

Praca poglądowa • Review Article

Zasady diagnostyki molekularnej w chorobie Pelizaeusa-Merzbachera

Principle of Pelizaeus-Merzbacher disease molecular diagnostics

Dorota Hoffman-Zacharska

Zakład Genetyki Medycznej, Instytut Matki i Dziecka, Warszawa

Streszczenie

Choroba Pelizaeusa-Merzbachera (ang. Pelizaeus-Merzbacher Disorder, PMD) jest rzadką genetycznie uwarunkowaną leukodystrofią, dziedziczną, jako cecha recesywna sprzężoną z chromosomem X. Charakteryzuje się zmiennym fenotypem i wraz ze spastyczną paraparezą typu 2 (ang. Spastic Paraplegia 2, SPG2) stanowi spektrum jednostek związanych z mutacjami położonego w locus Xq22.2 genu PLP1. Obecnie, ze względu na obraz kliniczny i wiek zachorowania przyjmuje się podział tych chorób na trzy podstawowe grupy, wrodzoną i klasyczną postać PMD oraz spastyczną paraplegię typu 2. Mutacje genu PLP1 identyfikuje się u około 80% pacjentów z fenotypem odpowiadającym chorobom PLP1-zależnym, z czego u 50% są to rearanżacje genu (duplikacje/delecje) a u 30% mutacje punktowe. Mutacje punktowe stwierdzane są u pacjentów z pełnego spektrum fenotypów, duplikacje genu natomiast głównie u chłopców z klasyczną, ale także wrodzoną postacią PMD. Gen PLP1, ulega ekspresji tylko w centralnym układzie nerwowym, brak jest, więc testów biochemicznych umożliwiających diagnozowanie PMD. Pomimo, że istnieją pewne charakterystyczne cechy kliniczne i radiologiczne dla tej choroby, niejednokrotnie jednostka ta zostaje mylnie zdiagnozowana np., jako mózgowie porażenie dziecięce czy encefalopatia statyczna. Analiza molekularna i/lub cytogenetyczna genu PLP1 jest w chwili obecnej najdokładniejszym testem umożliwiającym weryfikację rozpoznania klinicznego.

Summary

Pelizaeus-Merzbacher disease (PMD) is a rare X-linked recessive leukodystrophy. The disorder is characterized by the variable phenotype and with the spastic paraplegia type 2 (SPG2) built spectrum of disorders caused by mutations in the PLP1 gene in locus Xq22.2. According to the clinical manifestation and the age of onset PLP1-related disorders are categorized as congenital PMD, classical PMD and spastic paraparesis type 2. PLP1 mutations are identified in 80% patients with phenotype of the PLP1-related disorders, 50% have gene duplication/deletion and 30% point mutations. Point mutations are found in patients with the entire phenotypical spectrum, duplications mainly in boys with classical, but also congenital form of disorder. The PLP1 gene is expressed only in central nervous system, and because of that, no biochemical test for PMD is available. Although there are some characteristic clinical and radiological features of PMD, the disease is often enough misdiagnosed as cerebral palsy or static encephalopathy. Molecular and/or cytogenetic analyses of the PLP1 gene are now, the best and more accurate tests available for final diagnosis of PMD.

Słowa kluczowe: choroba Pelizaeusa-Merzbachera, diagnostyka molekularna, leukodystrofia z hipomielinizacją, MLPA, PLP1, PMD, sekwencjonowanie metodą Sanger

Key words: hypomyelinated leukodystrophy, MLPA, molecular diagnostic, Pelizaeus-Merzbacher disease, PLP1, PMD, Sanger sequencing

Wstęp

Choroba Pelizaeusa-Merzbachera (MIM 312080) należy do grupy genetycznie uwarunkowanych leukodystrofii. Klasyfikowana jest, jako z leukodystrofia z hipomielinizacją typu 1 (ang. hypomyelinated leukodystrophy 1, HLD1) o dziedziczeniu sprzężonym z płcią [1, 2, 3]. Pacjenci z PMD charakteryzują się zaburzeniem prawidłowego formowania mieliny

w ośrodkowym układzie nerwowym, a w obrazie klinicznym oczopląsem, spastycznym porażeniem czterokończynowym, ataksją oraz opóźnieniem rozwojowym [1, 2, 4]. Choroba ma charakter postępujący. Biorąc pod uwagę nasilenie objawów klinicznych i wiek wystąpienia, wyróżnia się jej dwie podstawowe formy, rzadziej występującą, wrodzoną PMD (ang. congenital PMD, cnPMD) i klasyczną (ang. classical PMD, clPMD) [1, 3, 4], niekiedy także postać „przejściową” (ang.

