

Sonja Koivukoski, Pekka Ruusuvuori ja Leena Latonen

Virtuaalivärjäys mahdollistaa ympäristöstävällisempää histologiaa kemikaaleja vähentämällä

Tekoölymenetelmät ja patologisen diagnostiikan työnkulun digitalisoituminen ovat mahdollistaneet kehityksen, jossa histopatologisten prosessien osia voidaan korvata laskennallisesti. Yksi näistä vaiheista on kudosisvärjäys, jossa nykyään käytetään suuria määriä haitallisia kemikaaleja ja vettä. Tekoölyyn pohjautuvien kudosisvärjäysten kehittyminen avaa tulevaisuudessa mahdollisuuksia sairauksien diagnosointiin ja niiden ennusteen määrittämiseen aiempaa ympäristöstävällisemmin ja nopeammin.

Kudosoppi eli histologia on määritelty terminä jo vuonna 1819, ja mikroskopia- ja värjäystekniikoiden kehittyessä siitä on tullut tautiluokituksen peruspilari (1). Näytelasille fiksoitu eli kiinnitetty kudosisnäyte on silmälle lähes väritön, joten sen näkyvyyttä parannetaan värjäämällä. Niin sanotut perusvärjäykset tuovat kudoksen yleisen rakenteen eli morfologian esiin. Vaikka hematoksyliini-eosiini (HE) -värjäys on kuvattu ensimmäisen kerran lähes 150 vuotta sitten, se on vieläkin ylivoimaisesti käytetyin värjäys (1). Sen avulla nähdään kudosten rakenne aina solunsisäisiin yksityiskohtiin asti, ja erityisesti tumat erottuvat siinä hyvin (2).

Erikoisvärjäykset ja niiden ongelmat

Kudosten erityisominaisuuksiin perustuvia piirteitä tuodaan esiin erikoisvärjäyksillä, joita on kymmeniä. Erikoisvärjäykset perustuvat tiettyjen kudoserakenteiden spesifisiin kemiallisiin ominaisuuksiin, ja niihin kuuluvat esimerkiksi sidekudosta korostavat van Gieson- ja Massonin trikromi (MTC) -värjäykset, hiilihydraatteja värjäävät perjodihappo-Schiff (PAS) ja alciansini (Alcian Blue) -PAS (ABPAS) sekä bakteereja värjäävä gramvärjäys (3). Lisäksi vasta-aineisiin perustuvat eli immunohistokemialliset (IHC)

biomarkkerivärjäykset ovat yleisiä. Niiden avulla voidaan tunnistaa yksittäisiä proteiineja kuten rintasyövän estrogeenireseptori (ER), progesteronireseptori (PR) ja HER2 (4). Histologisia värjäyksiä tehdään sadoista jopa 2,2 miljoonaan vuosittain laboratoriota kohden, sijainnin ja alueen väkiluvun mukaan (5). Pohjoismaissa histologisten näytteiden määrä ylittää jopa 500 000 näytteeseen miljoonaa asukasta kohden. On yleistä, että kustakin näytteestä tehdään sekä perusvärjäys että erikoisvärjäyksiä tautiepäilyjen mukaan (6).

Histologisten värjäysten suuri määrä tarkoittaa mittavaa värjäykseen käytettävien kemikaalien kulutusta. Koska osa näistä kemikaaleista on ympäristölle erittäin haitallisia tai ihmisille myrkyllisiä, on muun muassa kemikaalituotantoon osallistuvilla ja värjäyksiä tekevillä työntekijöillä riski altistua aineille, jotka voivat olla akuutisti toksisia esimerkiksi iho- tai hengitystiealtistuksen kautta, aiheuttaa perimävaurioita tai suurentaa syöpäriskiä pitkäaikaisaltistuksen kautta (7). Haitallisten kemikaalien lisäksi histologinen värjäys kuluttaa runsaasti vettä, mikä muodostuu ongelmalliseksi etenkin niissä ympäristöissä, joissa veden saatavuus on niukkaa tai säädeltyä.

Kemialliset värjäykset ovat usein peruuttamattomia, eli jokainen värjäys kuluttaa yhden

näytelasin verran näytettä (8). Vähäisten ja hankalasti otettavien näytteiden tapauksessa tämä muodostuu haasteeksi. Lisäksi kun kyseessä ovat kiinteät, kolmiulotteiset kudokset, peräkkäisiä laseja eri värjäyksissä käyttämällä ei enää tarkastella kudoksen samoja soluja ja hienorakenteita, mikä hukkaa mahdollisuuden yksisolutason tarkasteluun (8).

