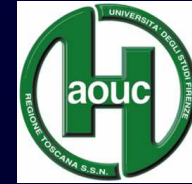


AOU Careggi
SOD Diagnostica Genetica

E-mail: passerinii@aou-careggi.toscana.it



ILARIA PASSERINI

La consulenza genetica e i test genetici nella
pratica clinica

MACULOPATIE

Siena, 24 Settembre 2009

LE DEGENERAZIONI RETINICHE EREDITARIE



Fattori Genetici



Un gene



Una malattia

Piu' geni



Una malattia

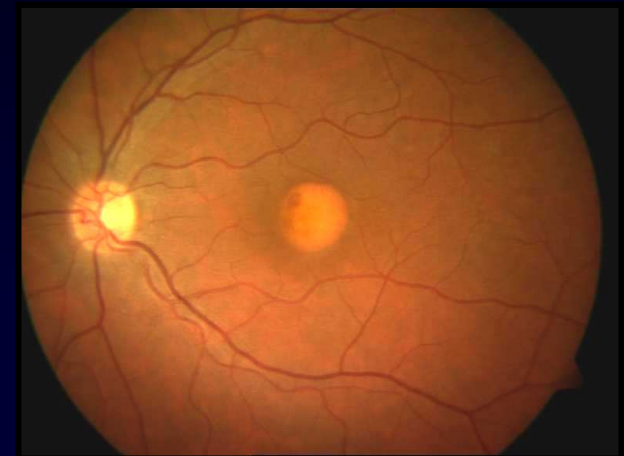
Eterogeneità genetica



Eterogeneità fenotipica

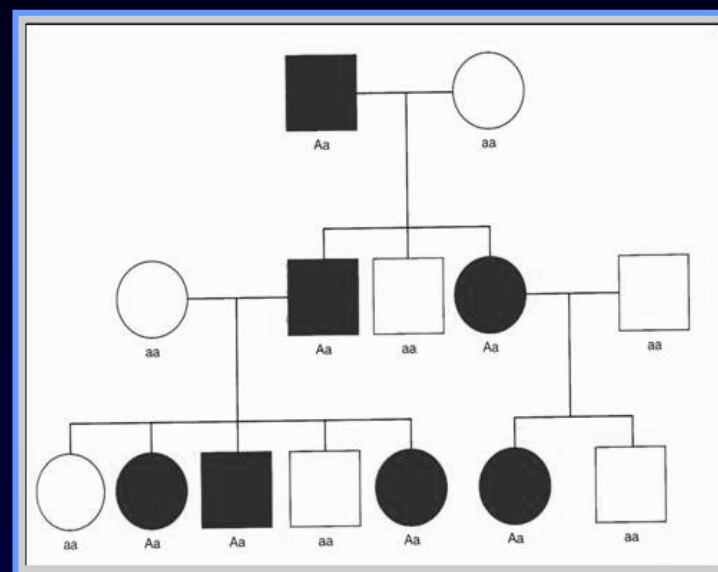
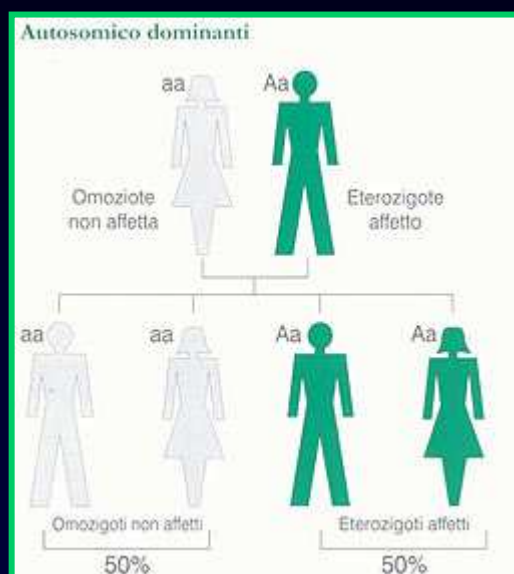
Distrofia maculare vitelliforme di Best

- Espressione variabile: membri affetti della stessa famiglia possono presentare differenze sia nell'aspetto oftalmoscopico che nell'età di sviluppo delle prime lesioni
- Età di insorgenza variabile



Distrofia maculare vitelliforme di Best

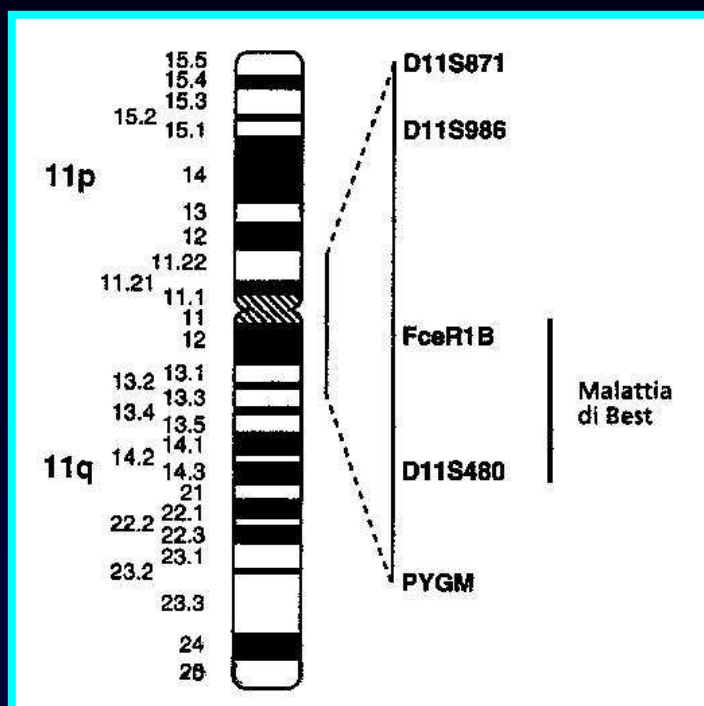
- La reale prevalenza e' sconosciuta (le famiglie piu' colpite sono caucasiche)
- Trasmissione **autosomica dominante**



Gene VMD2

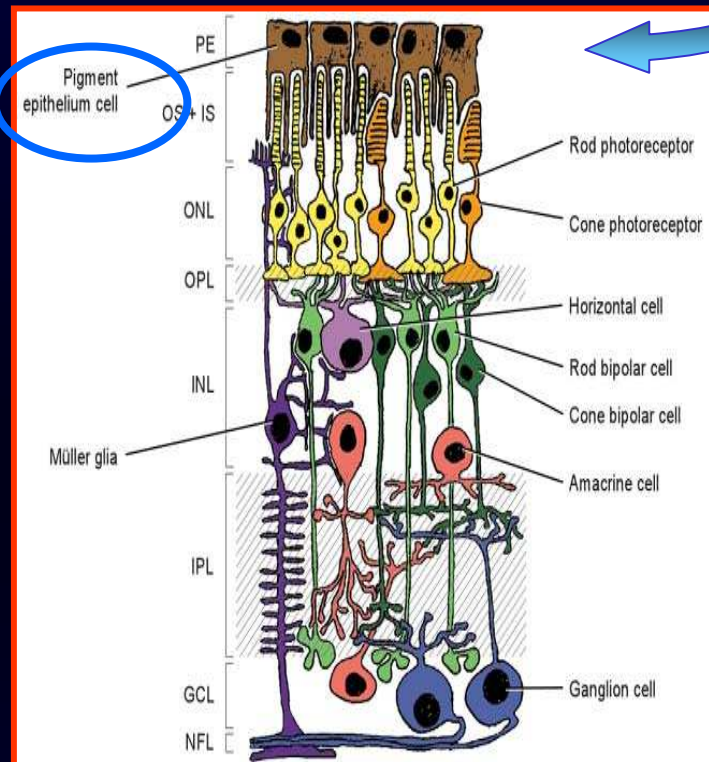
(Vitelliform macular dystrophy type 2)

(11q13)

