

Znaczenie zmian liczby kopii sekwencji DNA dla identyfikacji genów uczestniczących w etiologii zespołu wrodzonych wad rozwojowych współistniejących z niepełnosprawnością intelektualną.

Dr n. med. Beata Anna Nowakowska

Autoreferat

Warszawa 2018

1. Imię Nazwisko: Beata Anna Nowakowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

2017, Szkoła Główna Handlowa, Kolegium Zarządzania i Finansów, Studia Podyplomowe Zarządzanie Biznesem Medycznym. Tytuł pracy dyplomowej: Evaluating opportunities of successful public-private partnership in healthcare sector in Poland.

2010, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Specjalizacja z Laboratoryjnej Genetyki Medycznej

2009, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Centrum Biostruktury - tytuł doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Tytuł rozprawy doktorskiej: Ocena przydatności molekularnych metod analizy kariotypu (HR-CGH i CGH do mikromacierzy) w specyficznych przypadkach klinicznych nie wyjaśnionych metodami cytogenetyki konwencjonalnej.

2001, Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Specjalność Mikrobiologia - studia magisterskie. Tytuł pracy magisterskiej: Analiza klonów *Bacillus subtilis* opornych na indukcję ekspresji genu α pochodzącego z plazmidu pSM19035.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

2001.11 - obecnie: Instytut Matki i Dziecka, Warszawa; Zakład Genetyki Medycznej; adiunkt;
Kierownik Zespołu Pracowni Cytogenetyki

2010.01.01 - 2012.06.30: KU Leuven, Centrum Genetyki Człowieka, Leuven, Belgia; staż
podoktorski

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

A) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Znaczenie zmian liczby kopii sekwencji DNA dla identyfikacji genów uczestniczących w etiologii zespołu wrodzonych wad rozwojowych współistniejących z niepełnosprawnością intelektualną.

B) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. **Nowakowska B.** Clinical interpretation of copy number variants in the human genome. J Appl Genet. 2017 Nov;58(4):449-457.
IF= 1,756; pkt MNiSW=20

Mój wkład polegał na sformułowaniu koncepcji pracy, podsumowaniu danych literaturowych oraz napisaniu manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 100%.**

2. Bartnik M, Wiśniowiecka-Kowalik B, **Nowakowska B**, Smyk M, Kędzior M, Sobecka K, Kutkowska-Kaźmierczak A, Kłapecki J, Szczatuba K, Castañeda J, Własienko P, Bezniakow N, Obersztyn E, Bocian E. The usefulness of array comparative genomic hybridization in clinical diagnostics of intellectual disability in children. *Dev Period Med*. 2014 Jul-Sep;18(3):307-17.

MNiSW=7

Mój wkład polegał na wykonaniu większości badań metodą aCGH u pacjentów z niepełnosprawnością intelektualną i zespołem wad wrodzonych, redagowaniu manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 25%.**

3. Bartnik M, **Nowakowska B**, Derwińska K, Wiśniowiecka-Kowalik B, Kędzior M, Bernaciak J, Ziemkiewicz K, Gambin T, Sykulski M, Bezniakow N, Korniszewski L, Kutkowska-Kaźmierczak A, Kłapecki J, Szczatuba K, Shaw CA, Mazurczak T, Gambin A, Obersztyn E, Bocian E, Stankiewicz P. Application of array comparative genomic hybridization in 256 patients with developmental delay or intellectual disability. *J Appl Genet*. 2014 Feb;55(1):125-44. doi: 10.1007/s13353-013-0181-x. Epub 2013 Dec 3.

IF= 1,477; pkt MNiSW=20

Mój wkład polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, wykonaniu dużej części badań metodą aCGH, interpretacji wyników badań oraz współudziale w pisaniu i redagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 30%.**

4. Szczatuba K, **Nowakowska B**, Sobecka K, Smyk M, Castaneda J, Kłapecki J, Kutkowska-Kaźmierczak A, Śmigiel R, Bocian E, Radkowski M, Demkow U. Application of Array Comparative Genomic Hybridization in Newborns with Multiple Congenital Anomalies. *Adv Exp Med Biol*. 2016;912:1-9.