Patologian diagnostiikan työnkulku digitalisoituu laajalti, ja tällöin näytteiden histologinen tarkastelu tehdään skannatun näytelasin digitaalisesta suuriresoluutioisesta kuvasta monitorilta (9). Digitaalisen ja virtuaalisen mikroskopian yleistyessä on herännyt kysymys, voisiko myös muita histologian vaiheita korvata digitaalisin prosessein. Yksi näistä vaiheista on kemiallinen värjäys, jonka korvaaminen tekoälyn avulla tehtävällä virtuaalivärjäyksellä on viime aikoina herättänyt mielenkiintoa.

Kemikaalit

Histologisissa värjäyksissä käytetyistä kemikaaleista osa, kuten puskurit, ovat täysin vaarattomia ihmisille sekä ympäristölle, mutta yli 60 %:lla käytetyistä kemikaaleista on ainakin yksi yhdeksästä CLP-haitallisuusmerkinnästä (Classification, labelling and packaging of chemical substances and mixtures; Euroopan parlamentin asetus 1272/2008 kemikaalien luokituksesta, merkinnöistä ja pakkaamisesta) (**TAULUKKO**). Useat näistä kemikaaleista ovat haitallisia ympäristölle, muun muassa vesieliöstölle, etenkin pitkäaikaisena altistuksena. Lisäksi käytetyissä aineissa on useita myrkyllisiä, pysyviä ja sikiölle haitallisia aineita (7).

Hapoista esimerkkejä ovat etikkahappo, perjodihappo ja fosfovolframihappo, jotka ovat voimakkaasti ihoa syövyttäviä ja silmiä vaurioittavia (7). Paljon histologiassa käytetyt formaldehydi ja metanoli ovat välittömästi myrkyllisiä nieltynä tai iholle joutuessaan silmiä ja keskushermostoa vahingoittavia (7). Formaldehydi on myös tappavaa hengitettynä ja saattaa aiheuttaa perimävaurioita ja syöpää (7). Varsinaisista värjäävistä aineista löytyy useita eri haitallisuusasteita, mukaan lukien ihmiselle täysin vaarattomia aineita, kuten ruuanlaittoon soveltuva sahrami, sekä muun muassa perimä-

vaurioita ja syöpää aiheuttava kristallivioletti. Hopeavärjäyksissä värjäävänä aineena käytetty hopeanitraatti on erittäin haitallinen vesieliöille (7,10). Tämän lisäksi retikkeli- ja orseiniivärjäyksissä käytetty kaliumpermanganaatti on syövyttävää ja sikiölle haitallista (7,10). Sidekudosvärjäyksissä (MTC, van Giesonin värjäykset) käytettävä pikriinihappo on paitsi ihmisille välittömästi myrkyllinen myös erittäin räjähdeterkettä ja vaatii siksi erittäin huolellista käsittelyä ja varastointia etenkin luottamattomana (11).

Erikoisvärjäyksiä käyttäessä vaihtelee suuressi, ja jokaisessa värjäyksessä käytetään eri kemikaaleja. EU:n alueella kemikaalien käyttöä valvoo Euroopan kemikaalivirasto, joka pitää yllä tietokantaa kemikaaleista, niiden ominaisuuksista ja haitallisuuksista (ECHA, <https://echa.europa.eu/>) sekä tarjoaa ohjeita turvalliseen käyttöön. Syöpää aiheuttaville aineille altistuvat työntekijät rekisteröidään Työterveyslaitoksen ylläpitämään lakisääteiseen altistumisen ja seurannan ASA-rekisteriin (452/2020), johon histologiassa paljon käytetyt DAB-kromogeeni (3,3'-diaminobentsidiini), kristallivioletti sekä formaldehydi kuuluvat. Muista aineista, esimerkiksi pitkäaikaisaltistumisen myötä hengitysteitä vaurioittavista aineista ei ole lakisääteistä rekisteriä, joka velvoittaisi työnantajan pitämään kirjaa altistuneista henkilöistä. Osalle reagensseista on kehitetty vähemmän haitallisia vaihtoehtoja, esimerkiksi AEC (3-amino-9-etyylikarbatsoli) DAB-kromogeenille, vaikka DAB onkin silti yleisimmin käytetty muiden menetelmien valoherkkyyden vuoksi (12).