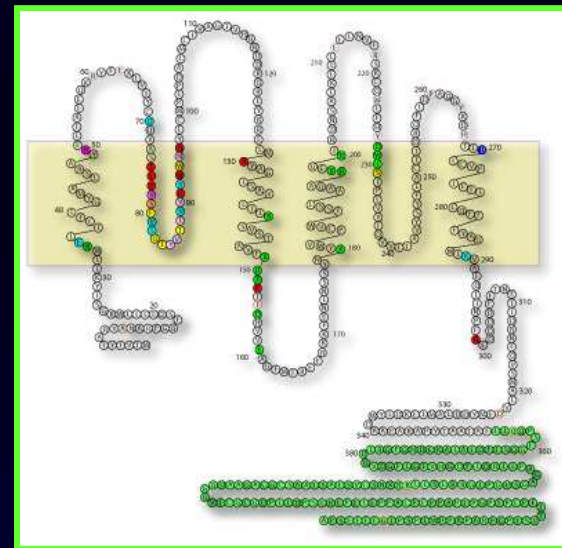


Il gene VMD2 contiene **11** esoni e codifica per la proteina **bestrofina** (68 kDa)

Bestrofina



Proteina di 585 aminoacidi altamente espressa nell'epitelio pigmentato retinico e localizzata a livello delle cellule della membrana basale

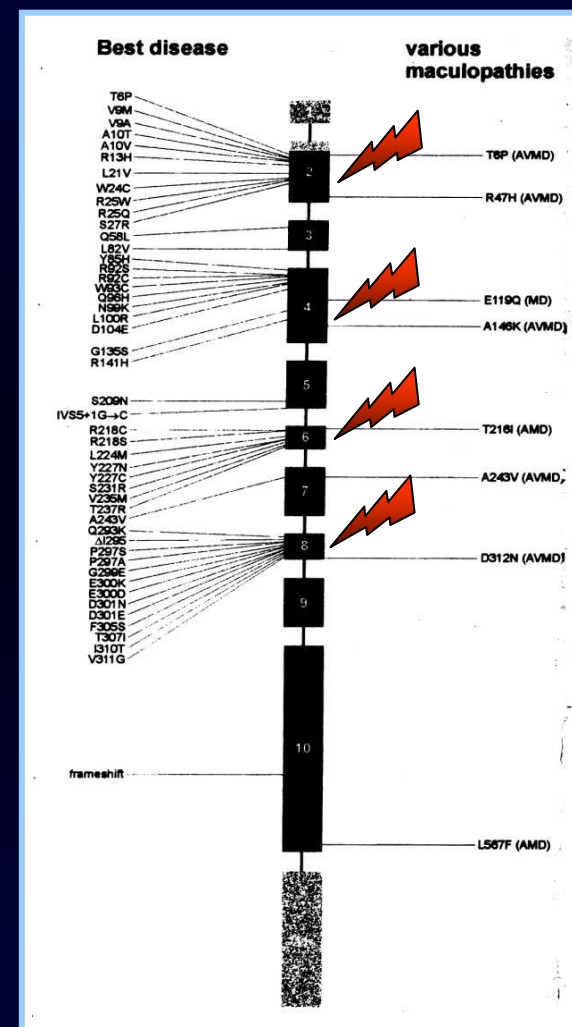


Presenta 4 domini transmembrana. La sua funzione e' sconosciuta: recentemente (*Sun et al. 2002*) è stato ipotizzato che agisca come un canale del cloro nel processo di trasduzione del segnale.

Mutation type	Total number of mutations
Nucleotide substitutions (missense / nonsense)	86
Nucleotide substitutions (splicing)	1
Nucleotide substitutions (regulatory)	0
Small deletions	4
Small insertions	0
Small indels	1
Gross deletions	0
Gross insertions & duplications	0
Complex rearrangements (including inversions)	1
Repeat variations	0
TOTAL	93

(www.uni-wuerzburg.de/humangenetics/vmd2.html)

La maggior parte delle mutazioni interessa gli esoni 2, 4, 6 e 8 e coinvolge la prima metà della sequenza aminoacidica della proteina





La nostra casistica

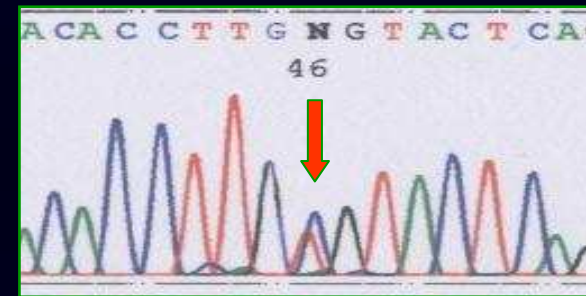
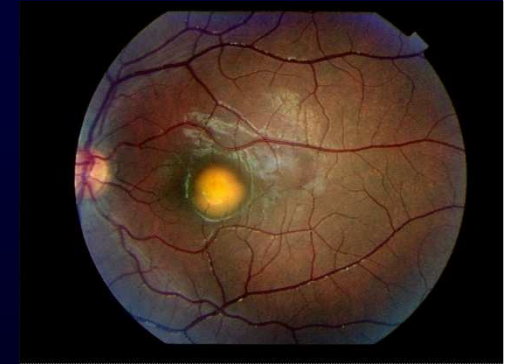
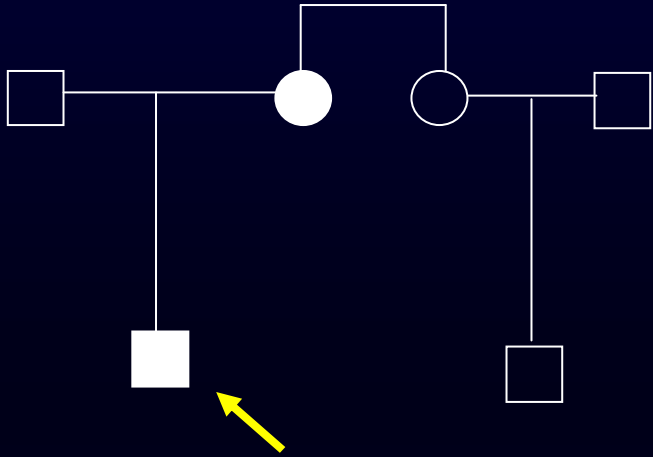
Sono state analizzate 33 famiglie, di cui 15 provenienti da altri centri

Sono state identificate complessivamente 22 differenti mutazioni in 52 soggetti, di cui 14 non descritte in letteratura

Due mutazioni sono risultate ricorrenti:

- p.R218C, identificata in 9 soggetti
- p.R25W, identificata in 8 soggetti

Daniela P e Alessandro L



Alessandro L

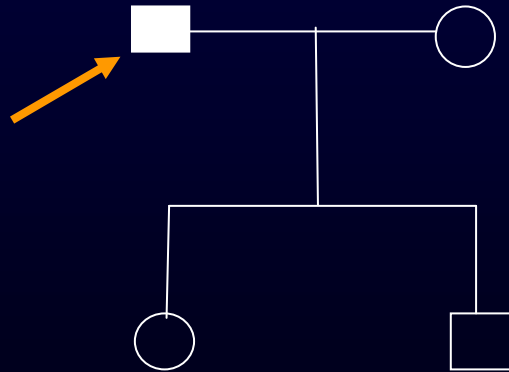
-età 9 aa

-diagnosi delle alterazioni del fondo all'età di 7 anni

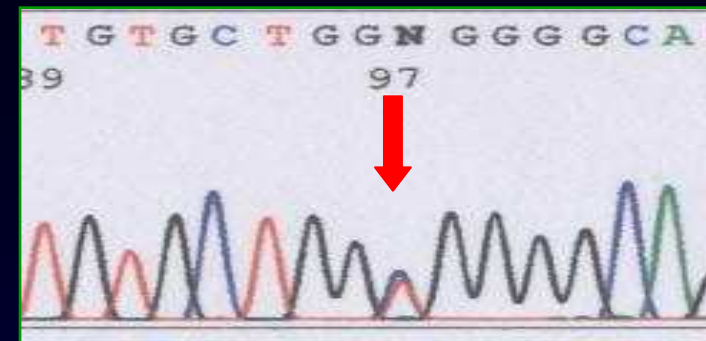
-improvvisa riduzione visiva OD all'età di 9 aa per insorgenza di CNV; trattamento PDT con stabilizzazione del visus OD a 2/10; in OS il visus è sempre pari a 10/10

