

## **GENETICA (studio sul cheratocono)**

Il cheratocono è un difetto visivo, clinicamente e geneticamente, eterogeneo.

Esso può presentarsi in forma isolata oppure associato ad altri sintomi clinici tra cui la trisomia 21 (sindrome di Down).

La maggior parte dei pazienti sono casi sporadici.

Nei casi familiari il modello di trasmissione ereditaria più comunemente descritto è quello autosomico dominante (allele o fenotipo espresso sia allo stato omozigote che eterozigote, 1).

Alcuni autori hanno proposto anche un'ereditarietà multifattoriale, oltre ad un modello di ereditarietà che prevede l'esistenza di un *major gene* (gene determinante, 2).

Anche gli studi su coppie di gemelli confermano l'importanza di fattori genetici nella patogenesi del cheratocono isolato (3, 4, 5, 6).

### STUDI SUI GEMELLI

Le malattie causate in parte o del tutto da fattori genetici hanno un'alta percentuale di concordanza nei gemelli monozigoti (geneticamente identici) piuttosto che in quelli dizigoti (geneticamente diversi).

Anche se una certa condizione non mostra un modello genetico semplice, il confronto della sua incidenza tra coppie di gemelli monozigoti e dizigoti può rivelare il coinvolgimento dell'ereditarietà; inoltre se gemelli monozigoti mostrano delle differenze riguardo ad una condizione, ne consegue che anche fattori non genetici sono implicati nella sua eziologia.

Nella letteratura pubblicata sul cheratocono sono riportati studi su almeno 18 coppie di gemelli monozigoti, in cui uno o entrambi mostrano cheratocono di grado variabile. Tredici di queste coppie sono state studiate senza l'uso della videocheratografia e quindi i dati ottenuti non possono essere considerati conclusivi.

Rabinowitz (1998, 1) ha descritto alcune coppie di gemelli monozigoti e dizigoti: delle due monozigoti una mostrava chiaramente i segni clinici, mentre nell'altra solo la videocheratografia rivelava la presenza della malattia; delle due coppie di gemelli dizigoti una era affetta e l'altra sana.

Mcmahon (1999, 6) ha osservato due coppie di gemelli monozigoti in cui una presentava i tipici segni clinici e l'altra invece aveva una videocheratografia normale. Questi casi stanno ad indicare che un cofattore ambientale, oltre alla suscettibilità genetica, è necessario per la

manifestazione clinica della malattia e potrebbe anche spiegare le variazioni topografiche che ci sono tra gemelli monozigoti. Al momento ci sono pochi dati sui gemelli dizigoti.

### STUDI DI LINKAGE

L'aggregazione familiare di una malattia è una delle indicazioni comunemente più riconosciute di influenze genetiche in una patologia. Sebbene il cheratocono sia comunemente descritto come sporadico, l'incidenza dell'aggregazione familiare riportata in letteratura va dal 6 al 23.5% (Rabinowitz, 1996,7, Fullerton, 2002, 8).

La maggior parte di queste famiglie mostra un modello di ereditarietà autosomica dominante con penetranza incompleta ed espressione variabile: tale variabilità è spesso riconducibile alle forme fruste di cheratocono e alle forme di cheratocono subclinico. Proprio queste forme, difficili da rilevare in soggetti clinicamente sani, rendono la reale incidenza di una storia genetica familiare sottostimata.

In popolazioni geneticamente isolate, come quelle che vivono in alcune zone della Finlandia, della Nuova Zelanda e della Tasmania, l'incidenza del cheratocono familiare è molto più alta, essendo compresa tra il 19% e il 23%.

Finora, sono stati compiuti solo cinque studi su famiglie che presentano cheratocono isolato a trasmissione autosomica dominante.

Tyynismaa e coll. (2002, 9) hanno studiato 20 famiglie di origine finlandese. Uno screening completo del genoma, utilizzando marcatori polimorfici (varianti di sequenza) del DNA, ha dimostrato un linkage (associazione) sul cromosoma 16q22.3-q23.1, tra due marcatori microsatelliti (ripetizioni di tre-quattro nucleotidi). Gli autori suggeriscono che in questo singolo locus possa essere presente il gene responsabile del cheratocono. Sfortunatamente, in questa regione, non sembra esserci nessun gene candidato (patologico). Tale locus, comunque, sembra essere specifico per le famiglie finlandesi studiate, poiché il dato, al momento, non è stato confermato in altre popolazioni.

Fullerton e coll. (2002, 8) hanno studiato 8 individui di un paese della costa nord-orientale della Tasmania, dove l'incidenza del cheratocono è 5 volte più alta rispetto alla popolazione generale. L'analisi del genoma in 8 individui non imparentati tra loro ha messo in evidenza un'associazione del cheratocono con un marcatore sul cromosoma 20q12. Il gene candidato MMP-9, vicino, è stato escluso come gene causativo, e non esiste in questa regione nessun altro gene candidato noto che possa svolgere un ruolo nella patogenesi della malattia.