transitional) łączącą charakterystykę cnPMD i ciPMD [5]. Podłoże molekularne PMD stanowią mutacje położone w *locus* Xq22.2 genu *PLP1* (MIM 300401) kodującego podstawowy składnik mieliny oligodendrocytów - białko proteolipidu 1 (ang. *proteolipid protein 1*, PLP1). Choroba dziedziczy się jako cecha recesywna, tak, więc chorują tylko hemizygotyczni chłopcy, a kobiety są zazwyczaj bezobjawowymi nosicielkami mutacji [1, 4]. Mutacje genu *PLP1* stanowią przyczynę jeszcze jednej jednostki chorobowej - spastycznej paraplegii typu 2 (MIM 3120290), formy najłagodniejszej pod względem klinicznym [1, 3]. PMD i SPG2 określa się obecnie, jako spektrum chorób związanych z genem *PLP1* (ang. *PLP1-related disorders*) [4], których obraz kliniczny można skorelować z rodzajem mutacji w genie. Zmiany dawki genu *PLP1* (duplikacje o różnym zakresie) identyfikuje się u około 50%, a zmiany w sekwencji u około 30% pacjentów płci męskiej ze zdiagnozowanymi chorobami *PLP1*-zależnymi [1, 3]. W przypadku cnPMD są to głównie mutacje punktowe typu missens (podstawienia niekonserwatywne). Duplikacje genu identyfikuje się głównie u pacjentów z ciPMD, chociaż także w rzadkich przypadkach w cnPMD i SPG2. Rzadko występujące delecje genu stwierdza się u pacjentów z łagodną PMD i SPG2, z którymi współwystępuje neuropatia obwodowa [4]. W przypadkach bardzo ciężkich postaci PMD opisywano również multiplikacje genu *PLP1* (tri- i pentaplikacje), przy czym nie obserwowano zaostżenia obrazu klinicznego powyżej trzech kopii genu [6]. W badaniach diagnostycznych, mutacji w genie *PLP1* nie stwierdza się u około 20% pacjentów klinicznie zakwalifikowanych do badania tego genu. Może to być spowodowane obecnością zmian w obszarach niebranych pod uwagę w rutynowej analizie, jak regiony na 5'- i 3'-końcu genu oraz introny, ale także heterogennością obrazu klinicznego czy podłoża genetycznego leukodystrofii z hipomielinizacją, których na podstawie identyfikacji genów sprawczych opisano już 8 postaci [2, 4]. PMD związana jest z nadekspresją lub zaburzeniem funkcji białka PLP1, które ulega ekspresji tylko w centralnym układzie nerwowym, brak jest, więc testów biochemicznych umożliwiających jej diagnozowanie. Pomimo, że istnieją pewne charakterystyczne cechy kliniczne i radiologiczne PMD wymaga różnicowania z innymi jednostkami chorobowymi z grupy leukodystrofii, a szczególnie leukodystrofii z hipomielinizacją [7]. Ostatnio przeprowadzone badania wykazują, że PMD wydaje się być jedną z najczęstszych postaci dziedzicznych chorób istoty białej u dzieci diagnozowanych metodą neuroobrazowania. Częstość występowania PMD określono na 7,4%, zaraz po leukodystrofii metachromatycznej (8,4%). Przy uwzględnieniu płci pacjentów, diagnoza PMD była najczęstsza i dotyczyła 13% badanych chłopców [8].

Celem pracy jest przedstawienie zasad analizy diagnostycznej w identyfikacji mutacji genu *PLP1*, u chorych z rozpoznaniem PMD.