Esome 6: p.R218C (c.652C→T)

Mauro F

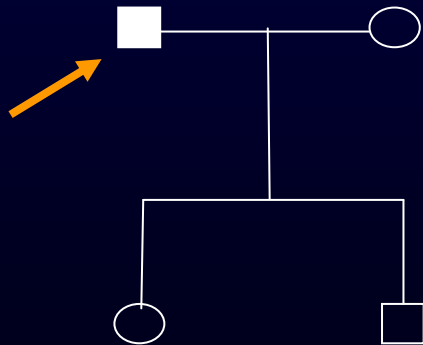


- riscontro di riduzione visiva all'età di 35 aa
- acuità visiva attuale: 5/10 OD, 4/10 OS
- pregressa OVRB OS
- EOG alterato: TA 140 OD, 124 OS
- ERG nella norma
- i due figli sono clinicamente sani, ma presentano EOG alterato



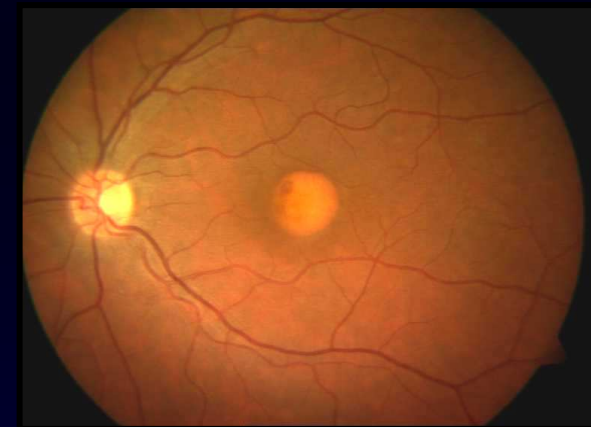
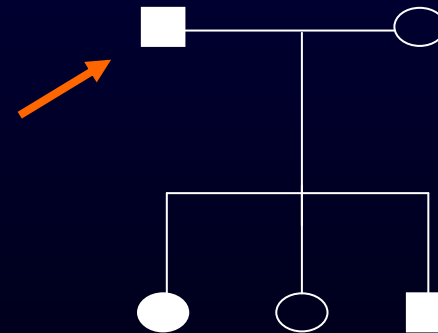
Esone 2: p.R25W (c.73C→T)

Distrofia maculare vitelliforme di Best



Paziente V183
lesione vitelliforme
multifocale

Esone 2: p.R25W (c.73C→T)

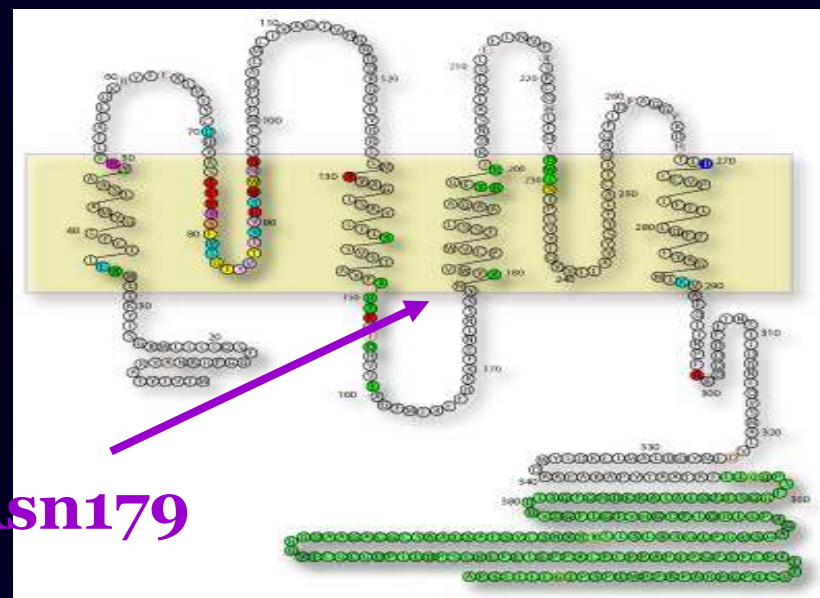
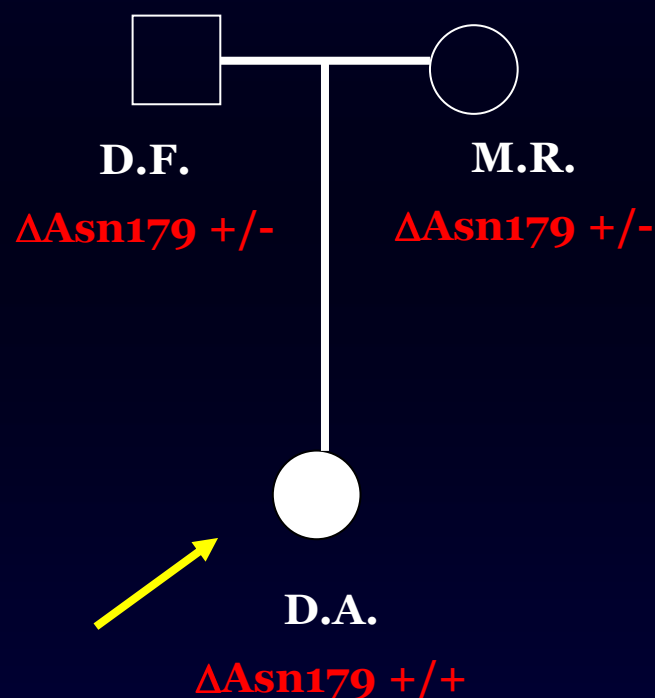


Paziente V310
lesione vitelliforme
singola

Esone 6: p.R218C (c.652C→T)

FAMIGLIA D.

Δ Asn179: variante non descritta in letteratura



RFP-domain: dominio conservato con motivo di sequenza caratteristico Arginina-Fenilalanina-Prolina. Più del 90% delle mutazioni causanti malattia sono localizzate in questo dominio

Problema diagnostico



FENOTIPO LIEVE



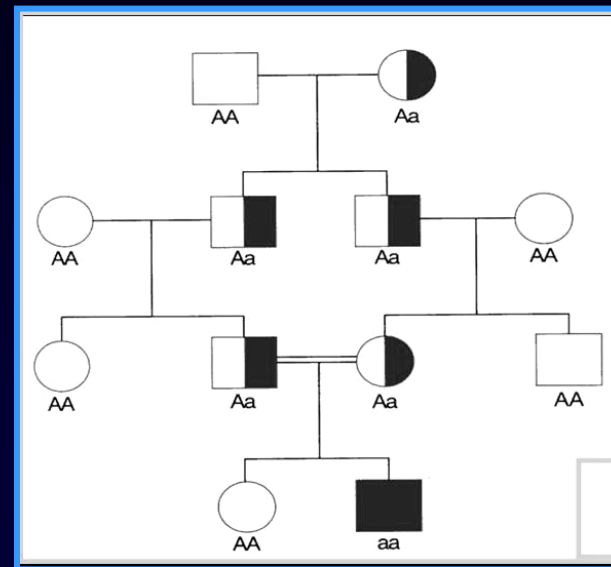
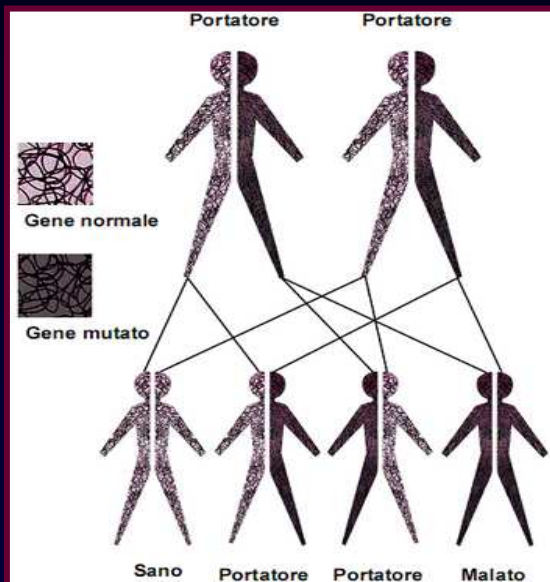
- Dg incerta
- Variante non patogena
- Mutazione del gene RDS/Per
- Delezione di singolo aa: non provoca frameshift di sequenza