Rabinowitz e coll. (1999, 10) hanno analizzato una grande famiglia dello Utah utilizzando marcatori del cromosoma 21 per indagare la correlazione tra la sindrome di Down ed il cheratocono descritta in letteratura. L'analisi di linkage ha evidenziato una piccola regione di 6.8-centiMorgan (cM, unità di misura della distanza genetica), adiacente al centromero (costrizione) del cromosoma 21, tra due marcatori.

Altri cinque loci sono stati identificati sul cromosoma: 15q22.33-24.2 (Hughes, 2003, 11), 3p14-q13 (Brancati, 2004, 12), 2p24 (Hutchings, 2005, 13), e sul cromosoma 5q14.3-q21.1 (Tang, 2005, 14). Nel caso del cromosoma 15 è stata osservata cosegregazione tra il cheratocono e la cataratta (altra malattia oculare) nella famiglia studiata.

### *VSX1: UN GENE HOMEBOX COINVOLTO NEL CHERATOCONO*

Uno studio di Héon (2002, 15) suggerisce che mutazioni puntiformi (cambiamento di una base nucleotidica in un'altra nella sequenza) nel gene homeobox *VSX1* (*visual system homeobox 1*), che mappa nella regione cromosomica 20p11-q11, siano responsabili dell'insorgenza della patologia in almeno il 4.7% dei pazienti con cheratocono isolato.

Due mutazioni, la R166W e la L159M, sono state identificate in soggetti affetti da cheratocono, mentre la mutazione D144E è stata identificata in un soggetto che oltre al cheratocono presentava anche segni di Distrofia Corneale Posteriore Polimorfa (PPD). Infine le mutazioni G160D e P247R sono state identificate in uno stesso soggetto (eterozigosi composta) sottoposto a cheratoplastica all'età di tre mesi per una grave forma di PPD. Le due mutazioni, presenti in eterozigosi nei genitori e in alcuni membri delle rispettive famiglie, erano associate a difetti oculari di lieve entità.

Questi dati sono stati confermati ed ampliati da un recente studio (Bisceglia, 2005, 16) in cui sono stati analizzati 80 pazienti italiani. In 7 pazienti (8,7%) sono state identificate, in eterozigosi, le mutazioni D144E, G160D, P247R già descritte da Héon e la nuova mutazione L17P.

Il *VSX1* umano codifica per una proteina che appartiene ad una famiglia di proteine coinvolte nello sviluppo cranio-faciale ed oculare. Esse sono fattori di trascrizione (proteine che fanno sì che un gene venga espresso) contenenti un omeodominio (HTH: elica-giro-elica) di legame al DNA ed un dominio CVC (di circa 60 aminoacidi ed omologo a domini simili di altri vertebrati) la cui funzione non è nota (*fig. 1*).

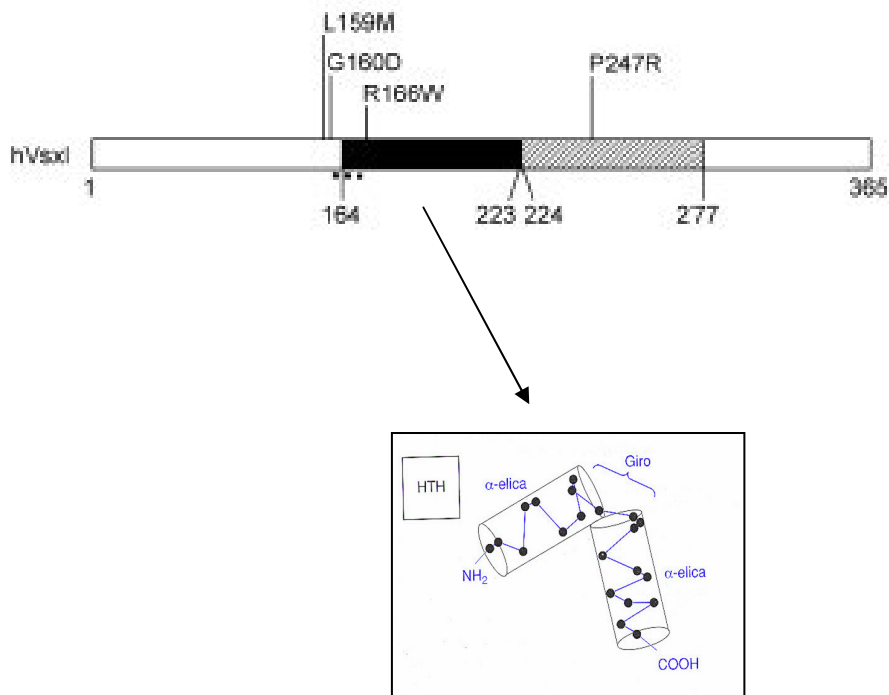


Figura 1. Struttura del VSX1 umano e del dominio HTH

Nell'uomo, l'mRNA di *VSX1*, è stato ritrovato nello strato nucleare interno della retina, nel tessuto embrionale cranio-facciale e nella cornea dell'adulto (Semina, 2000, 17). *VSX1* è localizzato nella regione 20p11-q11 ed i suoi 5 esoni sono compresi in una sequenza genomica di 6.2 Kb (*fig.2*).

