

(24)

Trudny technicznie, ważny diagnostycznie – ekson ORF15 genu *RPGR* w zwyrodnieniu barwnikowym siatkówki

ORF15 exon of the RPGR gene in retinitis pigmentosa – technically difficult, diagnostically important

Monika Ołdak^{1,2}, Ewelina Ruszkowska^{1,2,3}, Sylwia Siwiec^{1,2}, Agnieszka Pollak¹, Piotr Stawiński¹, Kamil Szulborski⁴, Jacek P. Szaflik^{4,5}

¹ Zakład Genetyki, Instytut Fizjologii i Patologii Słuchu w Warszawie
Kierownik: dr hab. n. med. Monika Ołdak

² Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Centrum Biostruktury, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jacek Malejczyk

³ Studium Medycyny Molekularnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Kierownik naukowy: prof. dr hab. n. med. Bożena Kamińska-Kaczmarek

⁴ Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny w Warszawie

⁵ Katedra i Klinika Okulistyki II Wydziału Lekarskiego, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jacek P. Szaflik

Streszczenie:

Celem pracy jest identyfikacja podłoża genetycznego zwyrodnienia barwnikowego siatkówki w polskiej rodzinie, w której wcześniej wykluczono udział większości znanych genów związanych z chorobą oprócz eksonu ORF15 genu *RPGR* (Xp21.1). ORF15 to region DNA trudny do analizy z uwagi na powtarzalne fragmenty sekwencji, wysoką zawartość zasad purynowych i dużą liczbę wariantów polimorficznych. Materiał do badań stanowiło genomowe DNA wyizolowane z krwi obwodowej od członków badanej rodziny (n=9). Ekson ORF15 amplifikowano w reakcji łańcuchowej polimerazy do długich matryc i sekwencjonowano metodą następnej generacji. Wykrytą zmianę potwierdzano poprzez bezpośrednie sekwencjonowanie metodą Sanger'a ampliconu obejmującego miejsce mutacji. W obszarze ORF15 wykryto delecję NM_001034853:c.2899delG (p.E967Kfs*122), która w pełni segregowała z chorobą w badanej rodzinie. Zidentyfikowana zmiana ma charakter patogenny i już wcześniej powiązano ją z występowaniem zwyrodnienia barwnikowego siatkówki. Szacuje się, że ponad połowa mutacji zidentyfikowanych w genie *RPGR* umiejscawia się w obszarze ORF15. W rodzinach, w których podejrzewa się dziedziczenie zwyrodnienia barwnikowego siatkówki sprzężone z chromosomem X, oraz u mężczyzn z negatywnym wywiadem rodzinnym w kierunku tej choroby badania genetyczne należy rozpoczynać od poszukiwania mutacji w ORF15.

Słowa kluczowe:

zwyrodnienie barwnikowe siatkówki (Retinitis Pigmentosa – RP), autosomalne dominujące, sprzężone z X, *RPGR*, ORF15.

Summary:

The aim of the study was to identify the genetic background of retinitis pigmentosa in a Polish family with previously excluded involvement of the majority of known genes for this disease, except for the ORF15 exon in the *RPGR* gene (Xp21.1). ORF15 is a highly repetitive, purine-rich DNA region with a number of different polymorphic variants and thus difficult to study. Genomic DNA was isolated from peripheral blood of the family members (n = 9). ORF15 exon was amplified in a long-range polymerase chain reaction and sequenced using the next generation method. Presence of the identified variant was confirmed by direct Sanger sequencing of the amplicon encompassing the mutation. The NM_001034853:c.2899delG (p.E967Kfs*122) mutation was detected in the ORF15 region. It completely segregated with the disease in the studied family. The identified alteration is pathogenic and has already been found to cause retinitis pigmentosa. It is estimated that more than a half of *RPGR* mutations are located in the ORF15 region. In families with a suspected X-linked inheritance of retinitis pigmentosa and in males with a negative family history of the disease, genetic tests should begin with an analysis of the ORF15.

Key words:

Retinitis pigmentosa (RP), autosomal dominant, X-linked, *RPGR*, ORF15.