Testy genetyczne w PMD

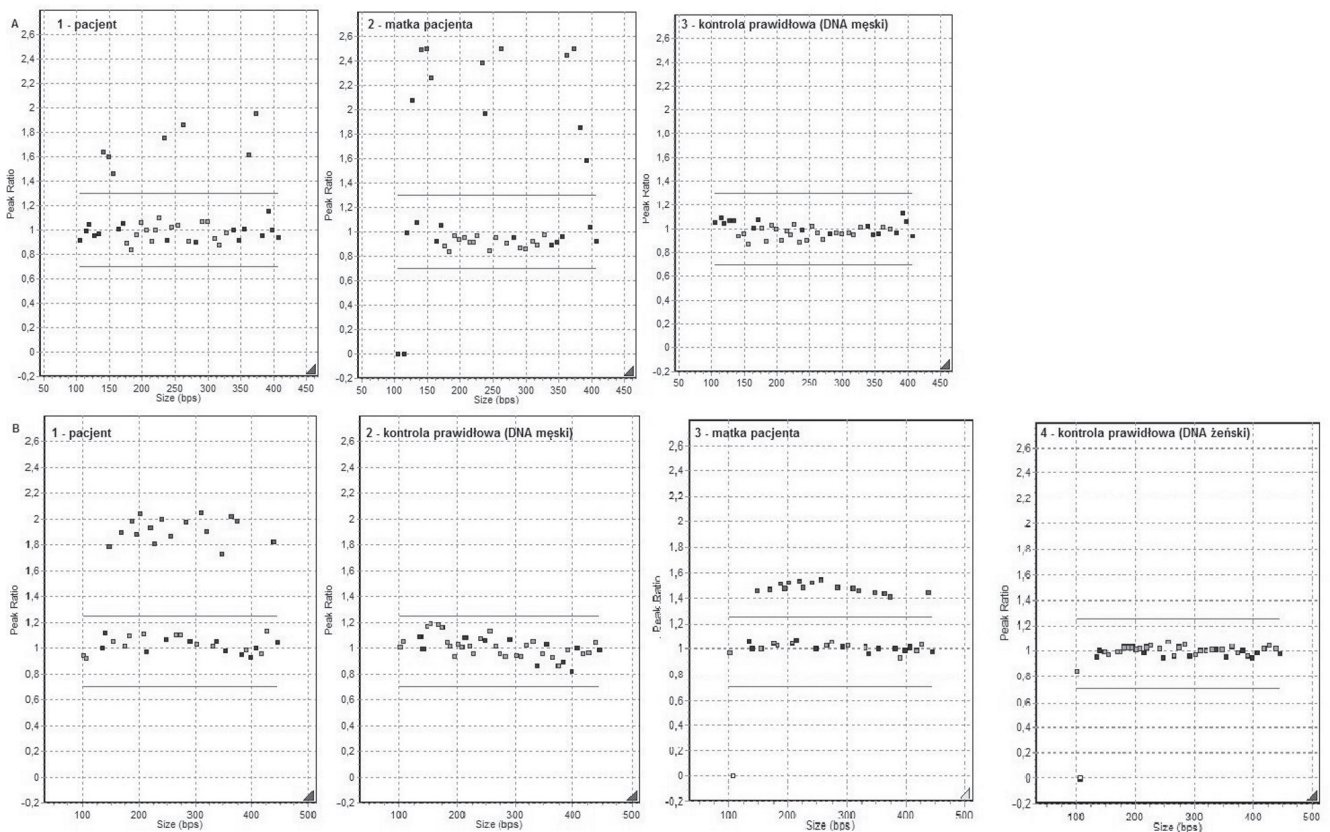
W przypadku podejrzenia PMD u pacjenta płci męskiej pierwszym etapem diagnostyki molekularnej jest przeprowadzenie analizy pod kątem duplikacji genu, jako że ten typ mutacji dominuje wśród pacjentów (około 50%) głównie w ciPMD, ale także i w innych postaciach choroby. Test umożliwia również na wykrycie rzadko występujących (<2%) delecji. W chwili obecnej w identyfikacji zmian typu delecje/duplikacje wykorzystuje się szereg metod jak: PCR w czasie rzeczywistym (ang. *real time PCR*; RT-PCR), multipleksowa amplifikacja sond zależna od ligacji (ang. *Multiplex Ligation Probe Amplification*; MPLA), porównawcza hybrydyzacja genomowa do mikromacierzy (ang. *Array Comparative Genomic Hybridization*, aCGH) czy fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (ang. *fluorescent in situ hybridization*, FISH). Wszystkie z wymienionych powyżej metod pozwalają na wykrycie zaburzenia liczby kopii genu. Jedynie metoda FISH umożliwia dodatkowo stwierdzenie, czy duplikacja jest tandemowa w obrębie chromosomu X czy zaszła w innym miejscu w genomie. Zakres rearanżacji możliwy jest do ustalenia przy zastosowaniu metody aCGH, jednak pod warunkiem gęstego pokrycia badanego obszaru sondami (mikromacierze oligonukleotydowe). Czy duplikacja/delecja obejmuje tylko gen *PLP1* czy również inne obszary *locus* Xq22.2 możliwe jest do ustalenia przy zastosowaniu zestawu do MLPA, jeżeli zawiera on sondy obejmujące ten region chromosomu X. Jeżeli u pacjenta nie zostanie zidentyfikowana duplikacja lub delecja genu *PLP1*, następnym etapem diagnostyki jest przeprowadzenie sekwencjonowania regionu kodującego genu *PLP1*. Mutacje punktowe identyfikuje się u około 25% pacjentów spełniających kryteria kliniczne PMD [9]. U pacjentów, u których nie zidentyfikowano mutacji w genie *PLP1* kolejnym etapem badań, może być przeprowadzenie analizy genu *GCJ2* (MIM 608803). Mutacje tego genu stanowią podłoże leukodystrofii z hipomielinizacją typu 2 (HLD2, MIM 608604), określanej również, jako choroba podobna do PMD typu 1 (ang. *Pelizaeus-Merzbacher like disease 1*, PMLD-1). Mutacje w genie *GCJ2* identyfikuje się u około 8% *PLP1*-negatywnych pacjentów z PMD [9].