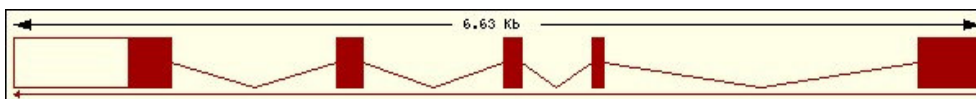


Figura 2. Conformazione del trascritto di VSX1 umano

Finora, *VSX1* è l'unico gene associato con l'insorgenza e/o il mantenimento del cheratocono. Il fatto che mutazioni di *VSX1* siano anche responsabili della PPD può essere spiegato dall'azione pleiotropica nei diversi tessuti corneali in cui causa a volte il cheratocono a volte la PPD, a volte entrambi.

Sono necessari ulteriori studi per comprendere i meccanismi di insorgenza della patologia e conoscere quali siano gli altri geni implicati in essa. L'identificazione di diversi loci genetici associati al cheratocono conferma che esso è il risultato della mutazione di geni diversi, di cui

alcuni possono agire sinergicamente fra loro e con altri fattori non genetici e altri, come ad esempio *VSYI*, possono essere coinvolti in più processi patologici.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 1998;42:297-319
2. Wang Y, Rabinowitz YS, Rotter JI, Yang H. Genetic epidemiologic study of keratoconus: evidence for major gene determination. *Am J Med Genet* 2000;93:403-409
3. Owens H, Watters GA. Keratoconus in monozygotic twins in New Zealand. *Clin Exp Optom* 1995;78:125-9
4. Bechara SJ, Waring GO, Insler MS. Keratoconus in two pairs of identical twins. *Cornea* 1996;15(1):90-3
5. Parker J, Ko W, Pavlopoulos G, et al. Videokeratography of keratoconus in monozygotic twins. *J Refract Surg* 1996;12:180-3
6. McMahon TT, Shin JA, Newlin AK. Discordance for keratoconus in two pairs of monozygotic twins. *Cornea* 1999;18(4):444-51
7. Rabinowitz YS, Yang H, Akkina J, et al. Videokeratography of normal human corneas. *Br J Ophthalmol* 1996;80:610-616
8. Fullerton J, Paprocki P, Foote S, et al. Identity-by-descent approach to gene localisation in eight individuals affected by keratoconus from north-west Tasmania, Australia. *Hum Genet* 2002;110:462-470
9. Tyynismaa H, Sistonen P, Tuupanen S et al. A locus for autosomal dominant keratoconus: linkage to 16q22.3-q23.1 in Finnish families. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(10):3160-4
10. Rabinowitz YS, Zhu H, Yang H, et al. Keratoconus: non parametric linkage analysis suggests a gene near the centromere of chromosome 21. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(Suppl):2975
11. Hughes AE, Dash DP, Jackson AJ, et al. Familial keratoconus with cataract: linkage to the long arm of chromosome 15 and exclusion of candidate genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(12):5063-6
12. Brancati F, Valente EM, Sarkazy A, et al. A locus for autosomal dominant keratoconus maps to human chromosome 3p14-q13. *J Med Genet* 2004;41:188-192
13. Hutchings H, Ginisty H, Le Gallo M, et al. Identification of a new locus for isolated familial keratoconus at 2p24. *J Med Genet* 2005;42:88-94

14. Tang YG, Rabinowitz YS, Taylor KD, et al. Genomewide linkage scan in a multigeneration Caucasian pedigree identifies a novel locus for keratoconus on chromosome 5q14.3-q21.1. *Genet Med* 2005;7(6):397-405
15. Héon E, Greenberg A, Kopp KK, et al. VSX1: a gene for posterior polymorphus dystrophy and keratoconus. *Hum Mol Genet* 2002;11:1029-1036
16. Bisceglia L, Ciaschetti M, De Bonis P, et al. VSX1 mutational analysis in a series of Italian patients affected by keratoconus: detection of a novel mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(1):39-45
17. Semina EV, Mintz-Hittner HA, Murray JC. Isolation and characterization of a novel human paired-like-homeodomain containing transcription

Dott.ssa Valeriana Sblendorio