

## ZAKLJUČNO POROČILO

o rezultatih internega raziskovalnega projekta UKC-Maribor  
za obdobje od 14. 2. 2020 do 13. 2. 2022

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta:	IRP-2019/02-10	
Naslov projekta:	SOMATSKE MUTACIJE PRI BOLNIKIHZ MIELOFIBROZO	
Vodja projekta:	doc. dr. Špela STANGLER HERODEŽ, univ. dipl. inž. kem. tehnol.	
Trajanje projekta (leta, od-do):	2 leti	14. 2. 2020 – 13. 2. 2022
Velikost projekta	<input checked="" type="checkbox"/> mali (do 10.000,00 EUR)	<input type="checkbox"/> 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)

Mielofibroza (MF) spada med kronične mieloproliferativne bolezni, zanjo je značilna razrast vezivnega tkiva v kostnem mozgu in posledična citopenija vseh celičnih linij. Incidenca bolezni je 1/100.000 prebivalcev. Po lastnih podatkih smo v 5-letnem obdobju (2014-2018) na hematološkem oddelku UKC Maribor obravnavali 87 bolnikov z MF, njihova povprečna starost je bila 65,3 let, v razponu od 27 do 89 let. Kar 36 (41%) jih je bilo mlajših od 65 let. Bolezen poteka kronično in jo v začetnem obdobju pogosto ugotovimo slučajno. V napredovalnem obdobju težijo bolniki zaradi splošnih simptomov in napetosti v trebuhu zaradi povečane vranice. Pri polovici bolnikov zasledimo tudi povečana jetra, pri nekaterih lahko že razvito klinično sliko jetrne ciroze z zapleti. V krvni sliki je značilna poikilocitoza eritrocitov z dakriociti, t.i. solzastimi eritrociti. V diferencialni krvni sliki najdemo nezrele celice bele vrste in normoblaste (nezrele eritrocite), govorimo o levkoeritroblastni krvni sliki. Z napredovanjem bolezni se pojavita trombocitopenija in normocitna anemija. Diagnozo potrdimo s preiskavo kostnega mozga, ključna je namreč histološka ocena biopsije kostnega mozga.

Mutacije, prisotne pri MF, delimo v glavne ("driver") mutacije in preostale. Glavne mutacije so *JAK2*, *CALR* in *MPL*. V zadnjih letih so s pomočjo NGS metode odkrili še številne preostale mutacije (*ASXL1*, *SRSF2*, *IDH1/2*, *TET2*, *EZH2*, ...), ki imajo ključno vlogo pri napovedi prognoze bolnikov in se uporabljajo v novejših prognostičnih točkovnikih. Za napoved prognoze so ključni točkovniki MIPSS, GIPSS, ki upoštevata vse do sedaj znane mutacije.

Edino učinkovito in znano zdravljenje je alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic (PKMC), za katero so primerni bolniki mlajši od 65 let. Žal je sam postopek PKMC še vedno precej tvegan in ima visoko smrtnost. Ključna je prepoznava bolnikov, ki imajo visoko tveganje za neugoden potek bolezni, kajti le-ti bolniki lahko imajo dolgoročne koristi od PKMC. Zdravila, ki bi preprečilo napredovanje bolezni, ne poznamo. V primeru hude anemije

ali trombocitopenije s krvavitvami prihaja v poštev zgolj nadomestno zdravljenje s transfuzijami. Vsa zdravila, ki jih poznamo, zgolj omilijo simptome bolezni. Bolezen lahko v svojem naravnem poteku prehaja v blastno transformacijo oz. sekundarno akutno levkemijo, kjer merimo preživetje v tednih, redkeje mesecih.

Z zastavljenim projektom smo želeli uvesti metodo naslednje generacije sekvenciranja (NGS) kot diagnostično metodo pri bolnikih z mielofibrozo. Gre za najnovejšo in najnatančnejšo metodo v molekularni genetiki, ki omogoča zaznavanje mutacij v velikem številu genov z veliko občutljivostjo. Z uvedbo NGS kot diagnostičnega postopka v klinično prakso bomo lahko pri bolnikih z mielofibrozo določili spremembe v ključnih genih, kar bo izboljšalo opredelitev napovednega pomena in posledično omogočilo izbiro najustreznjšega zdravljenja, predvsem alogene PKMC.