Suomessa ihmisille tai ympäristölle haitallinen kemikaalijäte kerätään ja kuljetetaan vaarallisten aineiden kuljetuslainsäädännön (VAK) mukaisesti hävitettäväksi siihen soveltuvissa jätekeskuksissa (7). Tämän lisäksi tietyt aineet vaativat säilytykseen erikoisjärjestelyjä, kuten paloturvallisuus- tai liuotinkaappeja (13). Euroopan komission uuden delegoidun asetuksen (2023/707) mukaan CLP-asetuksia muokataan lähivuosina siten, että hormonitoiminnan häiriöitä ihmisissä ja ympäristössä aiheuttavat, ympäristöön, eliöihin ja ihmisiin kertyvät (PBT; persistent, bioaccumulative, toxic) sekä vesivarojen pitkäkestoista hajakuormitusta (PMT;

TAULUKKO. Esimerkkejä erikoisvärjäyksissä käytettävistä haitallisista kemikaaleista.

Kemikaali	Värjäysmenetelmä	Tehtävä värjäyksessä	Haitallisuus
DAB	IHC-värjäykset	Värjävä aine	1) 2)
Formaldehydi	Hopeavärjäykset, MTC	Kiinnitysaine (MTC), pelkistin (hopeavärjäykset)	3) 4)
Fosfovolframihappo	MTC, Movatin pentakromi	Lisää selektiivisyyttä	5)
Hopeanitraatti	Hopeavärjäykset	Värjävä aine	6)
Kaliumpermanganaatti	Retikkeli, orseiini	Hapetin	
Kristallivioletti	Gramvärjäys	Värjävä aine	
Metanoli	Gramvärjäys	Kiinnitysaine	7)
Perjodihappo	PAS, ABPAS, PAS-D, PAS-M	Hiilihydraatit	
Pikriinihappo	MTC, van Giesonin värjäykset, Sirius red, (gramvärjäys)	Kiinnitysaine (MTC), kollageeni	
Schiffin reagenssi	PAS, ABPAS, PAS-D, PAS-M	Värjävä aine	
Triton X100	IHC-värjäykset, Acid fast bacilli -värjäykset	Lisää läpäisevyyttä	

1) vakava terveysvaara, 2) terveysvaara, 3) välttämättä myrkyllinen, 4) syövyttävä, 5) vaarallinen vesiympäristölle, 6) hapettava, 7) syttyvä

ABPAS = alciansini (Alcian Blue) -PAS, IHC = immunohistokemia, MTC = Massonin trikromi, PAS = perjodihappo-Schiff, PAS-D = PAS-diastaasi, PAS-M = PAS-metenamiini

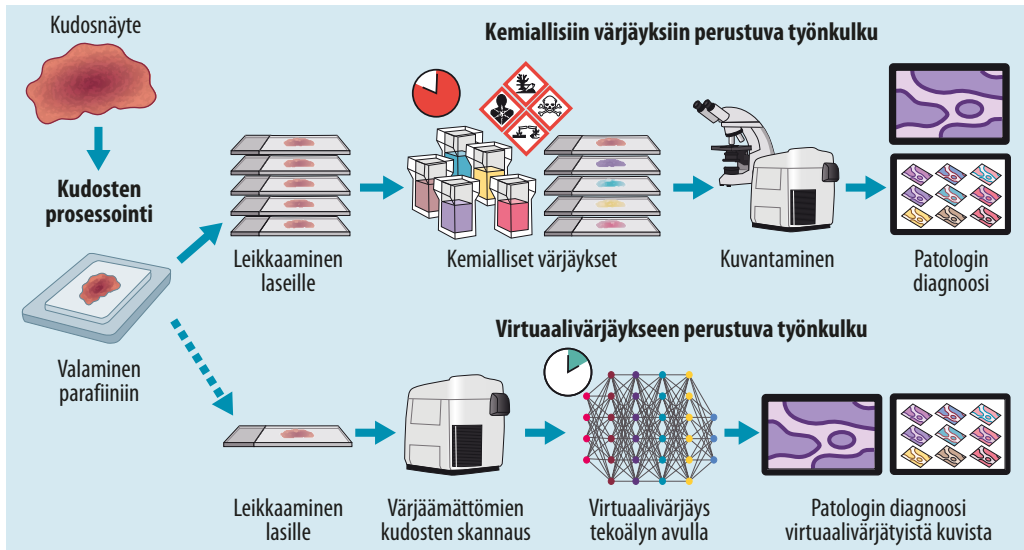
persistent, mobile, toxic) aiheuttavat aineet saavat uuden vaaraluokituksen. Oletettavissa on, että muitakin tiukennuksia seuraa, sillä muun muassa formaldehydin käyttöä on jo aiemmin yritetty rajoittaa. Virtuaalivärjäys tarjoaa osaltaan ratkaisuja haitallisten kemikaalien käytön vähentämiseen patologian laboratorioissa ja siten mahdollisuuden ympäristökuorman ja työperäisen kemikaalialtistuksen vähentämiseen.