Malattia di Stargardt



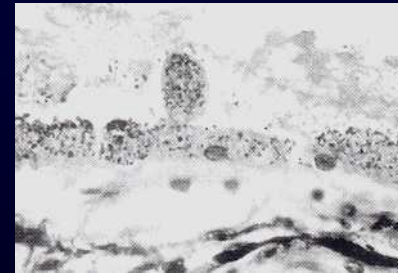
Epidemiologia

- malattia ereditaria trasmessa con **modalità autosomica recessiva**, rarissime le forme **dominanti**
- non vi è predilezione di sesso o di gruppo etnico
- è la forma più comune di degenerazione maculare giovanile (prevalenza : 1:8000-1:10.000)
- Costituisce il 7% delle distrofie retiniche

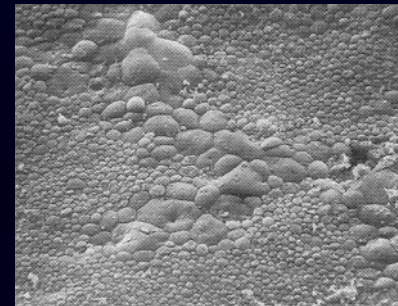


Istopatologia

1-accumulo massivo di lipofuscine nell'EPR



2-aggregati irregolari di cellule EPR con raggruppamenti focali di cellule di dimensioni molto aumentate



3-atrofia focale centrale di fotorecettori e EPR



-Gass JDM "Stargardt's disease (Fundus Flavimaculatus)" in : Gass JDM "Macular Diseases", St.Louis, 1997, pp.326-333

-Lee BL, Heckenlively JR "Malattia di Stargardt e fundus flavimaculatus" in: "Retina Vitreo Macula" Guyer DR, Yannuzzi LA, Chang S, Shields JA, Green WR eds, Roma, 2000, pp. 864-872

Clinica

-esordio generalmente nella prima o seconda decade di vita, anche se è possibile una comparsa tardiva della sintomatologia (20% dei casi dopo i 40 anni)

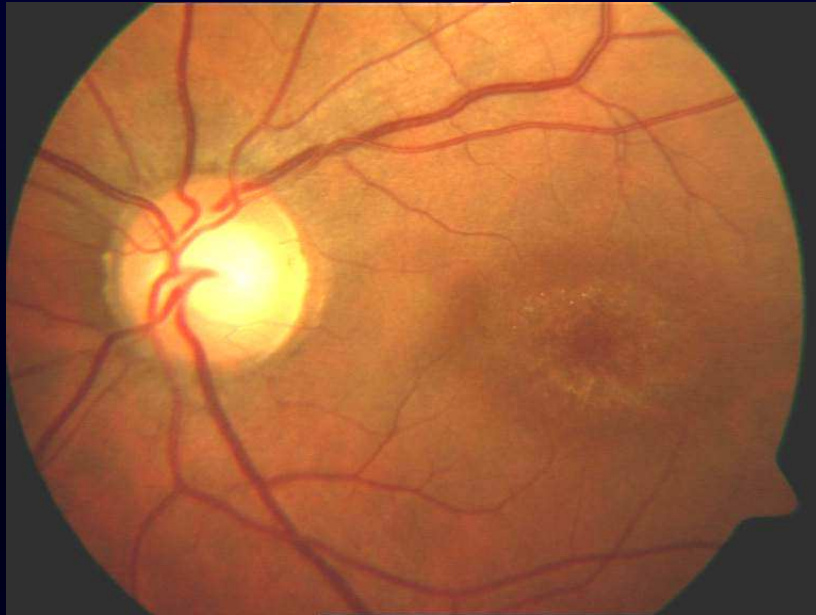
Noble K, Carr RE "Stargardt's disease and fundus flavimaculatus" Arch Ophthalmol 97:1281-1285,1979

-i pazienti riferiscono una riduzione dell' acuità visiva centrale, che nelle fasi evolute può accompagnarsi alla percezione di un vero e proprio scotoma centrale

-la malattia ha un andamento evolutivo, con una progressiva perdita dell'acuità visiva

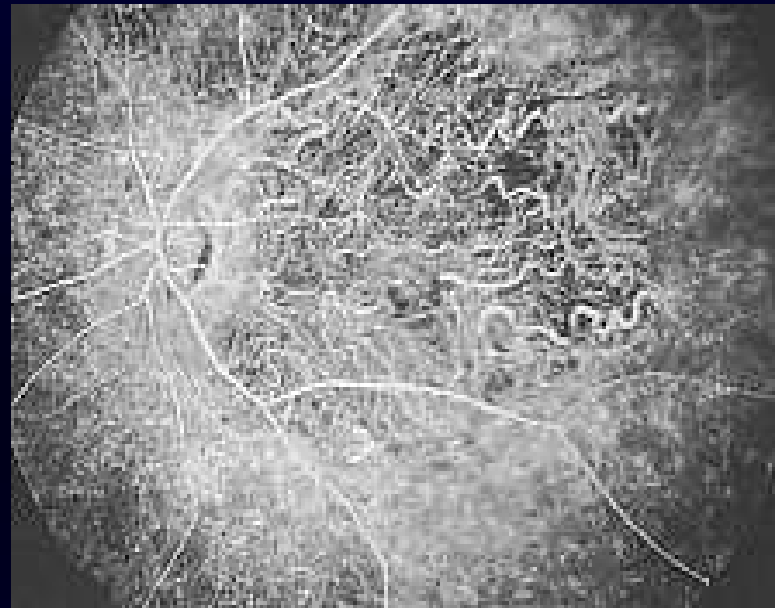
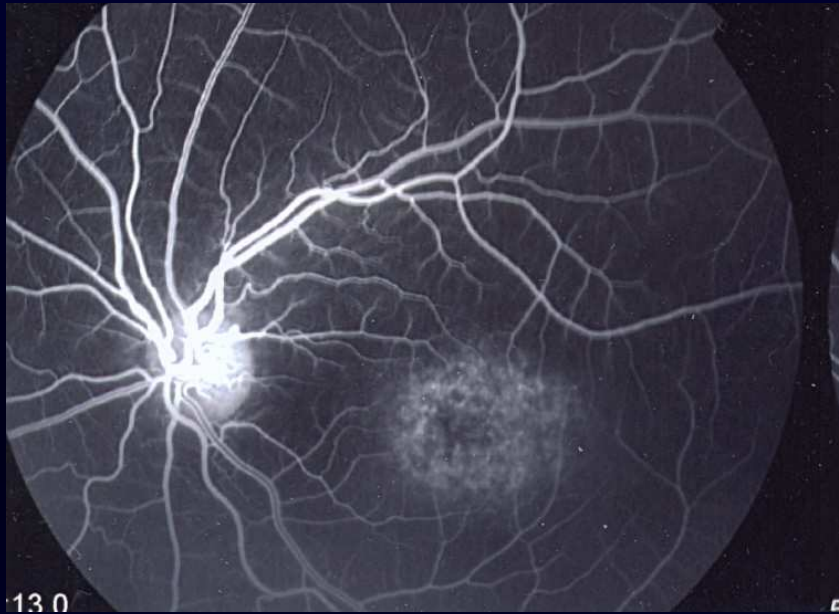
Fishman GA, Farber M, Patel BS et al "Visual acuity loss in patients with Stargardt's macular dystrophy" Ophthalmology 94:809-814,1987