IF=1,937; pkt MNiSW=25

Mój wkład polegał na nadzorze części laboratoryjnej projektu, wykonaniu części badań techniką aCGH, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, współredagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 35%.**

5. Szczatuba K, **Nowakowska BA**, Sobecka K, Smyk M, Castaneda J, Dudkiewicz Z, Kutkowska-Kaźmierczak A, Sąsiadek MM, Śmigiel R, Bocian E. High-Resolution Array Comparative Genomic Hybridization Utility in Polish Newborns with Isolated Cleft Lip and Palate. *Neonatology*. 2015;107(3):173-8.

IF= 2,754; pkt MNiSW=30

Mój wkład polegał na nadzorze części laboratoryjnej projektu, wykonaniu części badań techniką aCGH, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, współredagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 35%.**

6. Posmyk R, Leśniewicz R, Gogiel M, Chorąży M, Bakunowicz-Łazarczyk A, Sielicka D, Vermeesch J, **Nowakowska BA**. The smallest de novo deletion of 20q11.21-q11.23 in a girl with feeding problems, retinal dysplasia, and skeletal abnormalities. *Am J Med Genet A*. 2014 Apr;164A(4):1056-61.

IF= 2,159; pkt MNiSW=20

Mój wkład polegał na nadzorze projektu, wykonaniu badań technikami cytogenetyki molekularnej, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, współredagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 60%.**

7. Poluha A, Bernaciak J, Jaszczyk I, Kędzior M, **Nowakowska BA**. Molecular and clinical characterization of new patient with 1,08 Mb deletion in 10p15.3 region. *Mol Cytogenet*. 2017 Sep 7;10:34.

IF= 1,167; pkt MNiSW=15

Mój wkład polegał na nadzorze projektu, wykonaniu badań technikami cytogenetyki molekularnej, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, napisaniu manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 60%.**

8. Smyk M, Poluha A, Jaszczyk I, Bartnik M, Bernaciak J, **Nowakowska B**. Novel 14q11.2 microduplication including the CHD8 and SUPT16H genes associated with developmental delay. *Am J Med Genet A*. 2016 May;170A(5):1325-9.

IF= 2,259; pkt MNiSW=20

Mój wkład polegał na nadzorze projektu, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, współredagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 40%.**

9. Bernaciak J, Wiśniowiecka-Kowalik B, Castañeda J, Kutkowska-Kaźmierczak A, **Nowakowska B**. A novel de novo 20q13.11q13.12 microdeletion in a boy with neurodevelopmental disorders - case report. *Dev Period Med*. 2017;21(2):91-94.

pkt MNiSW=13

Mój wkład polegał na nadzorze projektu, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, współredagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 30%.**

10. **Nowakowska BA**, Obersztyn E, Szymańska K, Bekiesińska-Figatowska M, Xia Z, Ricks CB, Bocian E, Stockton DW, Szczatuba K, Nawara M, Patel A, Scott DA, Cheung SW, Bohan TP, Stankiewicz P. Severe mental retardation, seizures, and hypotonia due to deletions of MEF2C. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2010 Jul;153B(5):1042-51.

IF= 4,156; pkt MNiSW=32

Mój wkład polegał na wykonaniu badań technikami cytogenetyki molekularnej, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, przygotowaniu manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 60%.**

11. **Nowakowska BA**, de Leeuw N, Ruivenkamp CA, Sikkema-Raddatz B, Crolla JA, Thoelen R, Koopmans M, den Hollander N, van Haeringen A, van der Kevie-Kersemaekers AM, Pfundt R, Mieloo H, van Essen T, de Vries BB, Green A, Reardon W, Fryns JP, Vermeesch JR. Parental insertional balanced translocations are an important cause of apparently de novo CNVs in patients with developmental anomalies. *Eur J Hum Genet.* 2012 Feb;20(2):166-70.