1. Wstęp

Zwyrodnienie barwnikowe siatkówki (RP, ang. Retinitis Pigmentosa) jest postępującą, degeneracyjną chorobą siatkówki o podłożu genetycznym, której częstość występowania ocenia się na 1: 4000 w populacji ogólnej (1). We wczesnej fazie RP

u pacjentów występuje zwykle upośledzenie widzenia zmierzającego, do którego stopniowo dołącza postępująca utrata widzenia obwodowego prowadząca do zawężenia pola widzenia aż do widzenia lunetowego. W badaniu dna oka typowo stwierdza się zwężenie naczyń tętniczych siatkówki, przegrupowania

barwnika w postaci komórek kostnych i bladą tarczę nerwu wzrokowego (n. II czaszkowego). Na poziomie komórkowym dominuje zajęcie układu pręcikowego, do którego dołącza stopniowe uszkodzenie układu czopkowego (2). Metodą charakteryzującą się dużą czułością w diagnostyce RP jest elektrotretinografia błyskowa (FERG, ang. flash ERG).

Pomimo podobieństwa zmian obserwowanych na dnie oka i wyników badań funkcjonalnych początek RP i jej przebieg mogą znacznie różnić się nawet u członków tej samej rodziny. Klasyfikując RP, wyróżnia się postacie: izolowaną, w której poza siatkówką procesem chorobowym nie są zajęte inne tkanki lub narządy, oraz tzw. postać syndromiczną. W tym przypadku RP jest jedną z cech zespołu genetycznie uwarunkowanego, z których powszechnie znany jest m.in. zespół Ushera. Zwyrodnienie barwnikowe siatkówki charakteryzuje się dużą heterogennością genetyczną i w zależności od podłoża molekularnego może być dziedziczone jak cechy dominująca, recesywna albo sprzężona z chromosomem X. Istnieją również doniesienia o dziedziczeniu sprzężonym z chromosomem Y, mitochondrialnym czy nawet dwugenowym. Badania genetyczne przeprowadzone u chorych na RP pozwoliły na identyfikację ponad 100 różnych genów powiązanych patogenetycznie z tą chorobą (3).

Znaczna heterogenność genetyczna i brak jednego albo kilku wiodących genów odpowiedzialnych za wystąpienie RP niezwykle komplikują proces diagnostyki genetycznej tej choroby. Dopiero od kilku lat dzięki niezwykłemu postępowi technologicznemu diagnostyka genetyczna stała się bardziej kompleksowa, a to istotnie zwiększyło wykrywalność podłoża molekularnego RP u pacjentów. Mikromacierze DNA umożliwiają poszukiwanie znanych, wcześniej opisanych, wariantów genetycznych w grupie wybranych genów powiązanych z tą chorobą. Sekwencjonowanie następnej generacji (ang. Next Generation Sequencing – NGS) natomiast pozwala na poszukiwanie wszystkich zmian genetycznych, które znajdują się w obszarze badanych genów.

W pracy prezentowana jest rodzina chorych na RP, w której szeroko zakrojone badania genetyczne przeprowadzone w ośrodkach zagranicznych wykluczyły mutacje w większości znanych genów związanych z tą chorobą. U probanda wykonano badanie z użyciem trzech mikromacierzy DNA (Asper Biotech and Asper Ophthalmics, Tartu, Estonia) zaprojektowanych do identyfikacji podłoża genetycznego RP w różnych modelach dziedziczenia (autosomalnym dominującym – adRP, autosomalnym recesywnym – arRP, oraz sprzężonym z chromosomem X – xlRP). Analiza wyników badań NGS przeprowadzonych w Baylor College of Medicine (Houston, Teksas, USA) obejmujących panel 66 różnych genów odpowiedzialnych za wystąpienie RP także nie wskazała jednoznacznej przyczyny choroby. Na uwagę zasługuje fakt, że w żadnej z ww. metod diagnostycznych nie uwzględniono eksonu ORF15 genu *RPGR* (ang. Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator, MIM*312610), istotnego w patogenezie RP. W związku z tym celem naszej pracy jest poszerzenie obszaru poszukiwań podłoża genetycznego RP w tej rodzinie o pomiary dotychczas ekson ORF15.

