

**„Analiza podłoża genetycznego wybranych dyslipidemii pierwotnych z zastosowaniem technologii sekwencjonowania następnej generacji”**

**Streszczenie w języku polskim**

Dyslipidemie pierwotne to szeroka grupa zaburzeń o podłożu genetycznym, charakteryzująca się nieprawidłową gospodarką lipidową. W grupie tej możemy wyróżnić m.in. hipercholesterolemie monogenowe, hiperalfalipoproteinemie monogenowe, hipoalfalipoproteinemie monogenowe, hipertriglicerydemie monogenowe oraz lipodystrofie wrodzone. Najczęstszą z nich jest hipercholesterolemia rodzinna (FH) dziedziczona w sposób autosomalnie dominujący, o częstości występowania 1:200-250 dla postaci heterozygotycznej i 1:160,000-300,000 dla postaci homozygotycznej. Specyficzne cechy fenotypowe, będące bezpośrednim następstwem podwyższonego stężenia LDL-c, to tkankowe złogi cholesterolu gromadzące się pod postacią żółtaków ścięgien Achillesa, ścięgien prostowników dłoni i stóp, rzadziej zmian na powiekach czy obwodzie rogówki. Postępująca uogólniona miażdżycza tętnic leży u podłoża występujących nagłych incydentów sercowo-naczyniowych. Wczesne rozpoznanie choroby, szybka diagnostyka oraz niezwłoczne wdrożenie farmakoterapii stanowią jedyny sposób na efektywne zahamowanie postępujących zmian miażdżycowych. Najczęściej stosowane kryteria diagnostyczne ułatwiające rozpoznanie FH to Dutch Lipid Clinic Network Criteria oraz Simon Broome Criteria. Klasyfikacje te oparte są o parametry lipidowe, cechy fenotypowe oraz potwierdzone warianty sprawcze w genach *LDLR*, *APOB* lub *PCSK9*. Poznane dotąd podłoża genetyczne FH to głównie mutacje genu receptora LDL (86-88% przypadków FH), rzadziej apolipoproteiny B (12%) lub proproteinowej konwertazy subtylizyny/keksyny typu 9 (<2%). Ze względu na heterogenne podłoża FH i wciąż znaczny odsetek pacjentów niezdiagnozowanych, istnieje duża potrzeba badań genetycznych, zarówno w zakresie zmian w obrębie trzech głównych genów, jak i poszukiwania wariantów w genach kandydackich. Jednym z celów prowadzonych badań była analiza podłoża genetycznego hipercholesterolemii rodzinnej u pacjentów pediatrycznych, z poszukiwaniem nowych wariantów patogennych w genach znanych i kandydackich. W tym celu zastosowano sekwencjonowanie następnej generacji z wykorzystaniem autorskiego panelu genowego. Pozwoliło to na zidentyfikowanie wariantów patogennych u 33 spośród 57 zrekrutowanych pacjentów pediatrycznych. Wśród siedemnastu zareportowanych zmian dwanaście stanowiły warianty zmiany sensu, trzy zmiany skutkujące przesunięciem ramki odczytu oraz dwa

warianty splicingowe. Wykryto także trzy warianty o niepewnym znaczeniu klinicznym i jeden czynnik ryzyka. Geny w obrębie, których wykryto zmiany to *LDLR*, *APOB*, *ABCG5* oraz *LPL*. W toku analizy zidentyfikowano również obecność nowego, dotychczas nieraportowanego wariantu c.373\_379delCAGTTTCG, skutkującego przesunięciem ramki odczytu w eksonie 4 genu *LDLR* (Publikacja nr 1). Kolejnym zakładanym celem badań była ocena częstości występowania oraz charakterystyka zmian typu CNV z wykorzystaniem specyficznego narzędzia bioinformatycznego (DECoN) umożliwiającego analizę danych po NGS. Grupę badaną stanowiło 136 pacjentów dorosłych oraz pediatrycznych. Z grupy tej wyselekcjonowano kilkudziesięciu pacjentów obciążonych najcięższym fenotypem, bez zidentyfikowanych zmian typu SNV w badaniu NGS i niezwłocznie wykonano u nich badanie techniką MLPA. Dane pozostałych pacjentów uzyskane w wyniku sekwencjonowania poddano reanalizie w programie DECoN. Pozwoliło to zidentyfikować dwóch dodatkowych pacjentów obarczonych duplikacją eksonów 4-8 genu *LDLR* (Publikacja nr 2).

W trakcie prowadzenia projektu naukowego, do analizy NGS włączono także niewielką grupę pacjentów z podejrzeniem występowania, bardzo rzadkiej grupy zaburzeń lipidowych, jakim są lipodystrofie częściowe. W toku analizy wykryto nowy, heterozygotyczny wariant c.443G>A w eksonie 4 genu *PPARG* u pacjentki z hipertriglicerydemią i cechami fenotypowymi lipodystrofii częściowej. Zidentyfikowanie zmiany pozwoliło postawić diagnozę rodzinnej lipodystrofii częściowej typu 3 (Publikacja nr 3).

Uzyskane wyniki stanowią zwieńczenie badań prowadzonych w latach 2016-2022 w ramach projektu naukowego, przyczyniając się do lepszego poznania podłoża genetycznego hipercholesterolemii rodzinnej i rodzinnej lipodystrofii częściowej. Ponadto, pozwoliły one ocenić skuteczność panelowego sekwencjonowania następnej generacji w diagnostyce zaburzeń lipidowych oraz możliwości wykorzystania danych po NGS, do analizy CNV z użyciem nowatorskich narzędzi bioinformatycznych.