



## Povzetek projekta Študentski inovativni projekti za družbeno korist 2016-2020 za študijski leti 2018/2019 in 2019/2020 2. odpiranje za namen objave in predstavitve na spletni strani sklada

### 1. Polni naslov projekta:

**Optimizacija odkrivanja vzročnih mutacij pri diagnosticiranju dednih bolezni s tehnologijo sekvenciranja naslednje generacije (OptMutNGS)**

- **V katero področje na prvi klasifikacijski ravni KLASIUS-P-16 se uvršča projekt glede na vsebinsko zasnovu (neustrezno področje izbrišite):**

9 – Zdravstvo in socialna varnost

**2. V sodelovanju z:** (navede se univerza oz. samostojni visokošolski zavod, ki je prijavil projekt in članica, ki je nosilka projekta ter partner/ja – podjetje/ji oz. organizacija, ki je/sta bilo/i vključeno/i v projekt)

Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta,  
Univerzitetni klinični center Maribor

### 3. Besedilo:

- **Opredelite problem, ki se je razreševal tekom izvajanja projekta**

S tehnologijo sekvenciranja naslednje generacije (ang. NGS) pridobimo pri eni sami analizi pri enem samem bolniku ogromno podatkov, ki zahtevajo kompleksno bioinformatično analizo, da lahko izluščimo pravo vzročno mutacijo in pravo diagnozo. V prvi fazi analize iz surovih podatkov pridobimo seznam več kot 100 000 variant v genetskem zapisu bolnika razporejenih v vseh več kot 23 000 človeških genov. Sledi analiza kakovosti podatkov, po kateri običajno pridobimo nekaj deset tisoč verodostojnih variacij. Za procesiranje podatkov do te faze so že razvita dovolj učinkovita bioinformatična orodja in relativno avtomatizirani protokoli. Največja izziv in največjo porabo časa pa predstavlja razvoj pristopa, s katerim bi z dovolj veliko zanesljivostjo iz nekaj deset tisoč variacij v najkrajšem možnem času in kar se da avtomatizirano ugotovili eno mutacijo, ki je vzročna za nastanek bolezni in na osnovi katere lahko diagnosticiramo bolezen. Cilj predlaganega projekta je primerjati zanesljivosti in časovno učinkovitost različnih bioinformatičnih pristopov za izdelavo nabora kandidatnih genov za podrobnejšo analizo in ugotovitev vzročne mutacije. Cilj projekta je tudi pridobitev kompetenc študentov za diagnosticiranje dednih bolezni s pomočjo NGS tehnologije.

- **Opišite potek reševanja problema oz. kratek povzetek projekta**

Izvedli smo izbor bolnikov za genetsko testiranje na osnovi kliničnih opisov in izdelali napotne diagnoze in pri izbranih bolnikih izvedli odvzem krvnih vzorcev za izolacijo DNA. Izolirano DNA smo nadalje analizirali s tehnologijo sekvenciranja naslednje generacije (NGS) na aparatu MiSeq, kar nam je omogočilo pridobitev NGS podatkov. Študenti so s pomočjo mentorjev izvedli najprej bioinformatično analizo pridobljenih NGS podatkov za 9 bolnikov in osvojili osnovne veščine in znanja za bioinformatične analize NGS podatkov. V nadaljevanju so študenti samostojno in neodvisno eden od drugega izvedli bioinformatično analizo podatkov NGS za novih 15 bolnikov in izdelali nabore kandidatnih genov za podrobno analizo za odkritje vzročne mutacije s pomočjo različnih bioinformatičnih orodij: 1. s pomočjo OMIM; 2. s pomočjo GTR (The Genetic Testing Registry); 3. OrphaNet, 4. Phenomizer, 5. drugo (PubMed, GHR (Genetics Home Reference),

ClinVar, GENDIA). Na osnovi podrobnejše analize nabora kandidatnih genov so poskušali določiti vzročno mutacijo in pripravili neodvisna diagnostična poročila. V nadaljevanju smo izvedli primerjave zanesljivosti in časovne učinkovitosti različnih bioinformatičkih pristopov ugotavljanja vzročne mutacije.