2. Opis przypadku

Badania wykonano zgodnie z zasadami zawartymi w Deklaracji Helsińskiej i uzyskano na nie zgodę Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Badania prowadzono u członków polskiej rodziny (n = 9), w której zdiagnozowano RP w trzech kolejnych pokoleniach. U probanda, obecnie 13-letniego chłopca, w pierwszych miesiącach życia zauważono oczopląs, RP rozpoznano ostatecznie w 9. roku życia. Z powodu obniżonego napięcia mięśniowego opóźniony był rozwój ruchowy i probanda rehabilitowano ruchowo do 8. roku życia. Dodatkowo pomimo prawidłowych wyników badań słuchu u pacjenta wystąpiło opóźnienie rozwoju mowy. U chłopca rozpoznano również nadpobudliwość psychoruchową. Objawy RP występowały nie tylko u probanda, stwierdzono je również u jego matki, dziadka ze strony matki oraz siostry stryjecznej matki, a także u innych, nieżyjących już, członków rodziny.

Diagnostyka okulistyka obejmowała badanie ostrości wzroku, pełne badanie okulistyczne, w tym badanie dna oka, pola widzenia oraz FERG (RETiscan; Roland Consult, Niemcy).

Materiałem do badań genetycznych było DNA wyizolowane standardową metodą makrowysalania z krwi obwodowej. Obszary ORF14 i ORF15 amplifikowano z użyciem starterów 5'-AGAGGCAGAGAGTAAATATTGATGGT-3' oraz 5'-TCTTCTCACTCAGAGAATCAACTGT-3' (długość ampliconu 4383 par zasad (pz)) i sekwencjonowano metodą NGS z wykorzystaniem sekwencjonatora HiSeq1500 (Illumina, San Diego, CA) (4). Do sekwencjonowania ORF15 klasyczną metodą Sangera użyto starterów 5'-AGGAAGGAGAGGAAGGAGAAGGG-3' oraz 5'-ACTGCCATAATCGGGTCACAT-3' (długość ampliconu 724 pz). Szczegółowe warunki przeprowadzonych reakcji są dostępne na życzenie.

3. Wyniki

Charakterystyka kliniczna badanej rodziny

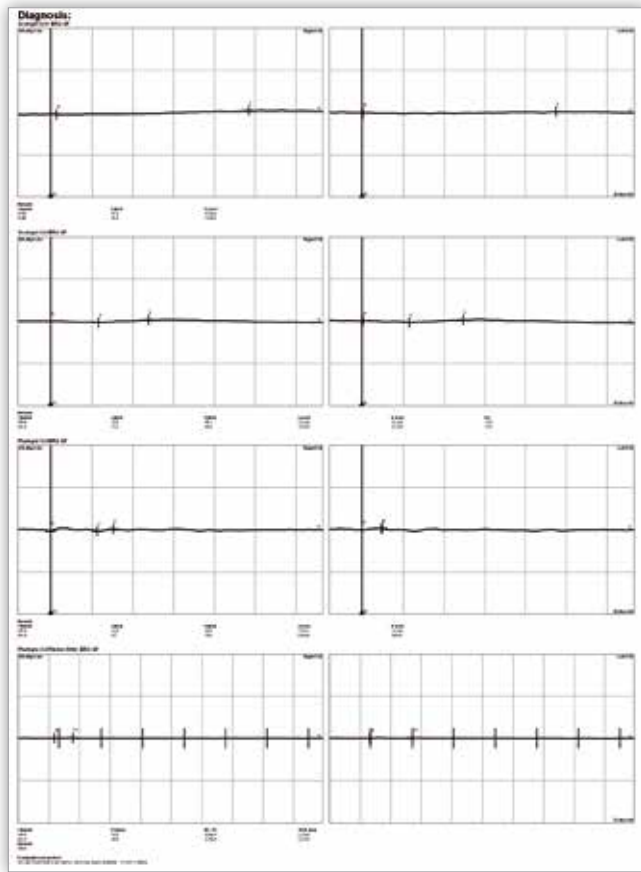
W badanej rodzinie RP występowało zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Początek choroby u mężczyzn był znacznie wcześniejszy, a objawy bardziej nasilone. U probanda i jego dziadka pierwsze objawy choroby wystąpiły w 4. roku życia, a ostateczne rozpoznanie postawiono odpowiednio w 9. i 5. roku życia. U matki chłopca pierwsze objawy RP pojawiły się w 28. roku życia (rozpoznanie w 39. roku życia), a u jej stryjecznej siostry w 22. roku życia (rozpoznanie w 37. roku życia). Ponadto u obu w dzieciństwie rozpoznano również wysoką krótkowzroczność i astygmatyzm.