IF= 4,319; pkt MNiSW=30

Mój wkład polegał na wykonaniu badań techniką FISH dla około 100 rodzin zawartych w publikacji, kolekcji wyników z innych ośrodków, interpretacji oraz opracowaniu wyników badań, przygotowaniu manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 40%.**

Dane bibliometryczne * prac wchodzących w skład doniesienia naukowego:

IF = 21,984

Punktacja MNiSW =232

* wg analizy bibliometrycznej sporządzonej przez Bibliotekę Naukową Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego, Państwowego Zakładu Higieny z dnia 17.08.2018 (Załącznik nr 6).

C) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Współczesna genetyka medyczna koncentruje się na poszerzeniu i pogłębieniu wiedzy dotyczącej etiologii i mechanizmów powstawania chorób uwarunkowanych defektami w genomie człowieka. Pierwszym i podstawowym etapem badań prowadzących do osiągnięcia tego celu jest poznanie i szczegółowa charakterystyka regionów genomu, a następnie identyfikacja genów, których defekty warunkują określoną patologię. Tematyka moich badań, opisanych w cyklu 11 publikacji składających się na rozprawę habilitacyjną dotyczą oceny znaczenia zmian liczby kopii sekwencji DNA dla identyfikacji genów uczestniczących w patomechanizmie zespołu wrodzonych wad rozwojowych współistniejących z niepełnosprawnością intelektualną i wpisuje się w ten nurt genetyki medycznej.

Do niedawna stosowane w badaniach genomu technologie cytogenetyczne i molekularne umożliwiały identyfikację wariantów genomowych, charakteryzujących się zmianami z jednej strony skrajnie dużymi (takimi jak aberracje chromosomowe widoczne w mikroskopie świetlnym) a z drugiej strony skrajnie małymi, takimi jak zmiany pojedynczych nukleotydów. W ostatniej dekadzie, dzięki wprowadzeniu do badań techniki porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy (*ang. array comparative genomic hybridization – aCGH*), wykazano, że genom człowieka zawiera wiele regionów, w których obserwuje się zmiany o pośredniej wielkości. Są to

delecje oraz duplikacje, które określa się jako zmiany liczby kopii sekwencji DNA (*ang. Copy Number Variants - CNV*). Warianty te mogą mieć wielkość od kilkudziesięciu (> 50 pz) do kilkudziesięciu milionów par zasad i warunkują zmienność genomu człowieka nawet w zakresie 2%. CNV stanowią ważne źródło zmienności osobniczej ale również wiele z nich ma poważne konsekwencje zdrowotne. Odkrycie tego faktu stało się podstawą do zdefiniowania w roku 1998 przez Profesora Jamesa Lupskiego pojęcia chorób genomowych. Choroby te są wynikiem zaburzeń dawki genu lub genów w przeciwieństwie do, dobrze poznanych wcześniej, chorób będących wynikiem zmian nukleotydowych w pojedynczym genie. Co więcej, takie nierównowagi występują z powodu cech architektury genomu, które wpływają na niestabilność genomu w danym regionie. Dalsze badania z zastosowaniem technik mikromacierzy katalizowały identyfikację i charakterystykę nowych CNV, umożliwiając także wgląd w mechanizmy molekularne, które prowadzą do rearanżacji chromosomowych. Dzięki tym badaniom poznano liczne, nowe geny wrażliwe na dawkę co zaowocowało gwałtownym wzrostem naszej wiedzy na temat genetycznych przyczyn wielu chorób manifestujących się zaburzeniami neurorozwojowymi takimi jak niepełnosprawność intelektualna czy też wrodzonymi wadami rozwojowymi. Obecnie wiemy, że CNV mogą mieć wpływ na cechy fenotypowe pacjenta bezpośrednio poprzez zmniejszenie lub zwiększenie dawki genu spowodowaną odpowiednio delecją lub duplikacją, mogą zmieniać również ekspresję genów pośrednio poprzez efekt pozycji, zmianę sekwencji regulatorowych lub poprzez odsłonięcie (utrata heterozygotyczności w przypadku delecji) mutacji recesywnej.

