aj pacientov o možnosti falošne pozitívnych výsledkov a o povahe NIPT ako skriningového a nie diagnostického nástroja môže pomôcť zvládnuť očakávania.

Záver

Hoci je NIPT je účinným nástrojom prenatálneho skriningu, výskyt falošne pozitívnych výsledkov zdôrazňuje potrebu starostlivej interpretácie výsledkov a potvrdzujúceho diagnostického testovania. Pokrok v technológii a lepšie klinické postupy, ako aj dostupnosť detailných a komplexných anamnestických údajov budú naďalej znižovať výskyt falošne pozitívnych výsledkov, čím sa zvýši spotahivosť NIPT.

Literatúra:

1. van der Meij KRM, Siermans EA, Macville MVE, et al. TRIDENT-2: National Implementation of Genome-wide Non-invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands. *Am J Hum Genet.* 2019;105(6):1091-1101. doi:10.1016/j.ajhg.2019.10.005
2. Van Den Bogaert K, Lannoo L, Brison N, et al. Outcome of publicly funded nationwide first-tier noninvasive prenatal screening. *Genet Med.* 2021;23(6):1137-1142. doi:10.1038/s41436-021-01101-4
3. Liehr T. False-positives and false-negatives in non-invasive prenatal testing (NIPT): what can we learn from a meta-analysis on > 750,000 tests? *Mol Cytogenet.* 2022;15:36. doi:10.1186/s13039-022-00612-2
4. Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, et al. Noninvasive Prenatal Testing and Incidental Detection of Occult Maternal Malignancies. *JAMA.* 2015;314(2):162-169. doi:10.1001/jama.2015.7120
5. Heesterbeek CJ, Aukema SM, Galjaard RJH, et al. Noninvasive Prenatal Test Results Indicative of Maternal Malignancies: A Nationwide Genetic and Clinical Follow-Up Study. *J Clin Oncol.* 2022;40(22):2426-2435. doi:10.1200/JCO.21.02260
6. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin.* 2023;73(1):17-48. doi:10.3322/caac.21763

RNDr. Gabriel Minarik, PhD.

Trisomy test s.r.o.
Novozámocká 67, Nitra
Slovensko

www.newslab.sk
www.medirexgroupacademy.sk

