

ZAKLJUČNO POROČILO

*o rezultatih internega raziskovalnega projekta UKC Maribor
za obdobje od 14. 2. 2020 do 13. 2. 2024*

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta:	IRP-2019/02-09	
Naslov projekta:	VZROKI ZA NEUSPEŠNO OPLODITEV JAJČNIH CELIC PO METODI ICSI IN VLOGA MUTACIJ V GENU PLCZ1 IN DRUGIH GENIH V MOŠKI NEPLODNOSTI	
Vodja projekta:	izr. prof. dr. Milan RELJIČ, dr. med.	
Trajanje projekta (leta, od-do):	4 leta	14. 2. 2020 - 13. 2. 2024
Velikost projekta	☒ mali (do 10.000,00 EUR)	☐ veliki (do 50.000,00 EUR)

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

1. Poročilo o realizaciji predloženega programa raziskovalnega projekta - opis raziskave (izhodišča, predstavitev problema, metode dela), ugotovljeni rezultati in uporaba (največ do 3 strani)

Namen raziskave je bil iskanje morebitnih genetskih vzrokov za ponavljajočo se neuspešno oploditev po metodi ICSI. Ponavljajočo se neuspešno oploditev opažamo pri skupini neplodnih parov, ki po več poskusih zdravljenja ne dosežejo željene zanositve in imajo slabo prognozično napoved. Prav tako na podlagi morfoloških značilnosti spolnih celic ne moremo ugotoviti ali so vzrok za neuspešno oploditev moške ali ženske gamete. V literaturi je opisanih nekaj mutacij, ki so povezane s fenotipom neuspešne oploditve po ICSI metodi. Zanimalo nas je, če so pri izbrani skupini pacientov prisotne katere od že znanih mutacij ali še neopisane mutacije, ki bi lahko imele vlogo v neuspešni oploditvi.

V letih 2021 in 2022 smo pridobili vzorce periferne krvi 19 pacientov. Vsi so bili predani Kliničnemu inštitutu za specialno laboratorijsko diagnostiko Pediatrične klinike v Ljubljani, kjer so septembra 2023 opravili sekvenciranje celotnega eksoma. Za analizo rezultatov je bil izbran panel genov povezanih z moško in žensko neplodnostjo. Z bioinformatično analizo so bile določene genetske spremembe znotraj teh.

Pri 7 pacientih so bile najdene genetske spremembe v 8 različnih genih (*DNAH11*, *CCDC40*, *SPAG1*, *DNAH8*, *PDE11A*, *CFTR*, *DHX37*, *AURKC*). Z dodatno analizo smo ugotavljali, kakšno vlogo igrajo opisane genetske spremembe pri etiologiji neplodnosti. Pri štirih parih bi lahko po sedaj poznanih podatkih iz literature sklepali, da obstaja velika verjetnost, da je neplodnost povezana z najdenimi genetskimi spremembami. Za potrditev bi bile potrebne dodatne funkcionalne študije, saj povezave med klinično sliko in najdenimi spremembami niso enoznačne. Ozko grlo v analinem postopku trenutno predstavlja anotacija sprememb, kjer je za odkrite spremembe v genomu treba določiti, če so patogene ali benigne, ter če lahko njihova prisotnost v genomu pojasni klinično sliko preiskovanca.

Ker so tovrstne spremembe izredno redke, se je v okviru Evropskega združenja za humano reprodukcijo in embriologijo (ESHRE) na letnem kongresu julija 2024 vzpostavila iniciativa FeRGI (Female Reproductive Genetics Initiative), ki je oblikovala skupno banko najdenih genetskih

sprememb pri ženskah. Podobne pobude so pripravljene tudi za genetske spremembe pri moški neplodnosti. Tovrstno združevanje podatkov iz širšega evropskega prostora omogoča širjenje znanja in razumevanja o pomenu najdenih sprememb. Končni cilj je, da se tovrstne genetske analize iz pretežno raziskovalne dejavnosti preusmerja v klinično uporabo, kar povečuje njihov diagnostični potencial ter omogoča učinkovitejše genetsko svetovanje za neplodne bolnike in njihove družine.