U matki probanda najlepsza skorygowana ostrość wzroku wynosiła 0,9 i 0,8, odpowiednio w oczach prawym i lewym. W badaniu dna oka zwracały uwagę wąskie naczynia oraz występujące obwodowo komórki kostne. Pole widzenia było tunelowo zawężone. Badaniem FERG potwierdzono rozpoznanie RP (ryc. 1.).

U stryjecznej siostry matki probanda najlepsza skorygowana ostrość wzroku wynosiła 0,5 w obojgu oczach. W badaniu dna oka, poza nieco zwężonymi naczyniami, nie stwierdzono zblednięcia tarczy n. II ani obecności komórek kostnych. Badaniem FERG potwierdzono rozpoznanie RP, uwzględniając przy tym wygląd dna oka, stwierdzono RP *sine pigmento*.

Identyfikacja mutacji w eksonie ORF15

Sekwencjonowanie metodą nowej generacji ampliconu obejmującego ORF15 u matki probanda wykazało obecność



Ryc. 1. Badanie flash ERG u matki probanda. Odpowiedzi pręcikowe, maksymalne, czopkowe i czopkowe na migocący bodziec świetlny, odpowiednio oka prawego (panel lewy) i oka lewego (panel prawy).

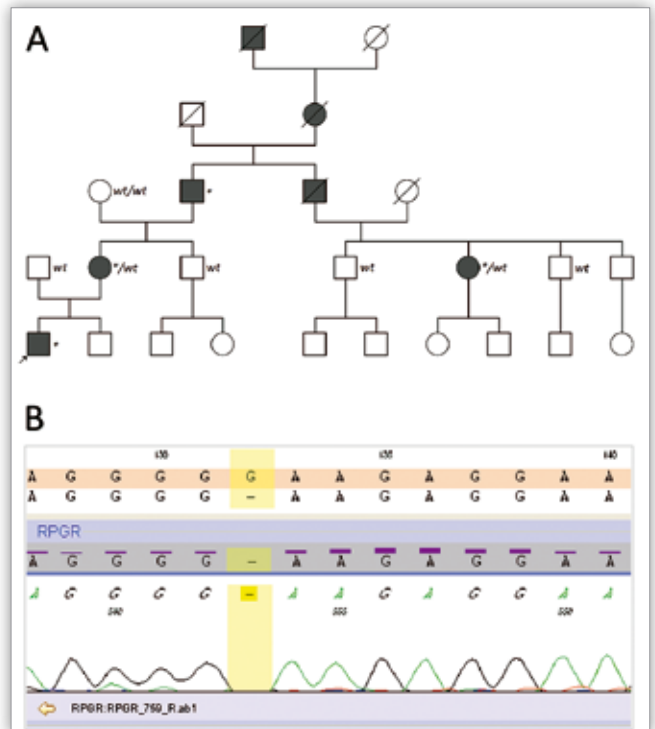
Fig. 1. Flash ERG of patient's mother. Rod, maximal, cone and flicker responses of the right (left panel) and left eye (right panel), respectively.

patogennej mutacji NM_001034853:c.2899delG w postaci heterozygotycznej. Ten wariant wykryto u wszystkich chorych członków rodziny, wykonując sekwencjonowanie fragmentu ORF15 metodą Sangera. Mutacji nie znaleziono u żadnej z badanych zdrowych osób z tej rodziny. W ten sposób potwierdzono pełną segregację znalezionej mutacji z RP w badanej rodzinie (ryc. 2AB).

Zidentyfikowana w ORF15 mutacja jest delecją guaniny w pozycji nukleotydu 2899. sekwencji kodującej *RPGR* (NM_001034853), która prowadzi do zmiany ramki odczytu. W konsekwencji w 967. kodonie białka *RPGR* (NP_001030025.1) dochodzi do zamiany glutaminianu (E, kodon GAA) w lizynę (K, kodon AAG) oraz pojawienia się kodonu stop po translacji kolejnych 122 aminokwasów (p.E967Kfs*122). Skutkuje to modyfikacją 122 aminokwasów końca karboksylowego powstającego z takiej matrycy białka *RPGR* oraz jego skróceniem o ponad 60 aminokwasów.