Często określenie charakteru stwierdzonego CNV (łagodny czy patogeny) a co za tym idzie określenie możliwych jego skutków klinicznych jest szczególnie trudne. Dotyczy to głównie wariantów występujących rzadko. Dlatego też największym obecnie wyzwaniem w badaniach nad zmianą liczby kopii sekwencji DNA jest ocena, czy określone CNV mają charakter łagodny czy też odpowiadają za uszkodzenie ważnych funkcji biologicznych prowadząc do określonych patologii. Dodatkowym utrudnieniem w ocenie konsekwencji klinicznych CNV może być funkcja czasu (wieku pacjenta), miejsca (np. czynników środowiskowych) czy też innych czynników, które nie są w pełni jeszcze poznane. W pracy przeglądowej „**Clinical interpretation of copy number variants in human genome**” (1. [J Appl Genet](#)), zawartej w cyklu publikacji składających się na rozprawę

habilitacyjną, odniosłam się do problemów z oceną znaczenia klinicznego zmian liczby kopii sekwencji DNA, szczególnie w odniesieniu do rzadkich zmian stwierdzanych w chorobach neurorozwojowych, manifestujących się niepełnosprawnością intelektualną. Omówiony został schemat postępowania interpretacyjnego z uwzględnieniem wariantów CNV o niepełnej penetracji oraz zmiennej ekspresji. Oba te zjawiska zostały opisane dopiero w ostatnich kilku latach a ich mechanizm wciąż nie jest poznany.

Poznanie genów, których warianty odpowiedzialne są za patologie stwierdzane u człowieka przebiega najczęściej wieloetapowo. W pierwszym etapie poszukiwania genów wrażliwych na dawkę identyfikowana jest zmiana liczby kopii sekwencji DNA, która zazwyczaj zawiera od kilku do kilkudziesięciu genów. Na podstawie biologicznej funkcji zawartych w obszarze CNV genów, typowane są tzw. „geny kandydujące”, których zmiana dawki najprawdopodobniej ma wpływ na obraz fenotypowy pacjenta. Stwierdzenie podobnej zmiany w genomie u innych osób prezentujących podobny obraz kliniczny stanowi potwierdzenie patogenności tej zmiany. W swojej pracy wykorzystałam dwa uzupełniające się modele identyfikacji genów kandydujących. W pierwszym z nich badane były duże grupy pacjentów, o podobnym ale jednak heterogennym obrazie klinicznym. Model ten zakłada, że w takiej grupie badanej może występować wiele różnych CNV, zawierających geny których zmiana dawki ma podobny wpływ na fenotyp pacjentów. Drugi model zakłada „zawężanie” regionów o zmiennej liczbie kopii sekwencji DNA do regionu krytycznego, który wskazuje na jeden lub kilka genów z danego obszaru odpowiedzialnych za występujący, dobrze scharakteryzowany u badanego pacjenta fenotyp.

Pierwszą strategię badań reprezentują cztery publikacje zawarte w niniejszej rozprawie habilitacyjnej. W dwóch z nich, zatytułowanych; **“The usefulness of array comparative genomic hybridization in clinical diagnostics of intellectual disability in children”** (2. Dev Period Med) oraz **“Application of array comparative genomic hybridization in 256 patients with developmental delay or intellectual disability”** (3. J Appl Genet) badaniem objęto łącznie 368 pacjentów z niepełnosprawnością intelektualną i/lub wrodzonymi wadami rozwojowymi. W grupie tej stwierdzono 121 zmian liczby kopii sekwencji DNA, z czego 65 stanowiły znane zmiany patogenne, związane z niepełnosprawnością intelektualną, 18 zmiany potencjalnie patogenne oraz 35 CNV o

