

## **Streszczenie**

### **Wstęp**

Po roku 2000 niezwykle szybko rozwinęły się różnorodne wielkoprzepustowe techniki sekwencjonowania DNA (sekwencjonowanie nowej generacji, NGS). Możliwe stało się, przy stosunkowo niewielkim koszcie, sekwencjonowanie wszystkich regionów kodujących genomu (tak zwanego egzomu). Dzięki tak szybkiemu postępowi badań w przeciągu dekady odkryto warianty genetyczne, odpowiadające za ponad 500 schorzeń, dziedziczonych w sposób Mendelowski. Otwartą kwestią pozostaje natomiast wykorzystanie NGS przy badaniu podłoża genetycznego chorób o złożonej etiologii i podłożu genetycznym.

### **Cel i zakres pracy**

Celem pracy było opracowanie metod bioinformatycznych i statystycznych, które umożliwiłyby analizę wyników z sekwencjonowania egzomów, przeprowadzonego na trzech grupach pacjentów: z cholestazycznymi chorobami wątroby, z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit (NZJ) oraz z macroAST.

### **Materialy i metody**

Zsekwencjonowane zostały 3 grupy pacjentów: 6 osób (wraz z rodzinami) z cholestazycznymi chorobami wątroby, 88 chorych z NZJ oraz 32 pacjentów z macroAST wraz z jedną pełną rodziną. Sekwencjonowanie przeprowadzono na aparacie Ion Torrent Proton z wykorzystaniem odczynników z zestawu IC200. Identyfikacja wariantów w genomie odbyła się przy pomocy programu Torrent Variant Caller, a w celu określenia podłoża genetycznego wykorzystano różnorodne metody statystyczne – między innymi identyfikację wariantów homozygotycznych recesywnych, a także test Fishera w celu stwierdzenia nadreprezentacji zmian w określonych genach i/lub grupach genów.

### **Wyniki**

W grupie chorych z cholestazycznymi chorobami wątroby odkryto rzadkie warianty w genach *ATP8B1* oraz *ABCB11*, wcześniej wiązanych z tego typu schorzeniami. Dodatkowo znaleziono zmiany w genach, związanych z metabolizmem i transportem żółci (*RXRA*, *ABCC4*). Wszystkie te warianty były heterozygotyczne.

W grupie chorych z NZJ stwierdzono nadreprezentację wariantów rzadkich i potencjalnie patogennych u młodych chorych w grupach genów, związanych z układem odpornościowym oraz takich, które wcześniej kojarzono z chorobami zapalnymi jelit.

U pacjentów z macroAST odkryto mutację w genie *GOT1*, występującą u ponad 50% chorych i nieobecną w próbkach kontrolnych.

### **Podsumowanie i wnioski**

W toku badań udało się opracować metody analizy wyników sekwencjonowania egzomów. Dzięki temu ustalono (w różnym stopniu) możliwe podłoże genetyczne trzech odrębnych przypadków chorób złożonych.

## Summary

### Introduction

From year 2000 onwards a rapid development of new, high throughput sequencing technologies has been observed (the so-called NGS, next-generation sequencing). Owing to this advancement, cost-effective sequencing of whole coding part of genome (exome) has been made possible. This led to discovery of more than 500 genes responsible of monogenic diseases in the last decade. However, the extent of whole-exome sequencing's (WES) usability in discovery of genetic background of complex diseases is yet to be established.

### The aim and scope of this work

The purpose of this work was to establish bioinformatics and biostatistics methods to analyze the results of WES, conducted of three groups of patients: with cholestatic liver disease, with inflammatory bowel diseases (IBD) and with macroAST.

### Materials and methods

3 groups of patients have been sequenced: 6 people (with families) with cryptogenic cholestasis, 88 patients with IBD and 32 patients with macroAST along with one full family. Sequencing was conducted on Ion Torrent Proton with IC200 chemistry. Variant identification was performed with Torrent Variant Caller. Various statistical methods were applied to define the genetic background, including homozygous recessive variant identification and Fisher's exact test to identify overrepresentation of genetic changes in specific genes/groups of genes.

### Results

In the group of patients affected with cholestatic liver disease, rare variants within genes *ABCB11* and *ATP8B1* (previously associated with this type of disease) were uncovered. In addition, variants in genes associated with bile transport and metabolism were discovered. All variants were heterozygous.

In the group of patients with IBD, overrepresentation of rare, possibly pathogenic variants was discovered in young cases in comparison with adults. It was observed in genes, connected with immune system and previously associated with IBDs.

In patients with macroAST, a rare variant in *GOT1* gene was present in more than half of them. This variants was absent in control samples.

### **Conclusions**

During the course of work, the protocols to analyze whole-exome sequencing were established. This allowed to uncover genetic background (to various extent) in three different examples of complex diseases.