Zastavljen program je realiziran v smislu rekrutacije pacientov in opravljenega sekvenciranja genoma pri vseh odvzetih vzorcih krvi. Pred objavo izsledkov bo potrebna še dodatna analiza najdenih genetskih sprememb ter sodelovanje tako s Kliničnim inštitutom za specialno laboratorijsko diagnostiko Pediatrične klinike v Ljubljani, kjer so bile analize opravljene ter iniciativami v širšem evropskem prostoru, da bomo najdene spremembe ustrezno ovrednotili in opisali.

Do sedaj smo v okviru zastavljene študije opravili predhodno statistično analizo pojavnosti neuspešne oploditve po ICSI metodi. Analizirali smo frekvenco pojavljanja neuspešne oploditve na podlagi baze podatkov neplodnih parov, ki so se zdravili zaradi neplodnosti v obdobju od 2010 do 2019. S statistično analizo v programskem jeziku R s pomočjo Pearsonovega hi-kvadrat testa smo definirali dejavnike tveganja za ponavljajoči se nizek delež oploditve. Kumulativno stopnjo porodov na osnovi števila postopkov s prenosom zarodkov smo izračunali s Kaplan Meierjevo analizo. Prispevek je objavljen v publikaciji.

2. Ocena stopnje realizacije in zastavljenih raziskovalnih ciljev (obkrožite)

☐ DA ☐ NE

Če je odgovor NE, napišite kratko utemeljitev

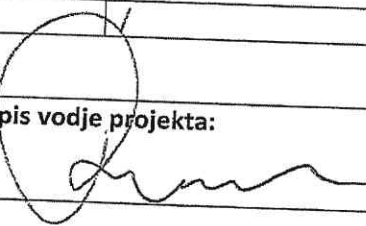
Zastavljen program je realiziran v smislu rekrutacije pacientov in opravljenega sekvenciranja genoma pri vseh odvzetih vzorcih krvi. Pred objavo izsledkov v tuji strokovni reviji s faktorjem vpliva bo potrebna še dodatna analiza najdenih genetskih sprememb ter sodelovanje tako s Kliničnim inštitutom za specialno laboratorijsko diagnostiko Pediatrične klinike v Ljubljani, kjer so bile analize opravljene ter iniciativami v širšem evropskem prostoru, da bomo najdene spremembe ustrezno ovrednotili in opisali. Razlog za daljše trajanje je predvsem počasna rekrutacija v času pandemije, dalj časa trajajoča genetska analiza ter posledično zamik pri objavi rezultatov.

3. Pridobitev za UKC Maribor - doktorska disertacija, članek, prispevek na znanstveni konferenci/simpoziju ali kongresu, patent, uvedba novih dejavnosti, smernic in metod ali izboljšanje že obstoječih itd. (največ do 1 stran)

Doktorska disertacija, magistrska naloga, raziskovalna naloga, specialistična naloga:
Objavljeni članki:
Nove metode, smernice, dejavnosti:
Prispevki (konference, srečanja, kongresi, simpoziji): Hojnik, Nina ; Gavrič-Lovrec, Vida ; Reljič, Milan Tip dela: 1.16 samostojni znanstveni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji Leto: 2021 Vir: Pregled sodobne ginekologije in porodništva pred epidemijo covid-19 leta 2020 = A state-of-the-art 2020 review on obstetrics and gynecology in the pre-Covid-19 era. - Str. 448-451 COBISS.si-ID 104190467

4. Sumaričen prikaz ciljev projekta (obvezno izpolnite!)

	Doktorat, magisterij, raziskovalna ali specialistična naloga	Objavljeni članki	Nove metode, smernice, dejavnosti	Prenos znanja (konference, srečanja, kongresi, simpoziji)
(DA/NE)	ne	ne	ne	da
Število	/	/	/	1

Datum: 1.9. 2024	Podpis vodje projekta: 
---------------------	--

Izpolni Oddelek za znanstveno-raziskovalno delo	
REALIZACIJA PROJEKTA ☐ CILJI IZPOLNJENI V CELOTI ☐ CILJI DELNO IZPOLNJENI ☐ CILJI NISO IZPOLNJENI Porabljena sredstva (v EUR): _____	Pregledal in ocenil predstojnik OZRD: Podpis: _____ Datum: _____