nieznanym znaczeniu klinicznym. Dwie ostatnie grupy wariantów są szczególnie interesujące w kontekście możliwości identyfikacji nowych genów kandydatów, których uczestnictwo w powstawaniu patologii wymaga dalszego potwierdzenia lub wykluczenia. Wyniki uzyskane w obu omawianych pracach umożliwiły wytypowanie 32 genów kandydujących, które nie były do tej pory związane z niepełnosprawnością intelektualną i wrodzonymi wadami rozwojowymi. Geny te nie były również opisane w bazach wariantów polimorficznych. Wyniki tych badań otworzyły drogę do kolejnego etapu w procesie poznawania etiologii wad genetycznie uwarunkowanych oraz korelacji gen-cecha kliniczna. Kolejne dwie prace dotyczyły zastosowania techniki mikromacierzy do poszukiwania genów, których zaburzenia ekspresji mogą prowadzić do wielu współwystępujących wrodzonych wad rozwojowych. W pracy **“Application of Array Comparative Genomic Hybridization in Newborns with Multiple Congenital Anomalies”** (4. [Adv Exp Med Biol](#)) u 54 noworodków z wielowadziem, definiowanym jako dwie lub więcej wady wrodzone w dwóch z następujących układów; sercowo-naczyniowy, szkieletowy, moczowo-płciowy, pokarmowy, oddechowy lub w centralnym układzie nerwowym, stwierdzonych zostało 8 powstałych *de novo* CNV, o potencjalnie patogennym lub nieznanym znaczeniu klinicznym. W wyniku analizy stwierdzonych wariantów, opartej na informacji z baz danych, funkcji zawartych w CNV genach oraz ich miejscu ekspresji, zostało wybranych 9 genów kandydujących, których zmiana dawki prawdopodobnie jest przyczyną stwierdzonych u pacjentów patologii. W kolejnej pracy skoncentrowanej na badaniu patologii molekularnej izolowanego rozszczepu wargi i podniebienia u noworodków **“High-Resolution Array Comparative Genomic Hybridization Utility in Polish Newborns with Isolated Cleft Lip and Palate”** (5. [Neonatology](#)) w grupie 52 pacjentów stwierdzonych zostało 8 unikalnych wariantów CNV. Wśród nich zostały wyróżnione dwa nowe geny kandydujące; *CHN2* oraz *CDH19*, których uszkodzenie prowadzi do powstania izolowanych rozszczepów wargi i podniebienia.

Drugą strategią badań, która umożliwia identyfikację genów odpowiedzialnych za określoną patologię jest „zawężanie” regionu krytycznego mikrodelecji lub mikroduplikacji, w grupie fenotypowo homogennej pacjentów, u których stwierdzono różnej wielkości nachodzące na siebie CNV. Strategia ta umożliwia również odróżnienie zespołów przylegających genów, w których obraz kliniczny pacjentów jest efektem delecji bądź duplikacji kilku blisko siebie