1. Identyfikacja mutacji w genie *PLP1*

W Zakładzie Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie diagnostyka PMD prowadzona jest od 2009 roku. Standardowo analiza DNA przeprowadzana jest w dwóch etapach: analiza duplikacji/delecji genu *PLP1* metodą MLPA oraz analiza sekwencji kodującej genu.

1.1 Analiza duplikacji/delecji genu *PLP1*

W chwili obecnej dostępne są dwa zestawy sond MLPA [MRC-Holland b.v., <http://www.mrc-holland.com>] umożliwiające analizę genu *PLP1*, P071 LMNB1, PLP1, NOTCH3 oraz P022 PLP1(Ryc.1). W obu zestawach znajdują się sondy wiążące się w obszarach eksonów genu *PLP1*, a zmodyfikowany ostatnio zestaw P022 (od serii P022-B1) zawiera ponadto dodatkowych 20 sond z regionu Xq22.2 identyfi-



Rycina 1. Identyfikacja duplikacji genu *PLP1* u pacjenta płci męskiej z cPMD oraz potwierdzenie nosicielstwa mutacji u jego matki z zastosowaniem metody MLPA.

Przedstawiono wynik analizy przeprowadzonej z wykorzystaniem oprogramowania Gene Marker v1.5.1 (SoftGenetics LLC). W analizie zastosowano algorytm MLPA Ratio i metodę normalizacji populacyjnej, wartości graniczne dla delecji i duplikacji ustalono odpowiednio powyżej 1.25 i poniżej 0.75. Na wykresach każdy punkt odpowiada sondom dla badanych fragmentów DNA położenie punktów pomiędzy wartościami granicznymi odpowiada normie, powyżej duplikacji fragmentu DNA, poniżej delecji. Położenie punktów na osi zero, świadczy o braku sekwencji rozpoznawanej przez daną sondę, w danym przypadku jest to brak sekwencji pochodzącej z chromosomu Y u osoby płci żeńskiej.

Przedstawiono wykresy normalizacji danych dla pacjenta (A.1, B.1) oraz jego matki (A.2 i B.3). Wszystkie analizy przeprowadzono względem próbek kontrolnych; w panelu A DNA zdrowej osoby płci męskiej (A.3), w panelu B gdzie badanym jest pacjent oraz matka pacjenta DNA osoby zdrowej płci męskiej (B.2) i DNA osoby płci żeńskiej (B.4).