4. Podsumowanie i wnioski

Analiza rodowodu badanej rodziny, której członkowie są chory na RP, nie pozwalała na jednoznaczne określenie toku dziedziczenia choroby. W związku z tym, że choroba występowała we wszystkich pokoleniach – zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn – uprawnione było twierdzenie, że RP w tej rodzinie dziedziczy



Ryc. 2. Identyfikacja mutacji c.2899delG w obszarze ORF15 genu *RPGR*. A. Segregacja wykrytej mutacji w badanej rodzinie. Kobiety zostały przedstawione w postaci kółek, mężczyźni – kwadratów. Czarne symbole oznaczają osoby z objawami RP, a białe symbole – bez objawów RP. Przekreślone symbole oznaczają osoby zmarłe. Strzałka wskazuje probanda. Mutację c.2899delG wykryto u mężczyzn (*) i kobiet (*wt). Mężczyzn nieposiadających mutacji oznaczono symbolem (wt), a kobiety (wt/wt). B. Delecja guaniny (c.2899delG) w genie *RPGR* została oznaczona kolorem żółtym. Przedstawiono wynik sekwencjonowania metodą Sanger'a obszaru ORF15 u probanda.

Fig. 2. Identification of the c.2899delG mutation in the ORF15 region of *RPGR*. A. Segregation of the detected mutation in the studied family. Females are depicted as circles and males as squares. Individuals presenting with RP symptoms were marked in black, whereas the individuals without RP symptoms were marked with white. The crossed out symbols denote deceased persons. The proband was indicated with an arrow. The ORF15 c.2899delG mutation was detected in males (*) and females (*wt). Males without the c.2899delG mutation are marked with (wt) and females with (wt/wt). B. Deletion of guanine (c.2899delG) in the *RPGR* gene is highlighted in yellow. The results of ORF15 Sanger sequencing in a proband are shown.

się jak cecha autosomalna dominująca. W żadnym z pokoleń nie obserwowano jednak transmisji RP w linii męskiej, tj. z ojca na syna, dlatego nie można było również wykluczyć dziedziczenia sprzężonego z chromosomem X. Dopiero dokładna analiza rodowodu, wieku, w którym wstąpiły objawy choroby, i przebiegu choroby w badanej rodzinie oraz brak patogennej mutacji w badaniach genetycznych zakrojonych na szeroką skalę mocno sugerowały obecność mutacji w obrębie chromosomu X (xLRP).

Postać adRP stanowi około 15–25% wszystkich przypadków izolowanego RP i mogą być z nią związane mutacje w 24 różnych genach. Postać xLRP natomiast jest identyfikowana w 5–15% izolowanego RP i za jej występowanie mogą być odpowiedzialne mutacje w 2 podstawowych genach – *RPGR* i *RP2* – zlokalizowanych w obrębie krótkiego ramienia chromosomu X (5). Postać xLRP charakteryzuje się zwykle wcześniej-

szym początkiem objawów choroby i cięższym jej przebiegiem w porównaniu do adRP.

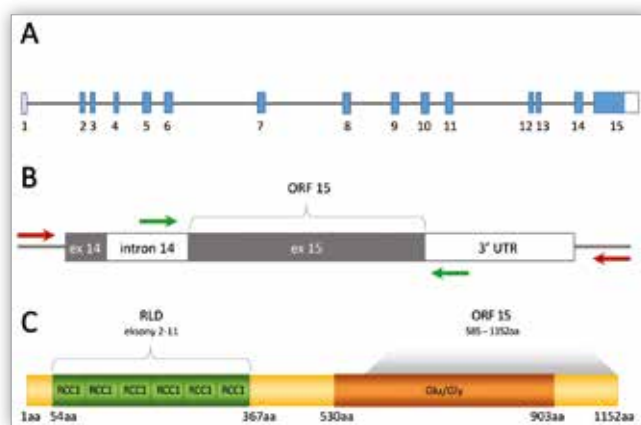
W przypadku xLRP u kobiet nosicielek mutacji objawy choroby mogą nie występować lub ich nasilenie może być bardzo zmienne (od łagodnego, przez umiarkowane, do ciężkiego). Dodatkowo u kobiet z objawową postacią xLRP mogą występować asymetryczny astygmatyzm i krótkowzroczność (6), podobnie jak miało to miejsce w przedstawianej rodzinie. U kobiet przebieg choroby jest zwykle łagodniejszy niż u mężczyzn w podobnym wieku, lecz istnieją odstępstwa od tej reguły (7, 8). W badanej rodzinie objawy RP u mężczyzn pojawiały się już w pierwszej dekadzie życia, natomiast u kobiet – w trzeciej.