Virtuaalivärjäys

Virtuaalivärjäyksessä on kyse kemiallisen värjäyksen korvaamisesta keinotekoisella värjäyksellä, joka tehdään tekoälyn avulla digitaalisesti käyttämällä pohjana esimerkiksi värjäämätön-

tä kudoksenäytettä. Nykyisin histopatologisesa työnlussa objektilasilla oleva kudoksenleike värjätään ensin kemiallisesti, minkä jälkeen sitä tarkastellaan joko mikroskoopilla tai leikkaskannerilla skannatusta kuvasta tietokoneen näytöltä. Virtuaalivärjäyksessä leike skannataan värjäämättömänä ja tarjotaan virtuaalivärjäysalgoritmillemme prosessoitavaksi, ja tuloksena saatua virtuaalivärjättyä kuvaa tarkastellaan monitorilta (**KUVA 1**).

Tekoälypohjainen virtuaalivärjäysmenetelmä perustuu kuvasta kuvaan -muunnokseen syviä hermoverkkoja käyttämällä. Virtuaalivärjäyksen kontekstissa tämä tarkoittaa käytännössä sitä, että tekoälyalgoritmia rakennettaessa sille on näytetty lukuisia värjäämättömien ja värjät-



KUVA 1. Kehitteillä olevan virtuaalivärjykseen perustuvan histopatologian periaate verrattuna nykyiseen, kemialliseen värjykseen perustuvaan työnkulkuun.

tyjen kudisleikkeiden vastinpareja. Opetusmateriaalin avulla algoritmi oppii muuntamaan värijäämättömän kuvan laskennallisesti kemiallista värjäystä vastaavaksi (8). Kuvasta kuvaan-muunnosta hyödynnetään jo klinikassa magneetti- ja tietokonetomografiakuvantamisessa FDA:n ja EMA:n hyväksyminä tuotteina (14,15), ja alustavat tulokset histologisistakin värjyksistä ovat lupaavia.

HE-värjykset ovat laajan käyttönsä vuoksi ensisijaisia virtuaalivärjäystutkimuksen kohteita. Virtuaalisen HE-värjyksen voidaan nykyisin sanoa olevan verrattavissa kemiallisesti HE-värjättyyn kudokseen rakenteiden tunnistettavuudessa. Toistaiseksi on julkaistu onnistuneita esimerkisovelluksia sekä prekliinisistä että kliinisistä aineistoista (16–18). Esimerkiksi eturauhassyöpäbiopsioiden virtuaalivärjyksessä rauhasrakenteet ovat tunnistettavissa ja sytologisten ominaisuuksien kuten tumien ja tumajyvien on raportoitu olevan pääosin läsnä (18).

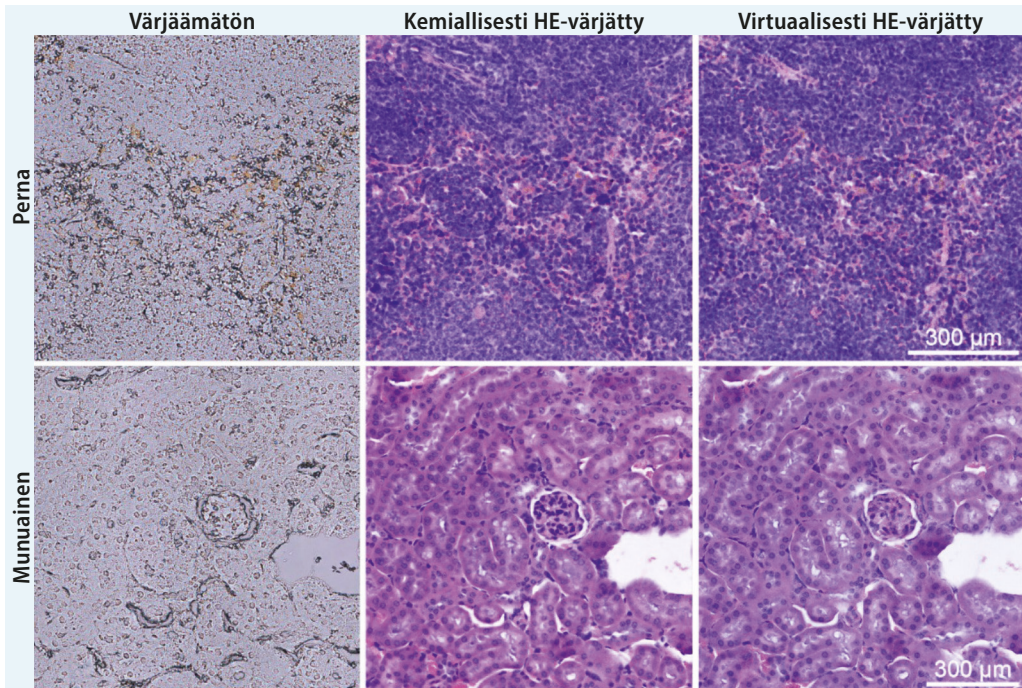
Ensimmäisissä soveltuvuuskoikeissa patologit ovat pystyneet tunnistamaan hyvän- ja pahanlaatuisen kudoksen virtuaalisesti HE-värjätystä eturauhassyöpäbiopsioista. Tämän lisäksi he päätyivät lähes aina samaan näytekohtaiseen diagnoosiin kuin kemiallisesti värjätystä HE-näytteistä. Algoritmissa on kuitenkin vielä kehitettävää, sillä esimerkiksi Gleasonin