Panel A. Diagnostyka przeprowadzona z zastosowaniem zestawu P071 zawierającego sondy dla wszystkich eksonów genu *PLP1*, innych genów związanych z leukodystrofiami o dziedziczeniu autosomalnym oraz sondy kontrolne dla chromosomów autosomalnych. A.1-pacjent; identyfikacja duplikacji wszystkich eksonów genu *PLP1* u probanta (lokalizacja punktów odpowiadających sondom dla tego genu powyżej wartości granicznej). A.2- matka pacjenta; potwierdzenie nosicielstwa duplikacji u matki probanta, dodatkowe 4 sondy powyżej wartości granicznej pochodzą z loci na chromosomie X, dwa punkty na poziomie osi 0, brak hybrydyzacji dla sond pochodzących z chromosomu Y.

W obu przypadkach sondy dla innych genów i sondy kontrolne położone są w granicach wyznaczających normę liczby kopii).

Panel B. Diagnostyka przeprowadzona dla tych samych osób (B.1 probant i B.3 matka probanta) z zastosowaniem zestawu P022-B1 zawierającego tylko sondy dla chromosomu X, oraz sondę identyfikującą chromosom Y. U probanta i jego matki położenie punktów odpowiadających eksonom genu *PLP1* oraz innym sondom z regionu Xq22.2 wskazuje na duplikację fragmentu w tym locus. Położenie punktów w zakresie 0.75 -1.25 dla innych sond świadczy o prawidłowej liczbie kopii DNA w pozostałych rejonach chromosomu X.

Wyznaczona metodą MLPA duplikacja obejmowała fragment o wielkości, co najmniej 740 tys. pz. Przeprowadzona analiza metodą aCGH dla chromosomu X wykazała, że u probanta duplikacji uległ fragment o wielkości 995 tys. pz w rejonie Xq22.2 (dane nie publikowane, opis przypadku Mądry i wsp. 2010 [18]).

kowanego w duplikacjach pacjentów z PMD [10]. Sondy w zestawach P071 i P022 wiążą się z innymi sekwencje genu *PLP1* tak, więc, można je wykorzystywać, jako wzajemną kontrolę doświadczenia. Stosowanie zestawu sond P022 umożliwi stwierdzenie, czy u pacjenta mutacja dotyczy samego genu, czy większego obszaru na chromosomie X. Należy pamiętać jednak, że w cPMD w odniesieniu do duplikacji w rejonie Xq22.2 nie stwierdza się korelacji między ich wielkością a ciężkością fenotypu [10]. Zakres duplikacji, a także jej struktura mogą być istotne w przypadku cięż-

szych fenotypów jak np. cnPMD. Ostatnie badania wykazują, że oba te czynniki mają wpływ na penetrację mutacji u kobiet nosicielek. W przypadku duplikacji o wielkości <8 Mb nosicielki są bezobjawowe [10], natomiast duplikacje większe ~11 Mb [11], >20 Mb [12] stwierdza się u nosicielek objawowych.

1.2 Identyfikacja mutacji punktowych genu *PLP1*.

Analiza sekwencji genu *PLP1*, przeprowadzana jest, jako badanie drugiego rzutu u pacjentów, u których nie wykryto rearanżacji

geny. Analiza obejmuje wszystkie eksony i sekwencje na styku ekson/intron. Mutacje punktowe identyfikowane w genie *PLP1* to zarówno kilkunukleotydowe insercje/delecje, mutacje typu missens, nonsens jak i zaburzające proces składania genu. Mutacje rozmieszczone są wzdłuż całego genu bez tzw. „miejsc gorących” (ang. *hot-spots*). Sekwencjonowanie genu (metoda Sanger) obejmuje, więc równoległą analizę wszystkich eksonów oraz rejonów na stykach ekson/intron w oparciu o amplifikację z zastosowaniem starterów intronowych (Tab. I; wg. Osaka i wsp. [13]).