Pred odvzemom vzorca krvi je bil s potencialnimi preiskovanci opravljen krajši pogovor, v katerem jim je bil predstavljen namen raziskave. Preiskovanci so lahko podpisali informiran pristanek v raziskavo. Sama raziskava je bila v celoti laboratorijska in od udeležencev, razen vzorca krvi in/ali kostnega mozga, se ni pričakovalo njihovega dodatnega sodelovanja. Analiza je potekala z genomsko DNK izolirano iz periferne venske krvi in/ali kostnega mozga. Za raziskavo sta zadoščali dve epruvetki oz. 6 mL periferne venske krvi oz. 200 µl kostnega mozga. Genetsko testiranje je potekalo z metodo sekvenciranja nove generacije (NGS) in je bilo izvedeno na napravi Illumina MiSeq po protokolu. Uporabili smo kite za sekvenciranje genov bolezni mieloične vrste.

Prvo leto projekta je bilo namenjeno izključno zbiranju vzorcev in izdelavi natančnega protokola za izvedbo NGS na napravi Illumina MiSeq.

V drugem letu projekta smo s pomočjo tarčnega DNA panela, ki zajema 146 genov, sekvencirali 96 vzorcev. V 72 primerih (75%) smo ugotovili prisotnost patogenih različic v ključnih genih (*ASXL1*, *CALR*, *CBL*, *CHEK2*, *DNMT3A*, *JAK2*, *IDH1*, *KIT*, *MPL*, *SRSF2*, *MFSD11*, *NOTCH1*, *TET2*, *U2AF1*, *ZRSR2*). Natančna analiza dobljenih podatkov bo izvedena v okviru doktorske dizertacije in bo omogočila natančno opredelitev njihovega napovednega pomena ter hkrati v primeru alogene PKMC tudi omogočila izbiro najustreznjšega zdravljenja.

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

DA       NE

Če je odgovor NE, napišite kratko utemeljitev

**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: Rezultati in natančna analiza podatkov bodo predstavljeni v obliki doktorske disertacije z naslovom: "Somatske mutacije pri bolnikih z mielofibrozo", ki jo bo pripravila Mojca Dreisinger, dr. med..


Objavljeni članki:  
V pripravi je članek za objavo rezultatov v reviji z IF faktorjem.


Novе metode, smernice, dejavnosti:  
Z raziskavo je bilo uspešno vpeljano genetsko testiranje z metodo sekvenciranja nove generacije (NGS), kot potencialni diagnostični postopek, v klinično prakso na področju obravnave bolnikov z mielofibrozo.

Prispevki (konference, srečanja, kongresi, simpoziji):  
Na ESHG (European Human Genetics Conference) 2022 kongresu, ki bo potekal na Dunaju v Avstriji 11-14 Junija, 2022 bodo prikazani izsledki raziskave z naslovom: „Next-generation sequencing with a 64-gene panel in Slovenian patients with myelofibrosis“.

**4. Sumaričen prikaz ciljev projekta (obvezno izpolnite!)**

	Doktorat, magisterij, raziskovalna ali specialistična naloga	Objavljeni članki	Novе metode, smernice, dejavnosti	Prenos znanja (konference, srečanja, kongresi, simpoziji)
(DA/NE)	DA (v pripravi)	NE	DA	DA
Število	1	0	1	1

Datum: 14.03.20222      Podpis vodje projekta: 

Izpolni Oddelek za znanstveno-raziskovalno delo	
<b>REALIZACIJA PROJEKTA</b> <input type="checkbox"/> CILJI IZPOLNJNI V CELOTI <input checked="" type="checkbox"/> CILJI DELNO IZPOLNJNI <input type="checkbox"/> CILJI NISO IZPOLNJNI	<b>Pregledal in ocenil predstojnik OZRD:</b> Podpis:  Datum: 25.3.22
<b>Porabljena sredstva (v EUR):</b> <u>9.663,61 (PODATKI FRŠ)</u> PREDVIDENA VREDNOST: 9.838,2EUR	