luokituksessa oli vielä haasteita (18). Omalla, prekliinisten aineistojen avulla kehitetyllä algoritmillamme olemme osoittaneet virtuaalisen HE-värjyksen toimivan useissa eri kudoksissa kudoksen rakenteen ja histologiseen perustarakasteluun (KUVA 2) ja yltävän jopa tuman sisäisiin yksityiskohtiin (17).

Hiljattain on julkaistu tutkimuksia, joissa on testattu yhden kemiallisen värjyksen perusteella skannatusta kuvasta jonkin toisen värin korvaavan virtuaalivärjyksen tekemistä (8). Tällaisia väristä väriin -muunnoksia kehitetään etenkin ajatuksella, että HE-värjäystä pohjana käyttämällä voitaisiin tuottaa virtuaalisesti joko toinen kemiallinen värjäys tai jopa IHC-värjäys. Oli lähtökuvana sitten värijäämätön tai kemiallisesti värjätty leike, virtuaalivärjäys mahdollistaa pienemmän näytemäärän sekä kemikaali- ja vedenkulutuksen. Menetelmät ovat kuitenkin vielä kehitystasella, ja jokainen muunnostyyppi vaatii oman laskennallisen ratkaisunsa kehittämisen ja siihen myös suuren määrän opetuksen soveltuvaa dataa.

Virtuaalivärjyksen laskennallinen toteutus

Virtuaalivärjäys laskennallisena tehtävänä vastaa kuvasta kuvaan -muunnosta (19). Virtuaali-



KUVA 2. Esimerkki virtuaalisen HE-värjäyksen histologiasta verrattuna kemialliseen HE-värjäykseen. Värjäämättömänä kuvannettu histologinen leike (vasemmalla) on HE-värjätty joko kemiallisesti (keskellä) tai tekoölyalgoritmilla virtuaalisesti (oikealla). Esimerkkikuvissa esitetty aiemmin julkaistun tekoölyratkaisun tulos prekliinisen pernan ja munuaisen histologiasta (23).

värjäyksessä käytettävä muunnos opitaan generatiivisten hermoverkkomallien avulla opetusmateriaalista, jossa kohdekuvana toimii kemiallisesti värjätty kudisleikekuva, ja lähdekuvana käytetään värjäämättömän kudisleikkeen digitaalista kuvaa (8). Mallinnus voidaan tehdä joko ohjattuna oppimisena, jolloin oletuksena on lähde- ja kohdekuvien pikselikohtainen spatiaalinen vastaavuus, tai ohjaamattomana oppimisena, jolloin lähde- ja kohdekuvien välinen muunnos opitaan kuvien sisällöstä ilman oletusta pikselikohtaisesta vastaavuudesta (20).

Käytännössä kuvasta kuvaan -muunnoksissa kuvan tyylin siirto on osoitettu mahdolliseksi ilman spatiaalista vastaavuutta. Yleisimmin käytettyihin ohjaamattomiin menetelmiin kuuluu CycleGAN, joka oppii kahden generaattori- ja diskriminaattorimallin avulla luomaan todellista värjäystä vastaavan synteettisen kuvan (21). Histologisten leikkeiden tapauksessa tarkempiin tuloksiin on kuitenkin päästy ohjatuilla menetelmillä (16).