3. Analiza molekularna

Sekwencja białka PLP1 jest wysoko konserwowana wśród ssaków i można się spodziewać, że każda zmiana tej sekwencji będzie patogenna. Do chwili obecnej opisano około 100 różnych mutacji punktowych genu *PLP1* (HGMD <http://www.hgmd.cf.ac.uk>). PMD o najcięższym przebiegu powodują zazwyczaj mutacje typu missens (szczególnie w przypadku substytucji aminokwasów niekonserwatywnych) jak również inne zmiany punktowe czy typu indel (małe insercje/delecje). Podłoże łagodniejszej formy SPG2, również stanowią mutacje punktowe, lecz dotyczące mniej krytycznych regionów białka - zazwyczaj są to konserwatywne substytucje aminokwasowe. Brak jest jasnej korelacji pomiędzy lokalizacją mutacji a fenotypem, chociaż zmiany w obrębie rejonu specyficznego dla białka PLP1, aminokwasy 117-151, których brak w formie DM20 powstającej w wyniku alternatywnego składania genu, identyfikuje się tylko w łagodniejszych postaciach choroby [14]. Jako, że znane są również zmiany typu missens niekorelujące z żadnym fenotypem chorobowym, wskazuje to na istnienie potencjalnie tolerowanych - niepatogennych zmian w sekwencji kodującej genu. Dlatego też bardzo istotna jest wnikliwa analiza

identyfikowanych, nowych zmian typu missens, szczególnie przy braku wywiadu rodzinnego i możliwości przeprowadzenia analizy kosekwerencji, ale także, gdy zidentyfikowana mutacja ma charakter *de novo*. W interpretacji patogennego efektu mutacji pomocne mogą być narzędzia bioinformatyczne (np. PolyPhen2; genetics.bwh.harvard.edu/pph2, MutationTaster www.mutationtaster.org), ale także konieczna jest wnikliwa weryfikacja danych klinicznych i neuroobrazowych [15, 16].

4. Różnicowanie

Badania molekularne w kierunku identyfikacji mutacji genu *PLP1* są w chwili obecnej badaniem rozstrzygającym i potwierdzającym rozpoznanie kliniczne choroby Pelizaeusa-Merzbachera, o ile mutacja patogenna zostanie zidentyfikowana. W przypadku 20% pacjentów z klinicznie rozpoznaną PMD nie identyfikuje się mutacji w genie *PLP1*. W przypadku tych pacjentów, po szczegółowej analizie fenotypu i wywiadu rodzinnego możliwe jest rozważenie badań molekularnych obejmujących inne, wciąż nowo identyfikowane geny, których mutacje stanowią podłoże różnych postaci leukodystrofii z hipomielinizacją [2, 4]. W pierwszej kolejności należy rozważyć badanie w kierunku PMDL1 - leukodystrofii z hipomielinizacją, o sposobie dziedziczenia autosomalnym recesywnym (HDL2, mutacje w genie *GJC2*; MIM 608804, 608803) czy charakteryzującego się hipomielinizacją i dziedziczony w sposób recesywny, sprzężony z płcią zespół Allana-Herndona i Dudleya (AHDS, mutacje w genie *SLC16A2*; MIM 300523, 300095). Diagnostyka różnicowa PMD obejmuje ponadto szereg innych jednostek, w tym chorobę Krabbego, chorobę Canavana, leukodystrofię metachromatyczną, chorobę Aleksandra, rodzinną spastyczną paraplegię czy porażenie mózgowie [7].

Tabela I. Sekwencje starterów stosowanych w amplifikacji poszczególnych eksonów genu *PLP1*.

W tabeli zaznaczono temperatury przyłączania poszczególnych par starterów, oraz wielkości uzyskiwanych produktów (zmodyfikowany wg. Osaka i wsp., 1999 [13]).

Ekson	Starter	Sekwencja startera	dł. produktu (pz)	temp. przyłączania
Obszar 5' przed genem	PM-US PM-UA	GCTGCATATCCACCAATT GGCTGGCTAGTCTGCTTTGTG	438	60°C
Ex1	PM-1A	CAGTCAAAGGCAGAAAGAGA	351	58°C
	PM-1A	CTGTGTCCTCTTGAATCTTC		
Ex2	PM-2A	TAC TACTGGATTGCCTGA	296	58°C
	PM-2B	TCTCTATCTCCAGGATGGAG		
Ex3	PM-3A	AGATTCCCTGGTCTCGTTTG TCTTCCTGACCT-	435	58°C
	PM-3B	TCTCGTTC		
Ex4	PM-4A	CATCTGCAGGCTGATGCTGAAGTGGGTAGGA-	258	58°C
	PM-4B	GAGCCAAAG		
Ex5	PM-5A PM-5B	TAGAGATGGAAGAAGGGCTC AGGCACACTTAGC- CAACATG	315	58°C
Ex6	PM-6A	AAAGATATCAACACATTCAG TCAAGGATGGAAG-	277	58°C
	PM-6B	CAGTCTA		
Ex7	PM-7A PM-7B	ATCGGACTTCCAGTCAAGTG TGTGGTTA- GAGCCTCGCTAT	305	58°C