Kompleksowa diagnostyka genetyczna, przeprowadzona u probanda w ośrodku zagranicznym, wykluczyła udział nie tylko znanych genów związanych z postacią adRP, ale również z xLRP. Jedynym obszarem, który pominięto, był ekson ORF15 genu *RPGR*. Polipeptyd kodowany przez ORF15 występuje w niektórych transkryptach genu *RPGR* specyficznych głównie dla siatkówki (*RPGR^{ORF15}*), ale jego dokładna funkcja pozostaje na razie niejasna (9). Białko *RPGR* znajduje się w segmencie zewnętrznym komórek fotoreceptorowych siatkówki i bierze udział w zachowaniu ich integralności (10).

Do niedawna uważano, że ekson 15. stanowiła krótsza sekwencja i w skład ORF15 włączano ekson 15. łącznie z częścią intronu 15. genu *RPGR* (11, 12). Obecnie oba te obszary są łącznie definiowane jako ORF15, który ma długość 1706 pz (13). Region ORF15 charakteryzuje się bardzo dużą powtarzalnością sekwencji i wysoką zawartością puryn, które kodują w większości kwas glutaminowy i glicynę (ryc. 3.). Dodatkowo w sekwencji ORF15 u ponad 30% populacji identyfikuje się obecność różnych wariantów polimorficznych, tj. delecje, insercje czy duplikacje (14). Ciągi powtórzeń tych samych nukleotydów, jak również często powtarzające się i identyczne fragmenty sekwencji są bardzo charakterystyczne dla ORF15 i powodują, że ten region niezwykle trudno powiela się w łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) i sekwencjonuje. Problematiczne również jest dopasowanie uzyskanej sekwencji do referencji. W konsekwencji ORF15 jest zazwyczaj pomijany w wielu, nawet bardzo rozbudowanych, testach genetycznych RP.

Jest to jednak obszar niezwykle ważny dla celów diagnostycznych. ORF15 łatwo ulega mutacjom, w jego sekwencji zidentyfikowano liczne tzw. gorące miejsca powstawania mutacji. W populacji brytyjskiej mutacje ORF15 są przyczyną 60% przypadków xLRP (12), w populacji północnoamerykańskiej – 18–30% (15), a w ogólnej populacji europejskiej – 32% xLRP (16). Dodatkowo mutacje ORF15 są wykrywane u 15% mężczyzn chorych na RP o wczesnym początku (15). Według naszej wiedzy badania ORF15 nie były dotychczas na szerszą skalę prowadzone w polskiej grupie pacjentów i brakuje danych o procentowym udziale ORF15 w patogenezie RP u pacjentów z tej grupy.

W naszych badaniach podjęliśmy trudne wyzwanie analizy sekwencji ORF15, które zakończyło się wykryciem patogennej mutacji NM_001034853:c.2899delG w pełni segregującej z RP w badanej rodzinie. Tę zmianę wcześniej opisali Sharon i wsp. (17). Wszystkie mutacje dotychczas zidentyfikowane w ORF15 to warianty wprowadzające kodon stop (mutacje typu nonsens) lub zmieniające ramkę odczytu. Skutkują one przed-



Ryc. 3. Transkrypt *RPGR^{ORF15}* genu *RPGR*. Niebieskie prostokąty oznaczają eksony w transkrypcie, białe prostokąty to sekwencje niepodlegające translacji (UTR), szara linia przedstawia introny – A. Fragment transkryptu *RPGR^{ORF15}* z zaznaczonym eksonem 14., intronem 14., eksonem 15. i obszarem 3'UTR eksonu 15. Klamrami zaznaczono sekwencję ORF15. Zielonymi strzałkami zlokalizowano startery PCR do amplifikacji ORF15 wg Neidhardta i wsp. (23). Czerwonymi strzałkami zlokalizowano startery PCR do amplifikacji ORF15 opisane w tej pracy – B. Schemat białka *RPGR*. Sześć powtórzonych regionów RCC1 (ang. Regulator of chromosome condensation 1) tworzy domenę RLD (ang. RCC1-like domain), która jest odpowiedzialna za interakcje *RPGR* z białkiem *RPGRIP1* (ang. *RPGR*-interacting protein 1). Region od 530. do 903. aminokwasu jest bogaty w kwas glutaminowy (Glu) i glicynę (Gly). Na szaro zaznaczono region ORF15 – C. Schemat opracowano na podstawie danych z bazy UniProt (www.uniprot.org).

