

mgr Dominika Daria Oziębło

**Analiza wpływu podłoża genetycznego na efekty
implantowania w grupie dzieci z głębokim niedosłuchem
prelingwalnym**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Monika Ołdak

Warszawski Uniwersytet Medyczny
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2021

Streszczenie

Niedosłuch (HL) jest jednym z najczęstszych zaburzeń narządów zmysłów człowieka i dotyczy prawie 466 mln osób na świecie. Każdego roku 1-6/1000 dzieci rodzi się z wrodzonym HL w stopniu znacznym do głębokiego. W tej grupie pacjentów wszczepienie implantu ślimakowego (CI) stanowi podstawową metodę leczenia i wczesna interwencja słuchowa jest kluczowa dla rozwoju poznawczego dzieci. Pomimo postępu technologicznego w dziedzinie CI, wciąż obserwowane są różnice w rozwoju słuchowym pacjentów i dotychczas powstało niewiele badań mających na celu powiązanie etiologii HL z efektami stosowania CI. Głównym celem tej pracy doktorskiej była ocena wpływu podłoża genetycznego HL na efekty stosowania CI.

Grupa badana (n=200) obejmowała pacjentów z głębokim HL, którzy otrzymali CI w Instytucie Fizjologii i Patologii Słuchu (IFPS) przed ukończeniem drugiego roku życia. Do badania włączono pacjentów z patogennymi wariantami *locus* DFNB1 (grupa DFNB1, n=149) oraz pacjentów bez patogennych wariantów tego *locus* (grupa non-DFNB1, n=51). Genomowe DNA pozyskano z kolekcji próbek DNA Zakładu Genetyki IFPS oraz wyizolowano z próbek krwi pacjentów (n=70) i członków wybranych rodzin (n=104). U 70 pacjentów poszukiwano wariantów *locus* DFNB1, aby włączyć ich do odpowiednich grup. Następnie w grupie pacjentów non-DFNB1 przeprowadzono sekwencjonowanie całego eksomu. Uzyskane dane poddano analizie bioinformatycznej i wytypowano warianty prawdopodobnie sprawcze, które weryfikowano z wykorzystaniem sekwencjonowania metodą Sangera. Zidentyfikowane warianty liczby kopii sprawdzano z użyciem metody porównawczej hybrydyzacji genomowej do macierzy (aCGH) i metody qPCR. Rozwój słuchowy pacjentów oceniano z wykorzystaniem kwestionariusza LittleARS (LEAQ, max. 35 pkt.) w dniu aktywacji CI oraz w 5. i 9. miesiącu po wszczepieniu CI. Sprawdzano wpływ reakcji słuchowych uzyskanych w aparatach słuchowych (HAs) oraz wieku wszczepienia CI na wynik LEAQ.

W grupie DFNB1 najczęściej identyfikowaną przyczyną niedosłuchu (119/149; 80%) były warianty homozygotyczne c.35delG w genie *GJB2*. W grupie non-DFNB1 warianty prawdopodobnie sprawcze zidentyfikowano u 73% (37/51) pacjentów. Spośród wykrytych wariantów genetycznych 26% (14/54) stanowiły warianty dziedziczone w sposób autosomalny dominujący, z czego aż osiem powstało *de novo*. Postać syndromiczną HL zidentyfikowano u 25% (13/51) pacjentów. Ponad połowa (28/54) wykrytych sprawczych wariantów genetycznych nie była wcześniej powiązana z HL. Geny, w których wykryto

warianty patogenne, ulegają ekspresji głównie w ślimaku ucha wewnętrznego a ich zasadnicza rola to utrzymanie prawidłowej funkcji komórek słuchowych, komórek podporowych oraz prążka naczyniowego ślimaka.

Nie obserwowano różnic w rozwoju słuchowym grupy DFNB1 i non-DFNB1 w kolejnych interwałach. Wszyscy pacjenci otrzymali zbliżony wynik LEAQ i ostatecznie osiągnęli średnie wartości 28 pkt. (grupa DFNB1) i 27,5 pkt. (grupa non-DFNB1) w 9. miesiącu po aktywacji CI. Istotne statystycznie różnice obecne były w grupie DFNB1 między pacjentami z odpowiedziami słuchowymi w HAs w szerokim i ograniczonym zakresie częstotliwości (10,56 vs. 3,21 pkt., $p < 0,001$), jak również między pacjentami implantowanymi przed i po 1 r.ż. (3,87 vs. 10,52 pkt., $p < 0,001$). W grupie non-DFNB1 w dniu aktywacji CI występowała jedynie istotna statystycznie różnica między pacjentami z odpowiedziami słuchowymi w HAs w szerokim i ograniczonym zakresie częstotliwości (8,96 vs. 4,85 pkt., $p < 0,05$). Rozwój słuchowy badanych dzieci był najbardziej dynamiczny w pierwszych 5 miesiącach po wszczepieniu CI i zwalniał między 5. a 9. miesiącem korzystania z CI. Nie znaleziono różnic w rozwoju słuchowym między pacjentami ze zidentyfikowaną oraz bez zidentyfikowanej genetycznej przyczyny HL.

Uzyskane wyniki potwierdziły dużą heterogenność podłoża genetycznego w grupie pacjentów z głębokim HL, którzy poddawani są procedurze wszczepienia CI. Zastosowanie sekwencjonowania eksomowego pozwoliło na osiągnięcie jednego z najwyższych wskaźników wykrywalności przyczyn genetycznych HL i przeprowadzenie pierwszej charakterystyki genetycznej przyczyn HL w grupie polskich pacjentów. Wykonane analizy wykazały stosunkowo duży udział syndromicznej formy HL i potrzebę przeprowadzania reanaliz klinicznych pacjentów i ich rodzin, w celu zapewnienia im odpowiedniej opieki wielospecjalistycznej i prawidłowego oszacowania ryzyka wystąpienia choroby u innych członków rodziny.

Wszyscy pacjenci, niezależnie od zidentyfikowanej genetycznej przyczyny HL, odnieśli porównywalne efekty stosowania CI, z czego wynik bliższy prawidłowo słyszącym rówieśnikom mają pacjenci, którym wszczepiono CI przed 1 r.ż. Odpowiedzi słuchowe prezentowane w HAs oraz wiek wszczepienia CI są czynnikami najbardziej różnicującymi wynik LEAQ w dniu aktywacji CI. Obserwowane różnice w rozwoju słuchowym pacjentów z tymi samymi wariantami genetycznymi lub wariantami zlokalizowanymi w tym samym genie, sugerują wpływ innych czynników modyfikujących, środowiskowych lub genetycznych na korzyści ze stosowania CI.

Domènica Augustó

Dr hab. n. med. Monika Oudał
specjalista genetyki klinicznej

1650724