Dyskusja

Analiza molekularna i/lub cytogenetyczna genu *PLP1* jest najdokładniejszym testem pozwalającym, w 80% przypadków, na potwierdzenie rozpoznania klinicznego choroby. W chwili obecnej nie ma leczenia przyczynowego dla pacjentów z PMD. Przy braku terapii dla tak ciężkiego schorzenia badania molekularne dają ponadto możliwość objęcia pacjenta i jego rodziny pełnym poradnictwem genetycznym.

Jeżeli PMD podejrzewana jest u pacjenta płci męskiej pierwszym etapem badań, niezależnie od postaci choroby jest przeprowadzenie testu pod kątem obecności duplikacji genu. Z szeregu dostępnych metod zastosowanie techniki MLPA jest stosunkowo najszybsze i najtańsze. Zastosowanie zestawu dedykowanego diagnostyce PMD - SALSA P022, umożliwia dodatkowo ocenę czy mutacja dotyczy genu czy większego obszaru *locus* Xq22.2. W rutynowej diagnostyce nie jest jednak niezbędne oznaczenie zakresu duplikacji obejmującej gen *PLP1*, gdyż tego typu informacja nie ma znaczenia predykcyjnego (szczególnie w przypadku najczęstszej cIPMD). Przy braku identyfikacji duplikacji/delecji genu *PLP1*, kolejnym etapem badań diagnostycznych jest analiza pod kątem obecności mutacji punktowych w genie. U pacjentów ze stwierdzoną SPG2 jest to natomiast test wykonywany w pierwszej kolejności.

Identyfikacja mutacji w genie *PLP1* u pacjenta pozwala na określenie statusu nosicielstwa u jego matki, a także innych krewnych płci żeńskiej. Jeżeli mutacja ma charakter *de novo*, należy brać pod uwagę problem ewentualnej mozaikowości germinalnej u matki probanta.

PMD dziedziczy się w sposób recesywny tak, więc kobiety są zazwyczaj bezobjawowymi nosicielkami mutacji w genie *PLP1*. Objawy neurologiczne obserwowane są jednak czasami u nosicieli, pochodzących z rodzin, w których wystąpiły już przypadki PMD u chłopców. Badania przeprowadzone przez Hurst i wsp. [17] wskazują, że objawy występują częściej u kobiet z rodzin z łagodniejszą postacią PMD, natomiast mutacje powodujące ciężką postać choroby zdecydowanie rzadziej są przyczyną objawowego nosicielstwa. Wiązane jest to również z typem mutacji, największe ryzyko wystąpienia choroby u kobiet dotyczy mutacji punktowych nonsens/indeli lub mutacji null, zmiany typu missens powodują natomiast mniejsze ryzyko zachorowania. Najniższe ryzyko objawowego nosicielstwa występuje w przypadkach najczęstszych mutacji, czyli duplikacji genu *PLP1* [17].

Potwierdzenie molekularne rozpoznania klinicznego PMD/SPG2 włącza probanta i jego rodzinę w proces poradnictwa genetycznego. W chwili obecnej jednakże pełne poradnictwo powinno dotyczyć nie tylko problemu ryzyka zachorowania u chłopców, ale objawowego nosicielstwa u kobiet w kontekście typu zidentyfikowanej mutacji oraz ciężkości obrazu klinicznego u probanta. Identyfikacja konkretnej mutacji w genie *PLP1*, pozwala nie tylko na analizę nosicielstwa u kobiet, ale w konsekwencji, w sytuacji jego potwierdzenia pozwala zaproponować badanie prenatalne lub diagnostykę

preimplantacyjną, w przypadku planów prokreacyjnych badanej.

Projekt finansowany z funduszy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego NN 401130436.