Segni clinici



- atrofia dell'epitelio pigmentato maculare (spesso con aspetto "a bronzo battuto"), più spesso ovale a grande asse orizzontale
- presenza di macchie giallastre allungate (flecks) al polo posteriore ed anche alla media periferia

Fluorangiografia



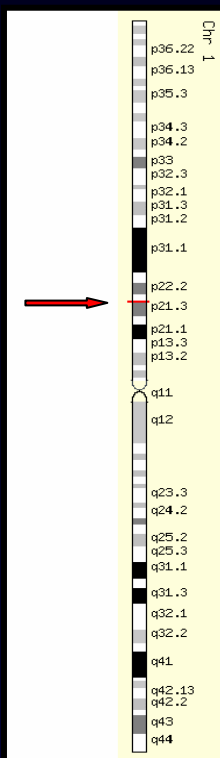
- maculopatia atrofica
- *iperfluorescenza per effetto finestra
- *nelle fasi evolute grave atrofia dell'EPR e della coriocapillare

Genetica molecolare

trasmissione autosomica RECESSIVA

Gene **ABCR (ABCA4)**
(ATP-binding cassette-receptor)

- Localizzato in 1p21.3

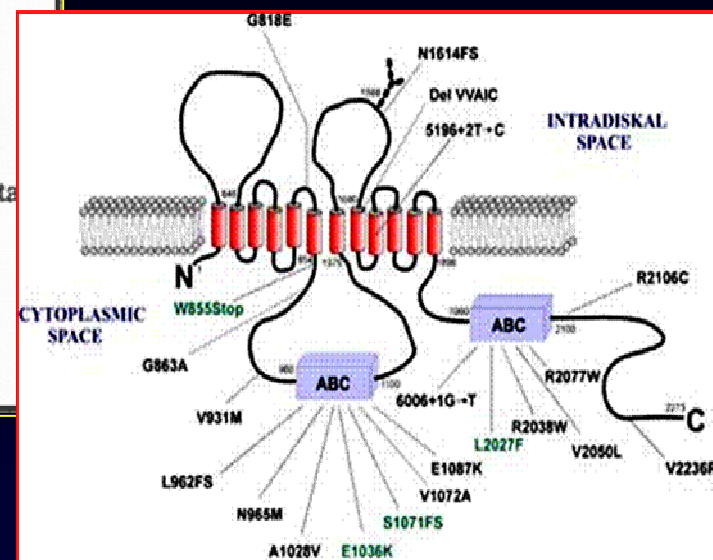


Mutation type	Number of mutations
Missense/nonsense	321
Splicing	52
Regulatory	0
Small deletions	61
Small insertions	12
Small indels	1
Gross deletions	3
Gross insertions	0
Complex rearrangements	1
Repeat variations	0
Public total (HGMD Professional 2009.2 total)	451 (519)

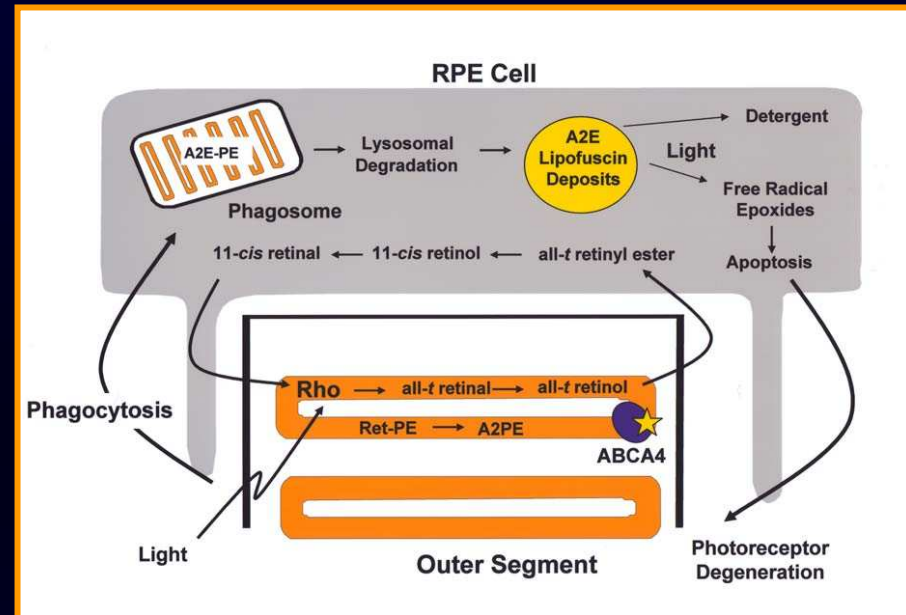
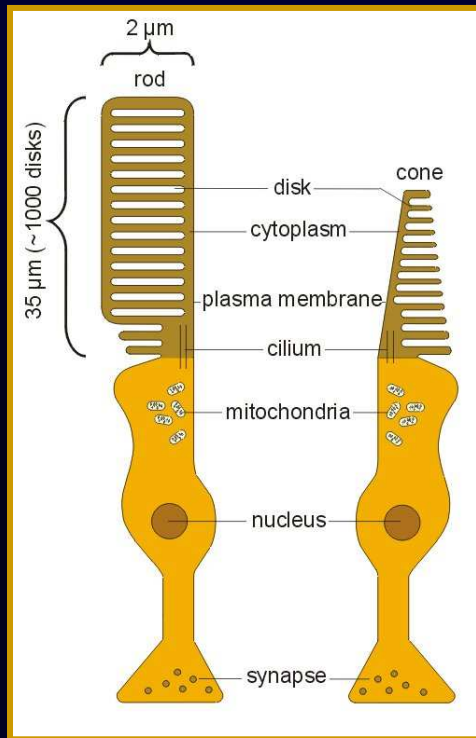
Allikmets R, Singh N, Sun H et al "A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy" Nat Genet 15:236-245, 1997

Superfamiglia geni ABC: proteine di trasporto transmembrana

Gene	Mendelian disorder	Complex disease
ABCA1	Tangier disease, FHDLD ^a	
<u>ABCA4</u>	Stargardt/FFM, RP, CRD, CD	AMD
ABCB1	Ivermectin susceptibility	Digoxin uptake
ABCB2	Immune deficiency	
ABCB3	Immune deficiency	
ABCB4	PFIC3	ICP
ABCB7	XLSA/A	
ABCB11	PFIC2	
ABCC2	Dubin-Johnson Syndrome	
ABCC6	Pseudoxanthoma elasticum	
ABCC7	Cystic Fibrosis, CBAVD	Pancreatitis, bronchiectasis
ABCC8	FPHH	
ABCD1	ALD	
ABCG5	Sitosterolemia	
ABCG8	Sitosterolemia	



funzione del gene ABCR



ABCR è una proteina di trasporto espressa nei fotorecettori e coinvolta nel trasporto del retinale tutto-trans attraverso la membrana dei dischi, dal lume del disco al citoplasma del fotorecettore

Illing M, Molday LL, Molday RS "The 220-kDa Rim protein of Retinal Outer segments is a member of the ABC Transporter Superfamily" J Biol Chem 272(15): 10303-10310,1997

RARA trasmissione autosomica DOMINANTE

- molto più rara della forma recessiva
- maculopatia atrofica accompagnata o meno dalla presenza di flecks
- associazione con un gene specifico per i fotorecettori denominato **ELOVL4** (6q14, elongation factor of very-long-chain-fatty-acid) che codifica una proteina verosimilmente coinvolta nella sintesi degli acidi grassi polinsaturi del segmento esterno dei fotorecettori