Ohjattujen menetelmien vaatima pikselita-

son spatiaalinen vastaavuus vaatii eri rotaatioissa olevien eri kudisleikkeiden kohdentamista, joka voidaan suorittaa laskennallisesti mutta on kuvien sisältämien muutosten sekä värjäämättömän ja värjätyn kudoksen erojen vuoksi tehtävänä melko vaativa (22,23). Käytännössä parhaat tulokset saavutetaan opettamalla algoritmit kuvilla, joissa samoista leikkeistä on sekä värjäämätön että kemiallisesti värjätty kuva (16).

Kohdentamisen jälkeen virtuaalivärjäyksen mallintamisessa voidaan hyödyntää ohjattuja tekoölymenetelmiä, kuten pix2pix-menetelmäperheen generatiivisia verkkoja. Mikäli kohdennettuja lähde- ja kohdekuvapareja on opetukseen riittävä määrä, voidaan ohjatulla oppimisella saavuttaa huomattavan tarkkoja mallinnuksia. Onnistumisen kannalta tärkeinä asioina voidaan tällöin pitää mahdollisimman pieniä fyysisiä muutoksia kudosten välillä ja onnistunutta kuvien kohdennusta (16,17).

Kuvasta kuvaan -muunnoksiin käytettävien tekoölymallien opettaminen suuriresoluutioi-

Ydinasiat

- ▶ Virtuaalisessa kudosisjärjelyssä korvataan kemiallinen kudosisjärjely tekoälyn avulla laskennallisesti.
- ▶ Virtuaalivärjyksellä on mahdollista vähentää haitallisten kemikaalien käyttöä ja säästää vettä.
- ▶ Virtuaalivärjyksellä voidaan teoriassa korvata useita kemiallisia värjäksiä samanaikaisesti.
- ▶ Virtuaalivärjely mahdollistaa ympäristöä säästävempiä sekä nopeampia diagnostisia ja prognostisia prosesseja tulevaisuudessa.

sen kudosisleikekuvadatan perusteella on laskennallisesti raskasta. Opetus tehdään muistin käytön vuoksi jakamalla kuva paloihin, joita voi opetusprosessissa olla miljoonia (17). Kuten yleisesti syviä hermoverkkomenetelmiä käyttävissä tekoälyjärjestelmissä, laskenta suoritetaan rinnakkaislaskentana grafiikkaprosessorien avulla. Käytännössä suurten opetusaineistojen hyödyntäminen edellyttää suurteholaskentaympäristöä.

Opetusvaiheen jälkeen itse muunnoksen suorittaminen tekoälymallilla on laskennallisesti huomattavasti kevyempi prosessi. Tämä tekee virtuaalivärjyksestä houkuttelevan teknologian, sillä opetusta varten suoritettava laskenta tarvitaan periaatteessa vain kerran järjestelmän toimintaa varten (8). Tutkimuksen varassa on selvittää, miten laajalti eri kudoksille ja skanneriympäristöille virtuaalivärjely on mahdollista toteuttaa luotettavasti.

Virtuaalivärjelyn hyöty ja haasteet kliinisessä histopatologiassa

Virtuaalivärjely on erityisen hyvin sovellettavissa nykyiseen histologian työnkulkuun, sillä näytteen prosessointi kudosisnäytteestä näyteläisille on samanlainen (KUVA 1) (8). Kuvantamiseen riittää parhaimmillaan tavallinen valomikroskopiaan perustuva laitteisto. Useimmat

nykyisistä leikeskannereista on kuitenkin optimoitu suuren kontrastin näytteille, eivätkä monet niistä suoraan sovellu nykyisiin virtuaalivärjelyprotokolleihin. Skannerien soveltuvuuden optimointi värjäämättömien kudosisleikkeiden kuvantamiseen on kuitenkin jo mahdollista olemassa olevilla, edullisilla tekniikoilla, joten mekin lisääntyessä tämä tuskin muodostuu pullonkaulaksi.

Muista kuin näkyvään valoon pohjaavista lähestymistavoista autofluoresenssiin perustuvat kuvantamismenetelmät ovat eniten käytettyjä kirjallisuudessa. Lisäksi muita erikoismikroskopiitekniikoita, kuten erilaisia fotoakustisia mikroskopian alatyyppisiä, on käytetty kudosisleikkeiden kuvantamiseen virtuaalivärjelyä varten (8). Näihin tekniikoihin on kliinisissä laboratorioissa huonompi valmius niiden vaatimien erikoismikroskooppien vuoksi.