zlokalizowanych genów, od zespołów mikrodelecji/mikroduplicacji, u których fenotyp pacjenta jest wynikiem zaburzenia dawki jednego genu znajdującego się w obrębie większego CNV. Cztery prace, zawarte w omawianym zbiorze prac habilitacyjnych dotyczą potwierdzenia lokalizacji regionów krytycznych nowych zespołów przyległych genów u pacjentów z niepełnosprawnością intelektualną oraz wadami wrodzonymi. W pracy zatytułowanej **“The smallest de novo deletion of 20q11.21-q11.23 in a girl with feeding problems, retinal dysplasia, and skeletal abnormalities”** (6. Am J Med Genet A) przeprowadzona została analiza regionu krytycznego zespołu mikrodelecji na podstawie porównania korelacji genotyp-fenotyp naszego pacjenta z trzema opisanymi wcześniej pacjentami, u których stwierdzono delecje w regionie 20q11-q12. Pomimo, że region krytyczny dla tego zespołu wynosił około 5Mpz i zawierał ponad 80 genów, na podstawie dostępnych baz danych, funkcji genów oraz ich miejsca ekspresji, zaproponowaliśmy jedynie dwa geny kandydujące; *GHRH* oraz *GDF5*, które naszym zdaniem mają decydujący wpływ na obraz kliniczny opisanych pacjentów. Kolejna praca zatytułowana **“Molecular and clinical characterization of new patient with 1,08 Mb deletion in 10p15.3 region”** (7. Mol Cytogenet.) opisuje pacjenta który został skierowany na badanie genetyczne z podejrzeniem zespołu delecji 22q11. Region 10p określany jest jako II region krytyczny Zespołu DiGeorge’a. Jednak stwierdzona delecja położona była dystalnie do regionu krytycznego opisywanego wcześniej. Praca omawia porównanie trzech sąsiadujących ze sobą regionów delecji mieszczących się na ramieniu 10p. Wykazuje, że opisywane do tej pory zależności fenotyp-genotyp dla poszczególnych regionów chromosomu 10p nie są specyficzne i pacjenci, mimo pewnych cech wspólnych nie reprezentują homogenne obrazu klinicznego. Nasz pacjent reprezentował najmniejszą z opisanych dotychczas delecję w regionie 10p15.3, dzięki czemu możliwe było wskazanie genów kandydatów; *ZMYND11* oraz *DIP2C*, mapujących się w najmniejszym wspólnym regionie delecji. Kolejna praca z serii badań nad identyfikacją genów kandydatów w zespołach przyległych genów, przedstawia duplikację regionu 14q11.2. Do tej pory w literaturze opisywane były jedynie delecje tego regionu oraz mutacje punktowe genu *CHD8* leżącego w jego obrębie. W pracy **„Novel 14q11.2 microduplication including the CHD8 and SUPT16H genes associated with developmental delay”** (8. Am J Med Genet A) opisaliśmy po raz pierwszy duplikację 14q11.2 u pacjenta, którego obraz kliniczny odpowiadał cechom klinicznym osób z delecjami tego regionu. Opisana przez nas

duplikacja miała wielkość ~400 kpz i zawierała 9 genów. Analiza regionu krytycznego dla tego zespołu mikrodelecji/mikroduplikacji oraz ocena zależności cech fenotypowych od genotypu wykazała, że genami odpowiedzialnymi za cechy kliniczne pacjentów omawianych w tej pracy są dwa geny; *CHD8* oraz *SUPT16H*, a region krytyczny ma wielkość jedynie ~35 kpz. W ostatniej pracy opisującej zespół przyległych genów; „**A novel de novo 20q13.11q13.12 microdeletion in a boy with neurodevelopmental disorders – case report**” (9. Dev Period Med) opisaliśmy po raz pierwszy delecję regionu 20q13.11q13.12 o wielkości 424 kpz. W związku z brakiem doniesień literaturowych na temat CNV tego regionu, nie można było dokonać korelacji genotyp-fenotyp. Ponieważ wszystkie trzy geny, *SFRS6*, *PTPRT* oraz *L3MBTL*, które znalazły się w obszarze stwierdzonej delecji ulegają ekspresji w mózgu uznaliśmy, że wszystkie one mogą mieć wpływ na występujące u pacjenta cechy kliniczne. Dopiero identyfikacja i porównanie cech klinicznych kolejnych pacjentów z aberracjami w tym regionie umożliwić może zawężenie regionu krytycznego tego zespołu.

Choroby genomowe, których przyczyną jest zmiana dawki jednego genu charakteryzują się tym, że niezależnie od wielkości CNV fenotyp pacjenta będzie taki sam jak fenotyp pacjenta u którego uszkodzeniu uległ tylko gen decydujący o chorobie. Taki patomechanizm zespołu genetycznego został udokumentowany w pracy „**Severe mental retardation, seizures, and hypotonia due to deletions of MEF2C**”(10. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet). W pracy dokonano oceny zależności genotypowo-fenotypowej u 4 pacjentów z homogennymi cechami klinicznymi, na które składały się: niepełnosprawność intelektualna lub opóźnienie psychoruchowe, nieprawidłowy ruch kończyn górnych, hipotonia, zaburzenia EEG, padaczka, braku rozwoju mowy, autyzm, dysmorfia, ścieńczenie ciała modelowatego oraz opóźnienie mielinizacji istoty białej płątków potylicznych. U wszystkich pacjentów stwierdzono delecje w regionie 5q14.3, których wielkość zawierała się od 140 kpz (pierwsze 3 eksony genu *MEF2C*) aż do 5,7Mpz. Ocena zależności fenotypu od genotypu pacjentów wykazała, że mimo znacznego zróżnicowania wielkości delecji za obraz kliniczny pacjentów odpowiedzialne jest obniżenie dawki genu *MEF2C*.