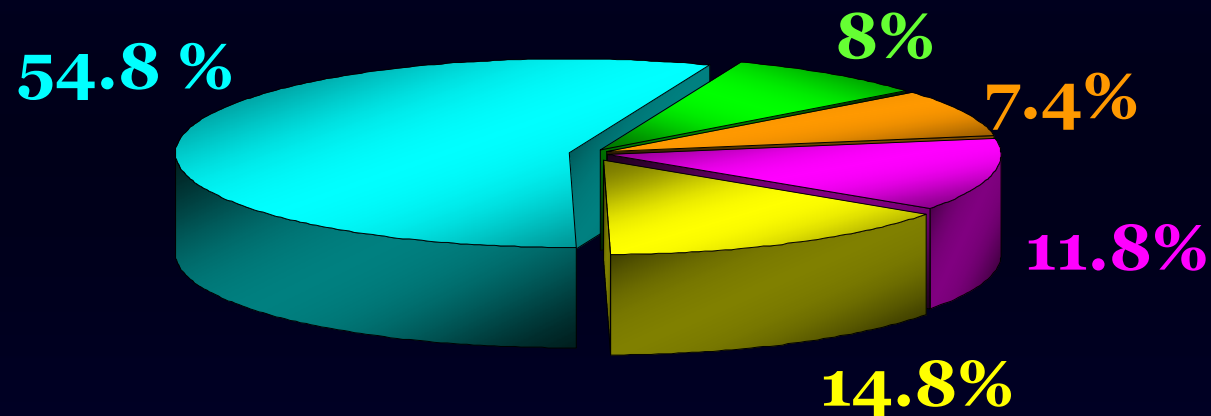
Zhang K, Kniazeva M, Han M et al "A 5-bp deletion in the ELOVL4 is associated with two related forms of autosomal dominant macular dystrophies" Nat Genet 27: 89-93, 2001



Novel mutations in
of the *ABCR* gene in
italian patients with
Stargardt disease

I Passerini¹, A Sodi², B Giambene², A Mariottini¹,
U Menchini² and F Torricelli¹

135 differenti mutazioni identificate in 200 pazienti STGD afferiti alla
II Clinica Oculistica AOUC (65 “nuove” mutazioni)



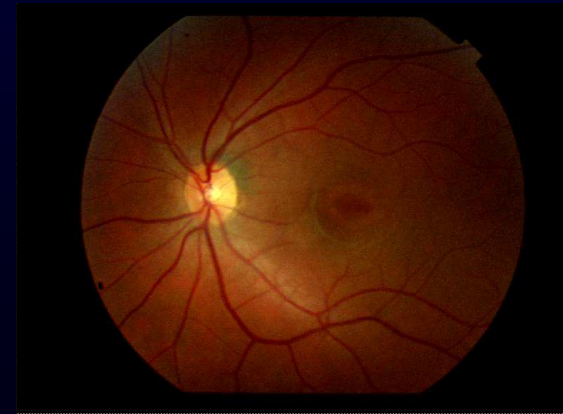
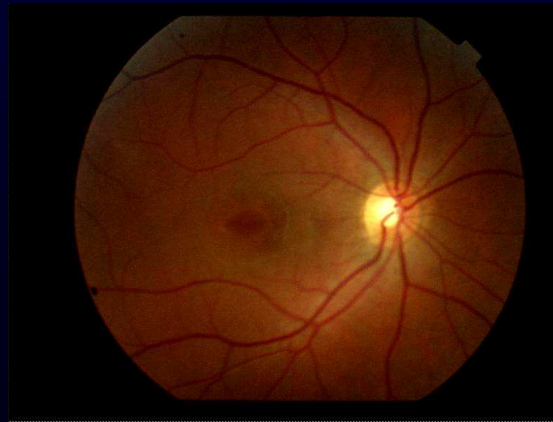
- 74/135 (54.8 %) mutazioni missense
- 23/135 (14.8 %) mutazioni non sense
- 16/135 (11.8 %) mutazioni di splice
- 12/135 (8.8 %) delezioni
- 10/135 (7.4 %) inserzioni

variabilità intrafamiliare

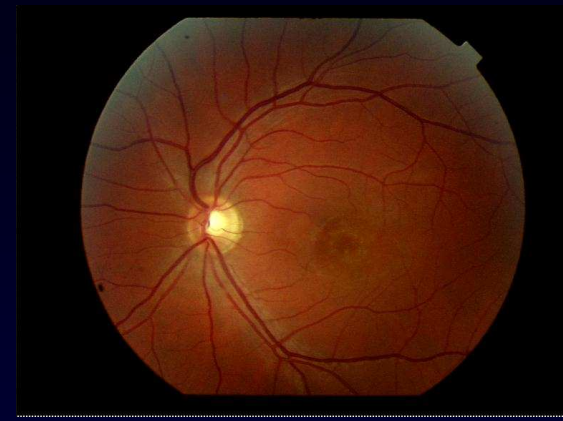
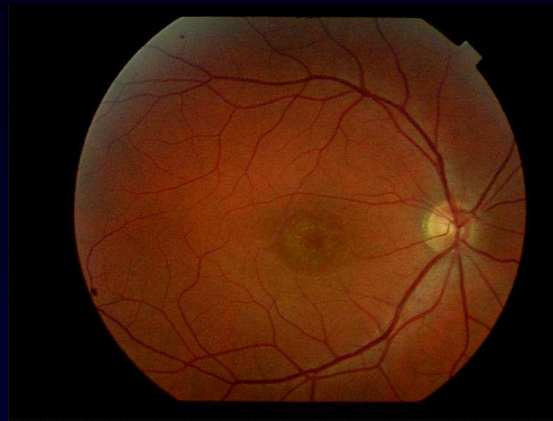
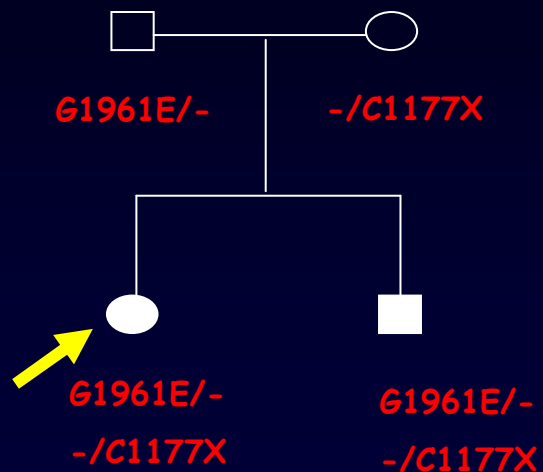


la relazione fra genotipo e fenotipo è spesso variabile nei diversi pazienti, anche all'interno della stessa famiglia; infatti a volte la stessa alterazione molecolare può determinare quadri clinici diversi nei vari pazienti (eterogeneità fenotipica)

Denise V, 31 ys



Valentino V, 33 ys

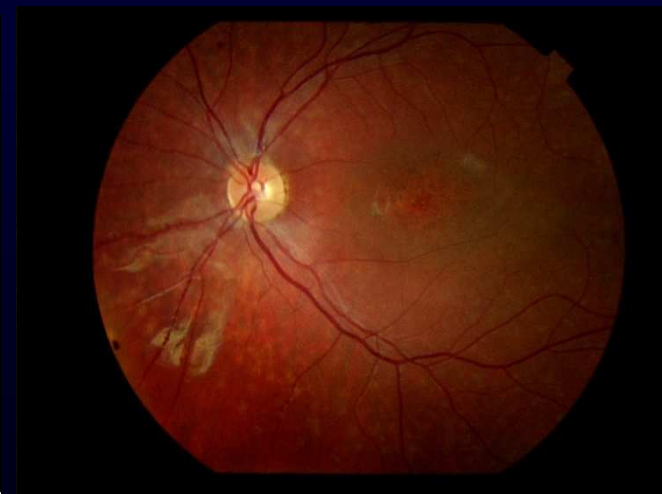
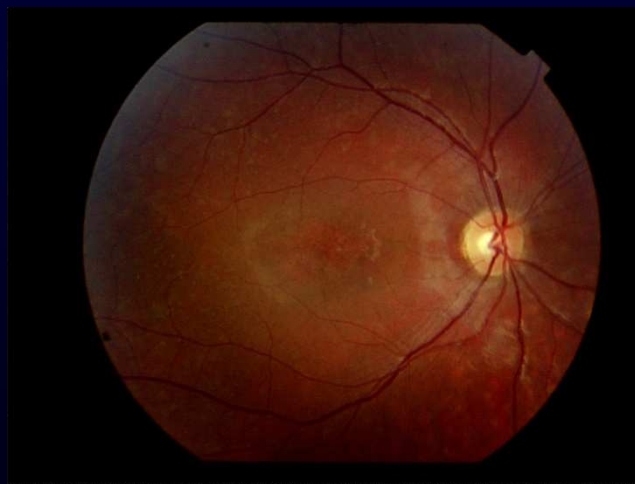