Laskennallisia haasteita virtuaalivärjelyssä ovat leikkeiden raja-alueiden lisäksi muut opetusdatassa vähemmässä määrin esiintyvät kudosisrakenteet, kuten verisuonien endoteelisolujen tumat (17). Lisähaasteita opetusmateriaaliin tuo se, että kudoksen käsittely aiheuttaa myös muita muutoksia, kuten rypistymistä, repeämiä, paikallisia muutoksia rakenteessa ja jopa skaalan muutoksia tai kutistumista (24). Nykyisellään virtuaalivärjely toimii parhaiten leikkeillä, joista parafiini on poistettu (16). Tarkempien virtuaalivärjelyratkaisujen kehittäminen myös parafiinille leikkeille voisi säästää värjelyaineiden lisäksi myös parafiininpoistoon käytettyjä liuottimia kuten ksyleeniä ja etanolia.

Virtuaalivärjelyn mahdollinen hyöty on myös mahdollisuus eliminoida laboratorioiden ja erien väliset laatu- ja värierovaisuudet värjelyssä (8). Virtuaalivärjely myös mahdollistaa pienemmän fyysisen näyttemateriaalin arkistointitarpeen, kun näyteläisien määrä vähenee. Virtuaalivärjely voi jopa mahdollistaa vähemmän kehittyneiden maiden diagnostiikan tukemista ja siten terveyserojen vähentämistä.

Virtuaalivärjelyn mittavin hyöty laboratorioprosesseja ajatellen löytyy tulevaisuudessa hyvin todennäköisesti siitä, että värjäämättömän kudoksen kuvasta voidaan tehdä samanaikaisesti useita eri värjelyksiä virtuaalisesti.

Nykytulosten valossa vaikuttaa todennäköiseltä, että myös muita kemiallisia värjäyksiä HE-värjäyksen lisäksi voidaan tuottaa virtuaalisesti riittävän tarkkoina ainakin osaan patologian sovelluskohteista (8). Sen sijaan IHC-värjäysten osalta jää osoitettavaksi, miten kattavasti erilaisten antigeenien ilmentyminen on tulkittavissa kudoksen histologiasta tavalla, joka mahdollistaa tekoälylle diagnostisesti riittävän tarkan muunnoksen oppimisen. Lisäksi jääleikkeiden soveltuvuudessa virtuaalivärjäykseen on vielä tutkittavaa.

Lupaavista tuloksista huolimatta virtuaalivärjäysmenetelmien kehittäminen histopatologiaan on vasta alussa. Perustutkimuksen lisäksi hyvin toimivien algoritmien rakentaminen vaatii paljon laadukasta opetusdataa, jota ei löydy HE-lasien tapaan valmiina sairaaloiden arkistoista. Kuten muissakin digitaalisen patologian automaattisissa työkaluissa, jokainen sovellus on myös testattava erikseen soveltuvuudeltaan eri analyysitehtäviin.

SONJA KOIVUKOSKI, FM

Biolääketieteen yksikkö, Itä-Suomen yliopisto

PEKKA RUUSUVUORI, TKT, professori

Biolääketieteen laitos, Turun yliopisto

LEENA LATONEN, FT, dosentti, tutkimusjohtaja

Biolääketieteen yksikkö, Itä-Suomen yliopisto

VASTUUTOIMITTAJA

Tuomas Mirtti

Lopuksi

Mitä enemmän histopatologiaan soveltuvat virtuaalivärjäysmenetelmät kehittyvät, sitä suuremmat hyödyt tautidiagnostiikalle on mahdollista saavuttaa. Optimaalisesti toteutettuna virtuaalivärjäys voisi mahdollistaa tismalleen samojen solujen näkemisen useassa kontekstissa samanaikaisesti. Jos yhdestä värjäämättömästä kudosleikkeestä olisi mahdollista tehdä virtuaalisesti sekä HE-värjäys että tarvittavat kudoskohtaiset histokemialliset erikoisvärjäykset ja IHC-värjäykset, ja jos kudosleike olisi tämän kaiken jälkeen värjäämätön, sen voisi käyttää vielä muuhun tutkimukseen. Tämä mahdollistaisi esimerkiksi spatiaalisen transkriptomiikka-analyysin, jonka avulla voidaan jo määrittää esimerkiksi syöpäkasvainten heterogeenisuutta yhtä aikaa hoitovasteisiin korreloivien geenien ilmentymisprofiilien kanssa. Vielä on kuitenkin matkaa siihen, että virtuaaliset histologiset värjäykset ovat klinikan arkipäivää. ■