Fig. 3. *RPGR^{ORF15}* transcript of the *RPGR* gene. Blue rectangles denote exons in the transcript, white rectangles denote untranslated regions (UTR), a gray line represents introns – A. Fragment of the *RPGR^{ORF15}* transcript showing exon 14, intron 14, exon 15 and the 3'UTR of exon 15. The ORF15 sequence is marked with curly brackets. Green arrows indicate the location of PCR primers for the ORF15 amplification according to Neidhardt et al. (23). Red arrows indicate the location of the PCR primers used in this publication – B. Schematic representation of the *RPGR* protein. Six repeated regions of RCC1 (Regulator of Chromosome Condensation 1) form a RLD domain (RCC1-like domain), which is responsible for the interaction of *RPGR* with the *RPGRIP1* protein (*RPGR*-interacting protein 1). The region from amino acid 530 to 903 is rich in glutamic acid (Glu) and glycine (Gly). Gray shadow indicates the ORF15 region – C. Sequences numbering comes from the UniProt database www.uniprot.org.

wczesnym wprowadzeniem kodonu stop, który może się pojawić od razu w miejscu powstania mutacji lub na skutek zmiany ramki odczytu w dalszej części sekwencji. W obu przypadkach dochodzi do skrócenia powstającego produktu białkowego (9).

Mutacje *RPGR* stanowią łącznie 70–90% mutacji wykrywanych u pacjentów z xLRP, u osób z tej grupy dominują mutacje ORF15, które stanowią między 30% a 80% zmian identyfikowanych w tym genie. Mutacje *RP2* natomiast są odpowiedzialne maksymalnie za 20% xLRP. Biorąc to pod uwagę, Neidhardt i wsp. zaproponowali algorytm diagnostyczny u mężczyzn z xLRP rozpoczynający się od poszukiwania mutacji w ORF15. Znalazienie mutacji w tym obszarze może być równoznaczne z zakończeniem dalszej diagnostyki, ponieważ nieznanne są przypadki pacjentów z dodatkowymi mutacjami w pozostałych eksonach *RPGR* (eksony 1.–15.) czy w genie *RP2*, ale można też rozważyć pełną analizę obu tych genów. Jeśli mutacji nie

znaleziono w ORF15, powinno się jej szukać raczej w genie *RP2* niż *RPGR* (18).

Warto jeszcze zwrócić uwagę na aspekt edukacyjny przebiegu procesu diagnostycznego w opisywanej rodzinie. Przeprowadzone u probanda badania na mikromacierzach były samodzielnie zlecane przez jego rodziców. W związku z tym brak specjalistycznej analizy danych klinicznych i rodowodowych niepotrzebnie skomplikował identyfikację przyczyny choroby i wydłużył czas jej trwania oraz spowodował, że znacznie wzrósł łączny koszt badań. Na podstawie tych doświadczeń należy wysnuć wniosek, że zlecanie badań molekularnych powinno się odbywać po wstępnej konsultacji genetycznej.

Publikacja powstała w związku z realizacją projektu „Zintegrowany system narzędzi do diagnostyki i tele-rehabilitacji schorzeń narządów zmysłów (słuchu, wzroku, mowy, równowagi, smaku, powonienia)” współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu STRATEGMED oraz projektu 1M15/N/2015 Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Piśmiennictwo