Piśmiennictwo:

1. Inoue K. *PLP1*-related inherited dysmyelinating disorders: Pelizaeus-Merzbacher disease and spastic paraplegia type 2. *Neurogenetics* 2005; 6(1): 1-16.
2. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), {23.06.2013}. World Wide Web URL: <http://omim.org>
3. Hudson LD. Pelizaeus-Merzbacher disease and spastic paraplegia type 2: two faces of myelin loss from mutations in the same gene. *J Child Neurol* 2003; 18: 616-624.
4. Hobson GM, Kamholz J. *PLP1*-Related Disorders. 1999 Jun 15 [Updated 2013 Feb 28]. In: Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. *GeneReviews™* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1182/>
5. Scheffer IE, Baraitser M, Wilson J et al. Pelizaeus-Merzbacher disease: classical or connatal? *Neuropediatrics* 1991; 22(2): 71-78.
6. Wolf NI, Siermans EA, Cundall M, et al. Three or more copies of the proteolipid protein gene *PLP1* cause severe Pelizaeus-Merzbacher disease. *Brain* 2005; 128: 743-751.
7. Hobson GM, Garbern JY. Pelizaeus-Merzbacher disease, Pelizaeus-Merzbacher-like disease 1, and related hypomyelinating disorders. *Semin Neurol* 2012; 32(1): 62-67.
8. Bonkowsky JL, Nelson C, Kingston J, et al. The burden of inherited leukodystrophies in children. *Neurology* 2010; 75(8): 718-725.
9. Henneke M, Gegner S, Hahn A, et al. Clinical neurophysiology in *GJA12*-related hypomyelination vs Pelizaeus-Merzbacher disease. *Neurology* 2010; 74(22): 1785-1789.
10. Shimojima K, Inoue T, Hoshino A, et al. Comprehensive genetic analyses of *PLP1* in patients with Pelizaeus-Merzbacher disease applied by array-CGH and fiber-FISH analyses identified new mutations and variable sizes of duplications. *Brain Dev* 2010; 32: 171-179.
11. Carvalho CM, Bartnik M, Pehlivan D, et al. Evidence for disease penetrance relating to CNV size: Pelizaeus-Merzbacher disease in manifesting carriers with a familial 11 Mb duplication at Xq22. *Clin Genet* 2012; Jun; 81(6): 532-541.
12. Carrozzo R, Arrigo G, Rossi E, et al. Multiple congenital anomalies, brain hypomyelination, and ocular albinism in a female with dup(X) (pter-->q24::q21.32-->qter) and random X inactivation. *Am J Med Genet* 1997; 72(3): 329-334.
13. Osaka H, Kawanishi C, Inoue K, et al. Pelizaeus-Merzbacher disease: Three novel mutations and implication for heterogeneity. *Ann Neurol* 1999; 45(1): 59-64.
14. Cailloux F, Gauthier-Barichard F, Mimault C, et al. Genotype-phenotype correlation in inherited brain myelination defects due to proteolipid protein gene mutations. *Clinical European Network on Brain Dysmyelinating Disease*. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 837-845.
15. Kibe T, Miyahara J, Yokochi K, et al. A novel *PLP1* mutation in a Japanese patient with mild Pelizaeus-Merzbacher disease. *Brain Dev* 2009; 31(3): 248-251.
16. Hoffman-Zacharska D, Kmieć T, Poznański J, et al. Mutations in the *PLP1* gene residue p. Gly198 as the molecular basis of Pelizaeus-Merzbacher phenotype. *Brain Dev* 2012 Dec 13. doi:pii: S0387-7604(12)00276-8.10.1016/j.braindev.2012.10.018. [Epub ahead of print]

17. Hurst S, Garbern J, Trepanier A, et al. Quantifying the carrier female phenotype in Pelizaeus-Merzbacher disease. *Genet Med* 2006; 371-8.
18. Mądry J, Hoffman-Zacharska D, Królicki L, et al. *PLP1* gene duplication as a cause of the classic form of Pelizaeus-Merzbacher disease – case report. *Neurol Neurochir Pol* 2010; 44(5): 511-5.

Adres do korespondencji:

Dr n. biol. Dorota Hoffman-Zacharska
Zakład Genetyki Medycznej
Instytut Matki i Dziecka
01-211 Warszawa, Kasprzaka 17A
Tel. 0048 22 3277313
E-mail: dhoffman@wp.pl

Zaakceptowano do publikacji: 20.08.2013