

**mgr Anna Walczak**

**PUNKTOWE MUTACJE POSTZYGOTYCZNE W DIAGNOSTYCE  
I PORADNICTWIE GENETYCZNYM**

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

Promotor: prof. dr hab. n. med. Rafał Płoski

Promotor pomocniczy: dr n. med. Małgorzata Rydzanicz

Zakład Genetyki Medycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023

## STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Mutacje (warianty) *de novo* (ang. *de novo mutations* - DNMs) są zmianami w sekwencji genomu o charakterze spontanicznym i z założenia nowym w danym organizmie, tj. nie zostały odziedziczone. Zmiana *de novo*, która powstała spontanicznie w rozwijającym się lub dojrzałym organizmie nosi nazwę wariantu postzygotycznego. Wariant postzygotyczny wiąże się z obecnością dwóch genetycznie odmiennych linii komórkowych w jednym organizmie (tzw. mozaikowość). W zależności od momentu powstania w trakcie rozwoju i dystrybucji w organizmie wariantu *de novo*, możemy wyróżnić trzy typy mozaikowości: somatyczny, gonosomalny oraz germinalny. Warianty postzygotyczne mogą mieć szereg implikacji dla nosiciela - od bezobjawowego stanu do ciężkiej choroby. Z diagnostycznego punktu widzenia, wariant postzygotyczny jest to zmiana, dla której wartość VAF (*variant allele frequency*) jest poniżej 50%, tj. układu heterozygotycznego występującego w zmianach konstytucyjnych. Wykrycie mozaikowości jest istotne z punktu widzenia diagnozy oraz poradnictwa genetycznego.

Główne cele niniejszej rozprawy to: (i) ocena jaka najmniejsza wartość VAF patogennego wariantu jest istotna klinicznie, (ii) jaka jest częstość mozaikowości germinalnej lub gonosomalnej wśród, odpowiednio, ojców i matek dzieci, u których na podstawie badania DNA z krwi stwierdzono wariant potencjalnie powstały *de novo* powodujący chorobę, (iii) jaka jest najwyższa wartość VAF patogennego wariantu, który nie wywołuje objawów. Podjęto też próbę oceny korelacji genotyp-fenotyp wykrytych zmian postzygotycznych oraz określenia zasad poradnictwa genetycznego przy ich uwzględnieniu.

Dla realizacji wyżej wymienionych celów wykorzystano głębokie sekwencjonowanie amplikonów (ADS), oparte o metodę sekwencjonowania następnej generacji (NGS). Badano grupę 10 probantów, u których weryfikowano VAF patogennych wariantów o możliwym charakterze postzygotycznym, tj. wariantów, dla których w badaniu WES stwierdzono możliwość mozaikowości (VAF <40% przy braku wariantu u rodziców) oraz grupę 45 rodzin składającą się z (zdrowych) rodziców dzieci, u których wytypowano wariant sprawczy w formie konstytucyjnej (przy braku wariantu w formie konstytucyjnej u rodziców). Oprócz ilościowej oceny VAF badanego wariantu w DNA pochodzącym z krwi rodziców, dodatkowe badania ich innych tkanek obejmowały: DNA izolowany z nasienia (u mężczyzn), DNA izolowany z wymazu z jamy ustnej, cebulek włosów i moczu (u kobiet).

Zidentyfikowano łącznie 25 różnych (jeden wystąpił podwójnie) wariantów postzygotycznych w 17 różnych genach, które zostały powiązane z chorobami człowieka. Dziewięć różnych wariantów (jeden wystąpił podwójnie) zostało wykrytych w grupie probantów, natomiast w grupie rodziców wykryto 16 wariantów [4 u matek 9% (4/44), 12 u ojców 29% (12/42)]. Wśród ojców, 8 z 12 wariantów prowadziło do mozaikowości gonosomalnej. Pozostałe 4 warianty w 4 genach zostały zidentyfikowane tylko w DNA z nasienia i na podstawie tych wyników oszacowano częstość mozaikowości germinalnej pochodzenia ojcowskiego na poziomie 13% (4/30 zbadanych próbek nasienia). Najniższa wyznaczona częstość wariantu wyniosła 3% (probant, metoda ADS), najwyższa miała wartość 35% (bezobjawowa matka, DNA izolowany z krwi, metoda ADS).

Na podstawie uzyskanych wyników ustalono, że analiza w kierunku zmian postzygotycznych powinna obejmować zarówno probantów jak i ich rodziców w szerokim przedziale VAF (min. 1-35%). Możliwość występowania wariantów postzygotycznych nie może być pomijana u rodziców w dalszej diagnostyce i poradnictwie genetycznym w momencie identyfikacji wariantu sprawczego o potencjalnym charakterze „*de novo*”.