p.C1177X ; p.G1961E

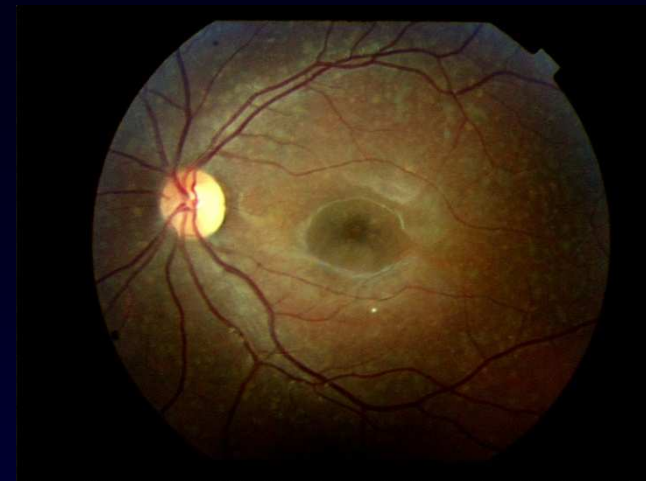
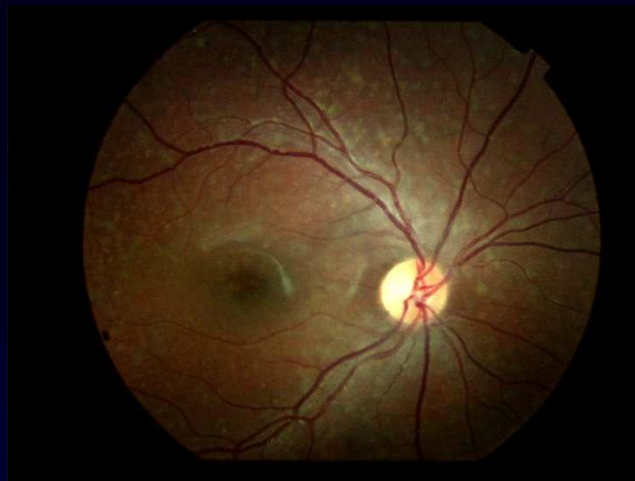
variabilità intrafamiliare



Chiara A , 17 aa

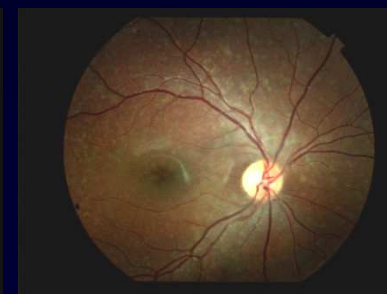
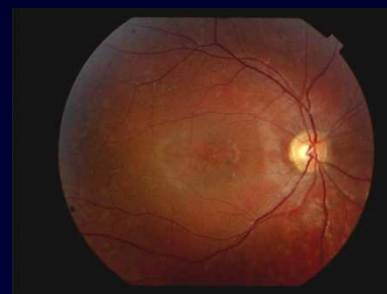
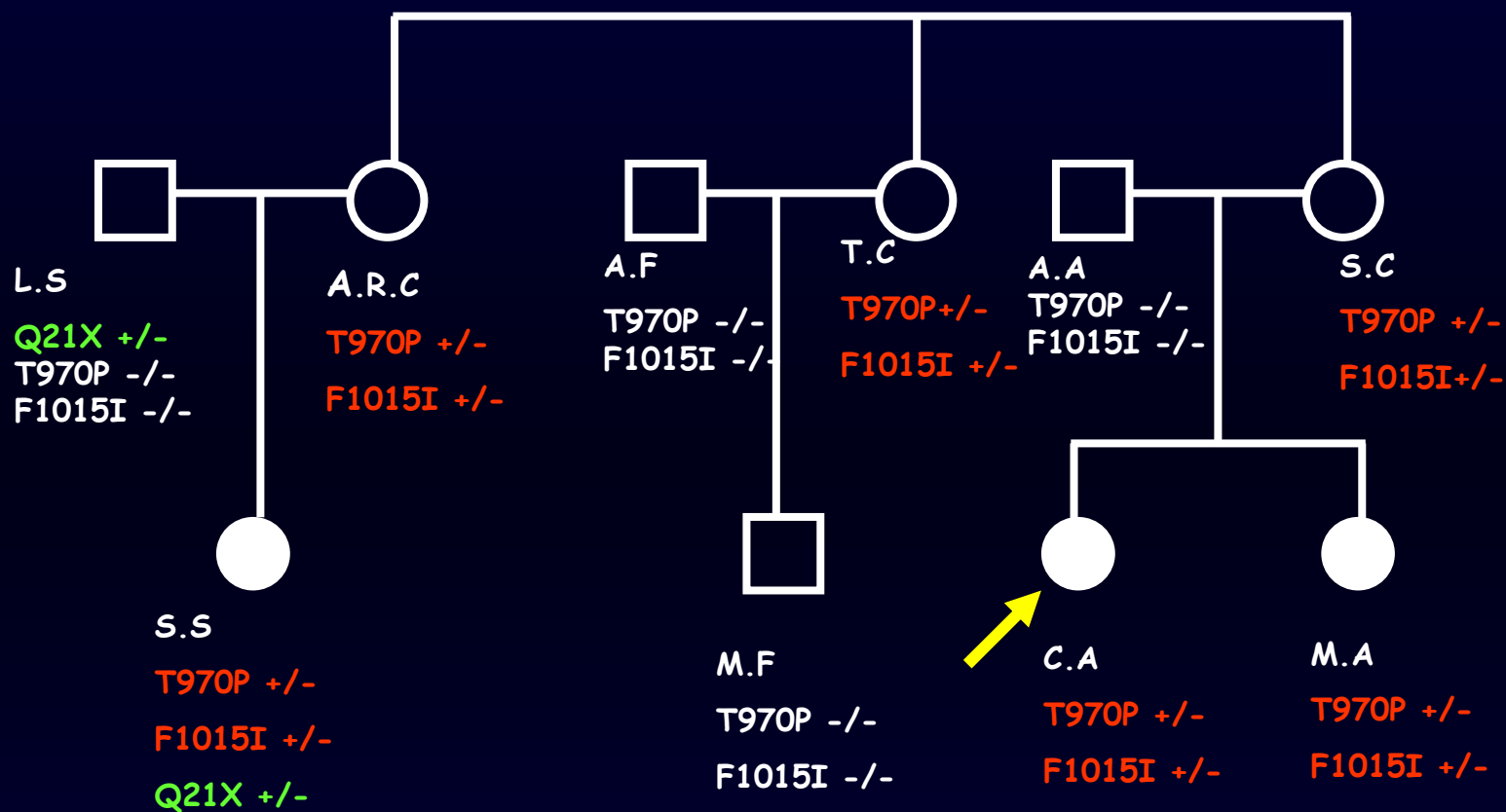