- Navedite in opišite rezultate projekta ter njihov doprinos k družbeni koristnosti

Pri analizi 15 bolnikov z napotno diagnozo suma dednega sindroma smo za 6 bolnikov (40%) lahko potrdili vzročno mutacijo in dokazali diagnozo monogeneskega sindroma z dovolj veliko zanesljivostjo. Vzročno mutacijo smo ugotovili v genih CACNA1D, COL4A4&PKD2, CFH, EML1, SDHB, CRB2. Od deset študentov, ki so samostojno in neodvisno izvedli analizo NGS podatkov, uspelo vzročno mutacijo v genu CACNA1D ugotoviti 0% študentov, v genu COL4A4&PKD2 100% študentov, v genu CFH 20% študentov, v genu EML1 20% študentov, v genu SDHB 40% študentov in v genu CRB2 30% študentov. Študenti so z uporabo petih različnih skupin podatkovnih zbirk in integriranih iskalnikov za vsakega bolnika glede na napotno diagnozo izdelali nabor kandidatnih genov za podrobno analizo vzročne mutacije in sicer, 1. s pomočjo OMIM; 2. s pomočjo GTR (The Genetic Testing Registry); 3. OrphaNet, 4. Phenomizer, 5. drugo (PubMed, GHR (Genetics Home Reference), ClinVar, GENDIA). Nabor genov je za posamezno diagnozo obsegal od 21 do 61 kandidatnih genov in se je razlikoval tudi med študenti, ki so izdelali nabor kandidatnih genov za enako diagnozo pri istem bolniku. Ugotavljamo, da število kandidatnih genov ni povezano z uspešnostjo odkritja vzročne mutacije, torej študenti, ki so izdelali večji nabor kandidatnih genov nimajo večje uspešnosti pri odkritju vzročne mutacije. Največ kandidatnih genov so našli z orodjem OMIM, potem z naborom raznih orodij (PubMed, GHR, ClinVar), potem z GTR, potem OrphaNet in najmanj z Phenomizer. Kot najučinkovitejša podatkovna zbirka za izdelavo nabora kandidatnih genov se je izkazala OMIM s katerim so študenti v 22% pri izdelavi nabora kandidatnih genov zajeli tudi gen z vzročno mutacijo, sledi OrphaNet z 20% učinkovitostjo, potem nabor raznih orodij (PubMed, GHR, ClinVar) z 18% učinkovitostjo, potem GTR z 17% učinkovitostjo in presenetljivo se je proti našim pričakovanjem kot najmanj učinkovita podatkovna zbirka izkazala Phenomizer z 13% učinkovitostjo, kar razlagamo s tem, da je Phenomizer najbolj zahteven za uporabo in bi lahko večjo učinkovitost izkazal pri izkušenih uporabnikih.

Rezultati projekta bodo neposredno v pomoč zdravnikom pri učinkovitejši obravnavi bolnikov z dednimi boleznimi. Rezultati našega projekta bodo omogočili bolnikom iz lokalnega/regionalnega okolja SV regije dostopnost do najnovejših tehnologij analize genoma v klinični obravnavi, predvsem se bo povečala dostopnost do genetskega testiranja. Rezultati projekta bodo omogočili podlago za razvoj novih bioinformatičkih orodij, kar bi lahko vodilo v spin-off podjetje, ki bi tržilo računalniške programe.