- Haim M: *Epidemiology of retinitis pigmentosa in Denmark*. Acta Ophthalmol Scand Suppl. 2002; 1–34.
- Berger W, Kloeckener-Gruissem B, Neidhardt J: *The molecular basis of human retinal and vitreoretinal diseases*. Prog Retin Eye Res. 2010; 29: 335–375.
- Daiger SP, Sullivan LS, Bowne SJ: *Genes and mutations causing retinitis pigmentosa*. Clin Genet. 2013; 84: 132–141.
- Oldak M, Szczyńska A, Młynarski W, Borowiec M, Ruszkowska E, Szulborski K, et al.: *Evidence Against RAB40AL Being the Locus for Martin-Probst X-Linked Deafness-Intellectual Disability Syndrome*. Hum Mutat. 2014; 35: 1171–1174.
- Fahim AT DS, Weleber RG: *Retinitis Pigmentosa Overview*. In: Pagon RA AM, Ardinger HH, et al., editor. GeneReviews® [Internet] Seattle (WA) University of Washington, Seattle; 1993–2015., 2000 Aug 4 [Updated 2013 Mar 21].
- Banin E, Mizrahi-Meissonnier L, Neis R, Silverstein S, Magyar I, Abeliovich D, et al.: *A non-ancestral RPGR missense mutation in families with either recessive or semi-dominant X-linked retinitis pigmentosa*. Am J Med Genet A. 2007; 143A: 1150–1158.
- Al-Maskari A, O'Grady A, Pal B, McKibbin M: *Phenotypic progression in X-linked retinitis pigmentosa secondary to a novel mutation in the RPGR gene*. Eye (Lond) 2009; 23: 519–521.
- Wu DM, Khanna H, Atmaca-Sonmez P, Sieving PA, Branham K, Othman M, et al.: *Long-term follow-up of a family with dominant X-linked retinitis pigmentosa*. Eye (Lond) 2010; 24: 764–774.
- Vervoort R, Wright AF: *Mutations of RPGR in X-linked retinitis pigmentosa (RP3)*. Hum Mutat. 2002; 19: 486–500.
- Gakovic M, Shu X, Kasioulis I, Carpanini S, Moraga I, Wright AF: *The role of RPGR in cilia formation and actin stability*. Hum Mol Genet. 2011; 20: 4840–4850.
- Kirschner R, Rosenberg T, Schultz-Heienbrock R, Lenzner S, Feil S, Roepman R, et al.: *RPGR transcription studies in mouse and human tissues reveal a retina-specific isoform that is disrupted in a patient with X-linked retinitis pigmentosa*. Hum Mol Genet. 1999; 8: 1571–1578.
- Vervoort R, Lennon A, Bird AC, Tulloch B, Axton R, Miano MG, et al.: *Mutational hot spot within a new RPGR exon in X-linked retinitis pigmentosa*. Nat Genet. 2000; 25: 462–466.
- Huang XF, Wu J, Lv JN, Zhang X, Jin ZB: *Identification of false-negative mutations missed by next-generation sequencing in retinitis pigmentosa patients: a complementary approach to clinical genetic diagnostic testing*. Genet Med. 2015; 17: 307–311.
- Bader I, Brandau O, Achatz H, Apfelstedt-Sylla E, Hergersberg M, Lorenz B, et al.: *X-linked retinitis pigmentosa: RPGR mutations in most families with definite X linkage and clustering of mutations in a short sequence stretch of exon ORF15*. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003; 44: 1458–1463.
- Breuer DK, Yashar BM, Filippova E, Hirianna S, Lyons RH, Mears AJ, et al.: *A comprehensive mutation analysis of RP2 and RPGR in a North American cohort of families with X-linked retinitis pigmentosa*. Am J Hum Genet. 2002; 70: 1545–1554.
- Pusch CM, Broghammer M, Jurklics B, Besch D, Jacobi FK: *Ten novel ORF15 mutations confirm mutational hot spot in the RPGR gene in European patients with X-linked retinitis pigmentosa*. Hum Mutat. 2002; 20: 405.
- Sharon D, Sandberg MA, Rabe VW, Stillberger M, Dryja TP, Berson EL: *RP2 and RPGR mutations and clinical correlations in patients with X-linked retinitis pigmentosa*. Am J Hum Genet. 2003; 73: 1131–1146.
- Neidhardt J, Glaus E, Lorenz B, Netzer C, Li Y, Schambeck M, et al.: *Identification of novel mutations in X-linked retinitis pigmentosa families and implications for diagnostic testing*. Mol Vis. 2008; 14: 1081–1093.

Praca wpłynęła do Redakcji 13.08.2015 r. (KO-00021-2015)
Zakwalifikowano do druku 05.04.2016 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr hab. n. med. **Monika Oldak**
Zakład Genetyki, Instytut Fizjologii i Patologii Słuchu
ul. Mokra 17, Kajetany
05-830 Nadarzyn
e-mail: m.oldak@ifps.org.pl