Ważnym aspektem badań genetycznych jest nie mechanizm powstawania patogennych CNV, który ma wpływ na wielkość ryzyka genetycznego w rodzinie. Do tej pory szacowano, że ryzyko

takie jest bardzo niskie gdy u pacjenta identyfikowano interstycjalną aberrację chromosomową (delecję lub duplikację), podczas gdy u rodzica niezrównoważenie to nie było stwierdzane. Jednak w przypadku gdy jeden z rodziców jest nosicielem zrównoważonej translokacji interstycjalnej (IT) ryzyko powtórzenia się choroby w rodzinie wynosi 50%. Chociaż, zgodnie z regułą, zrównoważone aberracje nie skutkowały patologią u rodzica, to jednak predysponowały do nieprawidłowej rekombinacji homologicznej w mejozie i w konsekwencji do powstania patogenicznej delecji lub duplikacji interstycjalnej u dziecka. Celem kolejnej publikacji uwzględnionej w pracy habilitacyjnej, zatytuowanej **“Parental insertional balanced translocations are an important cause of apparently de novo CNVs in patients with developmental anomalies”** (11. [Eur J Hum Genet](#)) było określenie częstości występowania zrównoważonych IT u rodziców, pacjentów z zespołem wad rozwojowych i/lub niepełnosprawnością intelektualną, u których stwierdzono mikroaberrację interstycjalną. Dokonana została ocena potencjalnej obecności IT u rodziców chorych dzieci, metodą FISH, w 477 rodzinach. Badania wykazały, że podłożem powstania submikroskopowych, patogenicznych CNV u dzieci, u których stwierdzono zmianę interstycjalną jest w ~2.1% obecność zrównoważonej translokacji interstycjalnej obecnej u jednego z rodziców. Wartość ta jest 6 krotnie wyższa od ocenianej dotychczas na podstawie częstości aberracji rozpoznawanych metodami cytogenetyki klasycznej.

Podsumowanie

Tematyka moich badań opisanych w cyklu 11 prac stanowiących przedmiot habilitacji dotyczy oceny znaczenia zmian liczby kopii sekwencji DNA dla identyfikacji genów uczestniczących w patomechanizmie zespołu wrodzonych wad rozwojowych współistniejących z niepełnosprawnością intelektualną. W pracach udokumentowano dużą przydatność technik mikromacierzy do identyfikacji nowych regionów genomu, zaangażowanych w powstawanie zespołów genomowych u człowieka. Wykazano skuteczność zastosowanych strategii badań do identyfikacji genów odpowiedzialnych za określoną patologię o czym świadczy wytypowanie 53 „genów kandydatów”, których zmiana dawki prawdopodobnie prowadzi do powstania NI i wrodzonych wad rozwojowych. Stwierdzono również, że mechanizm powstawania patogenicznych zmian liczby kopii sekwencji DNA ma istotny wpływ na wielkość ryzyka genetycznego w rodzinie.

Wszystkie te osiągnięcia mieszczą się w nurcie współczesnej genetyki medycznej, koncentrującej się na badaniu etiologii i patomechanizmu chorób genetycznie uwarunkowanych.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Moja pozostała aktywność naukowo-badawcza związana była również z zagadnieniami z zakresu genetyki człowieka oraz wykorzystaniu nowoczesnych technik biologii molekularnej w celu identyfikacji przyczyn chorób genetycznych.