Rezultati projekta prinašajo učinke tudi v širšo lokalno skupnost. Študenti medicine bodo pridobili ključna znanja in kompetence, ki bodo ključno izboljšale kvaliteto njihovega kliničnega dela po zaposlitvi v klinični instituciji, predvsem pri prepoznavanju potencialnih bolnikov z redkimi dednimi boleznimi, ki jih večina zdravnikov v rutinski klinični praksi težko prepozna in razumevanju in pravilni interpretaciji in klinični uporabi rezultatov laboratorijskih genetskih testov pridobljenih s tehnologijo NGS. S pravilno postavljeno diagnozo je učinkovitost zdravljenja in obravnave teh bolnikov bistveno izboljšana. Študentje kemije in bioinformatike bodo v okviru projekta pridobili praktična znanja in kompetence, ki jim bodo v pomoč pri vključevanju v zaposlitev, predvsem v privatnih in javnih diagnostičnih laboratorijih, kot tudi pri ustanavljanju visoko tehnoloških start-up in spin-off podjetij v mariborski regiji, kar bo prispevalo k regionalnemu razvoju in konkurenčnosti. Z vključevanjem bolnikov iz mariborske regije v projekt smo dobili jasnejši vpogled v regionalno specifične genetske značilnosti in regionalno relevantne bioznačevalce ter na podlagi rezultatov izdelali smernice za klinično diagnostiko ter s tem prispevali k promociji zdravja v lokalni skupnosti. V Univerzitetnem kliničnem centru Maribor vsako leto odkrijejo več kot sto posameznikov, ki so primereni za genetsko testiranje. Glede na to, da NGS tehnologija v UKC MB še ni na razpolago,

večino vzorcev najbolj nujnih primerov pošiljajo na genetske analize v tujino in UKC Ljubljana, kar je povezano z dodatnimi finančnimi stroški in dolgotrajnimi postopki zaradi oddaljene lokacije.. Rezultati projekta so doprinesli rezultate genetske analize za 15 novih bolnikov, ki se zdravijo v UKC MB in predvsem potrditev vzročne mutacije pri šestih bolnikih so koristna informacija za potrditev diagnoze in učinkovitejše zdravljenje teh bolnikov. Študenti, ki so sodelovali v projektu so pridobili nova znanja in kompetence s področja gentske diagnostike dednih bolezni s pomočjo NGS in ker se bodo nekateri od teh študentov predvidoma zaposlili v UKC MB, bo to pomembno izboljšalo usposobljenost bodočega kadra v UKC MB za obravnavo bolnikov s sumom na diagnozo dedne bolezni.

#### 4. Priloge:

- Slikovno gradivo: Priložite vsaj dve sliki npr. sliko končnega produkta, sliko študentov pri delu na projektu, sliko s sestankov ipd. Pri pošiljanju slik bodite pozorni, v kolikor gre za končni produkt, da bo zadoščeno zahtevam glede informiranja in obveščanja (ustrezni logotipi itd.).

Slika 1 in Tabela 1: Prikazano je koliko od 10 študentov članov projekten skupine je pri posameznem bolniku pravilno ugotovilo vzročno mutacijo; Iz prikaza je razvidno, da so pri enostavnejšem primer (bolnik PEDO18) vsi študenti pravilno ugotovili vzročno mutacijo, pri najbolj zapletenem primeru (bolnik PEDO13) pa nobeden. Najbolj uspešen je bil študent št. 8, ki je uspešno ugotovil vzročno mutacijo pri 4 od 6 bolnikov z dokazano vzročno mutacijo.

Bolnik	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PEDO13										
PEDO18										
PEDO20										
PEDO24										
PEDO28										
PEDO32										

Bolnik	Koliko študentov je našlo vzročne mutacije (%)
PEDO13	0
PEDO18	100
PEDO20	20
PEDO24	20
PEDO28	40
PEDO32	30

Slika 2: Najučinkovitejša podatkovna zbirka za izdelavo nabora kandidatnih genov se je izkazala OMIIM s katero so študenti v 21,67% pri izdelavi nabora kandidatnih genov zajeli tudi gen z vzročno mutacijo