SIDONNAISUUDET

Sonja Koivukoski: Ei sidonnaisuuksia

Pekka Ruusuvoori: Apuraha (Fimlab Oy), luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Alma Talent Oy, Fimlab Oy), muut sidonnaisuudet (Quva Oy, Faron Oy, Terveystalo Oy, Pihlajalinna Oy)

Leena Latonen: Apuraha (Gilead Sciences Ltd), luottamustoimet (johtoryhmän jäsen, KYS Syövänhoitokeskus)

KIRJALLISUUTTA

1. Hussein I, Raad M, Safa R, ym. Once upon a microscopic slide: the story of histology. *J Cytol Histol* 2015. DOI:10.4172/2157-7099.1000377.
2. Chan JKC. The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *Int J Surg Pathol* 2014;22:12–32.
3. Ovalle WK, Nahirney PC. Staining methods and techniques. Kirjassa: *Netter's essential histology: with correlated histopathology*. Philadelphia, PA: Elsevier 2021, s. 507–8.
4. Kronqvist P, Heikkilä P. Rintasyöpä. Kirjassa: *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim 2021.
5. Buesa RJ. Productivity standards for histology laboratories. *Ann Diagn Pathol* 2010;14:107–24.
6. Karttunen T, Pääkkö P. *Patologia on muutakin kuin kasvindiagnostiikkaa*. Duodecim 2013;129:1089–96.
7. Substance infocard. Helsinki: European Chemicals Agency ECHA 2023. <https://echa.europa.eu/fi/substance-information>.
8. Bai B, Yang X, Li Y, ym. Deep learning-enabled virtual histological staining of biological samples. *Light Sci Appl* 2023;12:57.
9. Tolonen T, Nöpänkangas J, Isola J. Kliininen patologia virtuaalimikroskopian kynnyksellä. *Duodecim* 2015;131:1981–7.
10. Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. New York, NY: McGraw-Hill Book Company 1968.
11. Picric acid. Substance infocard. Helsinki European Chemicals Agency ECHA 2023. <https://echa.europa.eu/fi/substance-information/-/substanceinfo/100.001.696>.
12. Zhou J. *Histochemistry*. Berlin: De Gruyter 2017.
13. *Terveydenhuollon vaaralliset ja erityisjätteet*. Fortum. Espoo: Fortum Waste Solutions Oy 2023.
14. MRCAT Brain. Amsterdam: Philips 2023. www.philips.fi/healthcare/product/HCNMRF320/mrcat-brain-mr-rt-clinical-application.
15. *Automatic segmentation & contouring software*. Helsinki: MVision AI 2023. www.mvision.ai.
16. Koivukoski S, Khan U, Ruusuvoori P, ym. Unstained tissue imaging and virtual hematoxylin and eosin staining of histological whole slide images. *Lab Invest* 2023;103:100070.
17. Khan U, Koivukoski S, Valkonen M, ym. The effect of neural network architecture on virtual H&E staining: systematic assessment of histological feasibility. *Patterns* 2023;4:100725.
18. Rana A, Lowe A, Lithgow M, ym. Use of deep learning to develop and analyze computational hematoxylin and eosin staining of prostate core biopsy images for tumor diagnosis. *JAMA Netw Open* 20.5.2020. DOI:10.1001/jamanetworkopen.2020.5111.
19. Jose L, Liu S, Russo C, ym. Generative adversarial networks in digital pathology and histopathological image processing: a review. *J Pathol Inform* 2021;12:43.
20. Lin E. Comparative analysis of Pix2Pix and CycleGAN for image-to-image translation. *Highl Sci Eng Technol* 2023;39:915–25.
21. Salido J, Vallez N, González-López L, ym. Comparison of deep learning models for digital H&E staining from unpaired label-free multispectral microscopy images. *Comput Methods Programs Biomed* 2023;235:107528.
22. Weitz P, Valkonen M, Solorzano L, ym. A multi-stain breast cancer histological whole-slide-image data set from routine diagnostics. *Sci Data* 2023;10:562.
23. Honkamaa J, Khan U, Koivukoski S, ym. Deformation equivariant cross-modality image synthesis with paired non-aligned training data. *Med Image Anal* 2023;90:102940.
24. Chapman CM. Troubleshooting in the histology laboratory. *J Histotechnol* 2019;42:137–49.