Moje pierwsze badania naukowe przeprowadzone w Zakładzie Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka dotyczyły wdrożenia oraz oceny przydatności metody porównawczej hybrydyzacji genomowej o wysokiej rozdzielczości (HR-CGH) do identyfikacji aberracji chromosomowych, u pacjentów u których nie stwierdzono nieprawidłowości w klasycznej ocenie kariotypu. Jednak metoda ta ze względu na swoje ograniczenia oraz wciąż dość niską rozdzielczość nie znalazła szerokiego zastosowania diagnostycznego poza laboratoriami onkologicznymi. W roku 2004 wyjechałam do prestiżowego ośrodka Baylor College of Medicine w Houston USA, gdzie zajmowałam się wdrożeniem nowej wówczas techniki, mikromacierzy CGH, do identyfikacji submikroskopowych delecji i duplikacji u pacjentów z niepełnosprawnością intelektualną. Badania te zaowocowały kilkoma publikacjami naukowymi (m.in.: Smyk M, Obersztyn E, **Nowakowska B**, i wsp. Am J Med Genet A. 2007; **Nowakowska B**, i wsp. Am J Med Genet A. 2007; **Nowakowska B**, i wsp. Am J Med Genet A. 2008; Smyk M, Obersztyn E, **Nowakowska B**, i wsp. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2008, **Nowakowska BA**, i wsp. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2010). Stanowiły również podstawę mojej rozprawy doktorskiej pt. "Ocena przydatności molekularnych metod analizy kariotypu (HR-CGH i CGH do mikromacierzy) w specyficznych przypadkach klinicznych nie wyjaśnionych metodami cytogenetyki konwencjonalnej", obronionej z wyróżnieniem w 2009 roku. Kolejnym etapem mojej ścieżki naukowej był dwupółletni staż podoktorski (lata 2010-2012) odbyty w Centrum Genetyki Człowieka, Katolickiego Uniwersytetu w Leuven w Belgii. Lata te to początki techniki sekwencjonowania wysokoprzepustowego (NGS), która zrewolucjonizowała genetykę medyczną na świecie. Podczas mojej pracy na Uniwersytecie w Leuven odpowiedzialna byłam za wdrażanie metody NGS, opracowanie algorytmów postępowania z danymi otrzymanymi z sekwencjonowania oraz za prowadzenie projektu wykorzystującego tę metodę do poszukiwania

przyczyny Zespołu Nicolaides-Baraitser (Van Houdt JK, **Nowakowska BA* (equally contributed)**, i wsp. Nat Genet. 2012).

W lipcu 2012 roku wróciłam do Zakładu Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie, gdzie objęłam stanowisko kierownika Zespołu Pracowni Cytogenetyki. Obecnie staram się rozwijać dwa nurty badań w naszej Pracowni. Pierwszy dotyczy zastosowania metody aCGH, a obecnie i techniki sekwencjonowanie całoeksomowego, w diagnostyce prenatalnej. Drugi temat dotyczy badania przyczyn różnorodności fenotypowej pacjentów z Zespołem Delecji 22q11 (m.in. McDonald-McGinn DM, Fahiminiya S, Revil T, Nowakowska BA, i wsp. J Med Genet. 2013 Hestand MS, Nowakowska BA, i wsp. Hum Genome Var. 2016). Tematem Delecji 22q11 zajęłam się również jako założyciel Stowarzyszenia Rodziców Dzieci z Zespołem Delecji 22q11 i od 2013 co roku w międzynarodowy Dzień Świadomości o Zespole 22q11 organizuję spotkania Rodzin. Dodatkowo prowadzę wykłady edukacyjne dla osób pracujących z dziećmi z Zespołem Delecji 22q11, organizuję przyjazdy specjalistów z ośrodków zagranicznych, przygotowuję materiały dla specjalistów (np. E Radkowska, B Nowakowska. Rola logopedy we wspomaganiu rozwoju mowy pacjenta z zespołem delecji 22q11. Forum Logopedy nr 17, styczeń / luty 2017, skrypt dla nauczycieli i pedagogów w przygotowaniu).

Beata Nowakowska