Marta A, 13 aa



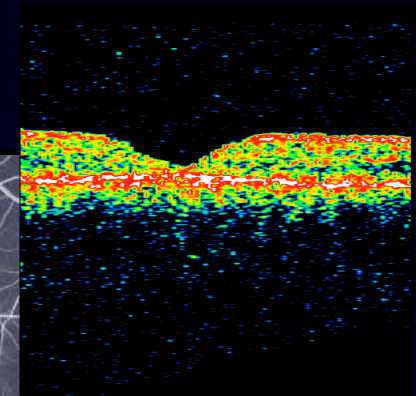
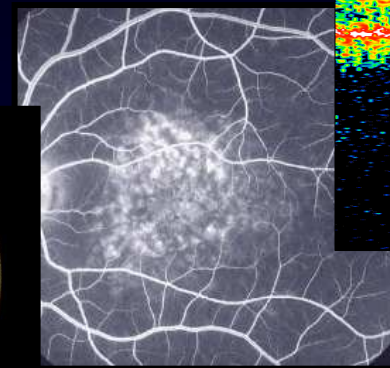
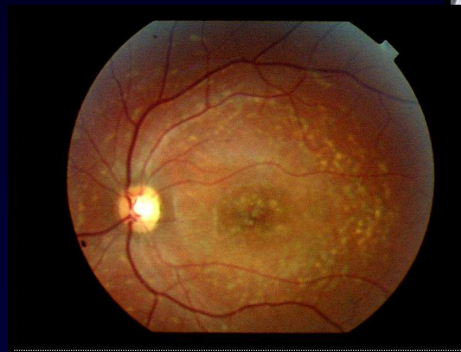
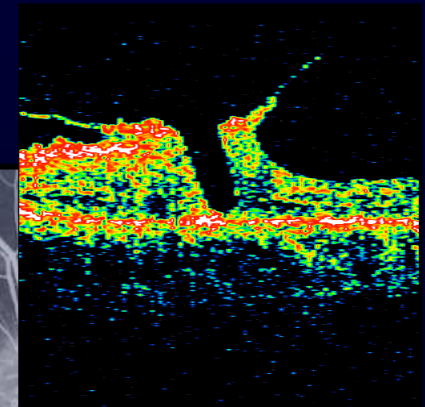
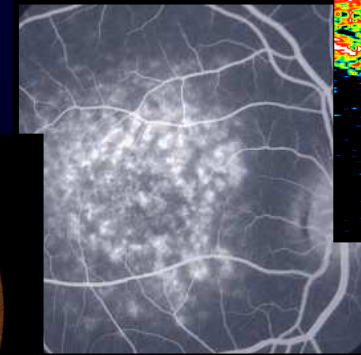
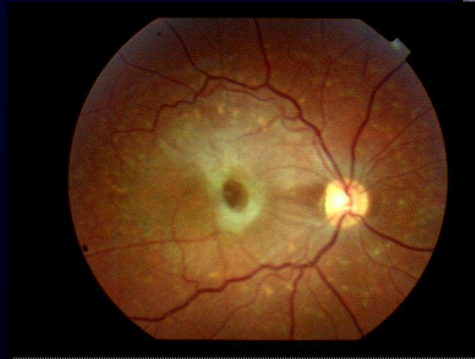
p.T970P ; p.F1051I

FAMIGLIA A



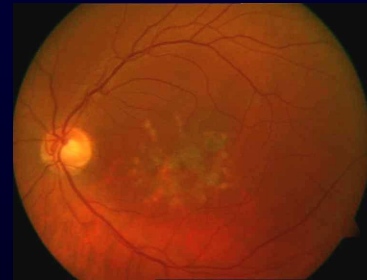
Gionatan C

- età: 31 aa
- riduzione visiva insorta a 15 aa
- acuità visiva attuale: 1/15 OD, 2/10 OS
- accentuazione della riduzione visiva OD negli ultimi 3 anni
- ERG, EOG senza significative alterazioni
- mutazioni nel gene ABCR: **IVS6-1G>T; R1108C**



la mutazione G1961E

SG, f, 45 y
WT ; p.G1961E



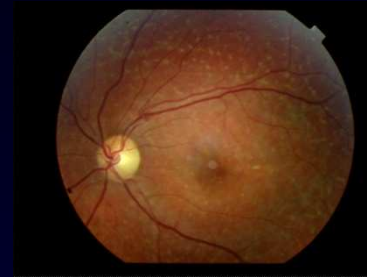
Onset	30 ys
Progression	mild
Flecks	No
Dark Choroid	No
Present Visual Acuity	0.5 OU

VV, m, 33 y
p.C1177X ; p.G1961E



Onset	28 y
Progression	Mild/severe
Flecks	No
Dark Choroid	no
Present Visual Acuity	0.2 OU

CD, f, 25 y
p.G1078E ; p.G1961E



Onset	11 ys
Progression	severe
Flecks	Yes
Dark Choroid	Yes
Present Visual Acuity	0.05 OU

-in previous reports, G1961E was considered a mild mutation, but in our series it may be associated with STGD phenotypes of different severity

-it can be speculated that its clinical expression depends on the mutation severity on the fellow allele

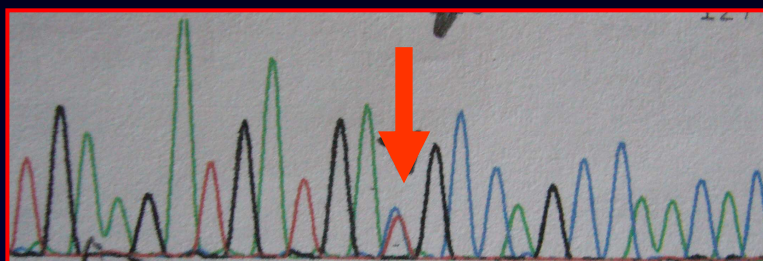
Simonelli F, Testa F, Zernant J et al "Genotype-phenotype correlation in families with Stargardt disease" Ophthalm Res 37:159-167,2005

Stefania P

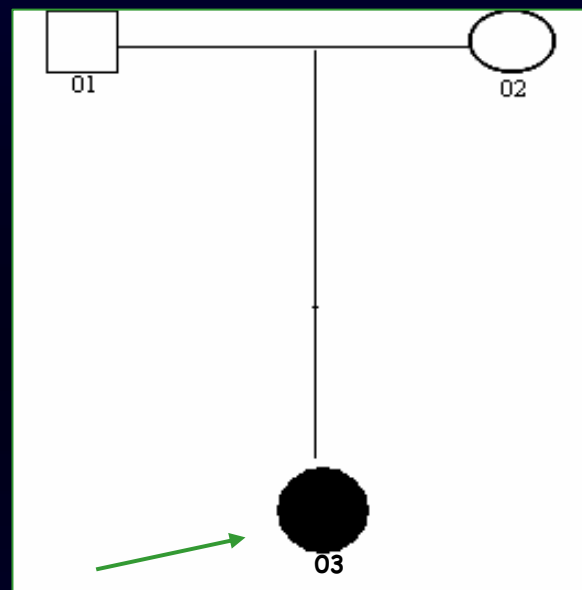


Mutazioni: **RDS/Per** p.Ile32Val

ABCR p.Gln21Stop
p.Gly1961Glu



Esone 1: p.Ile32Val (a>g)

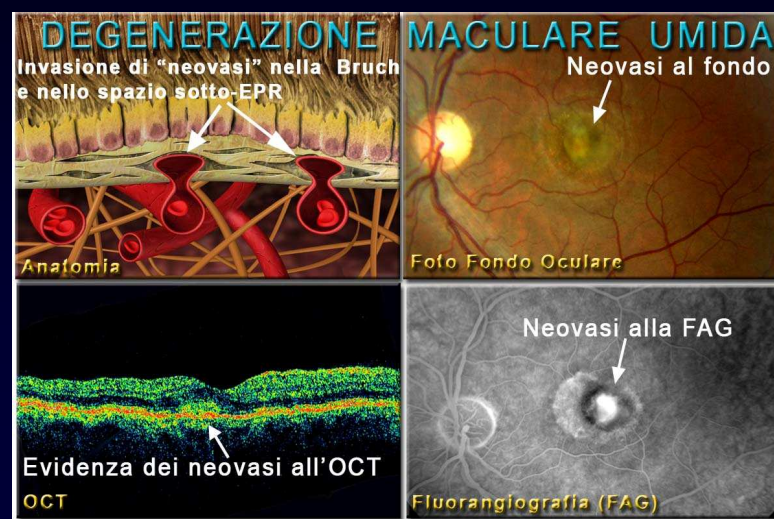


RDS/Per p.Ile32Val +/-

ABCR p.Gln21Stop +/-
p.Gly1961Glu +/-

ABCR

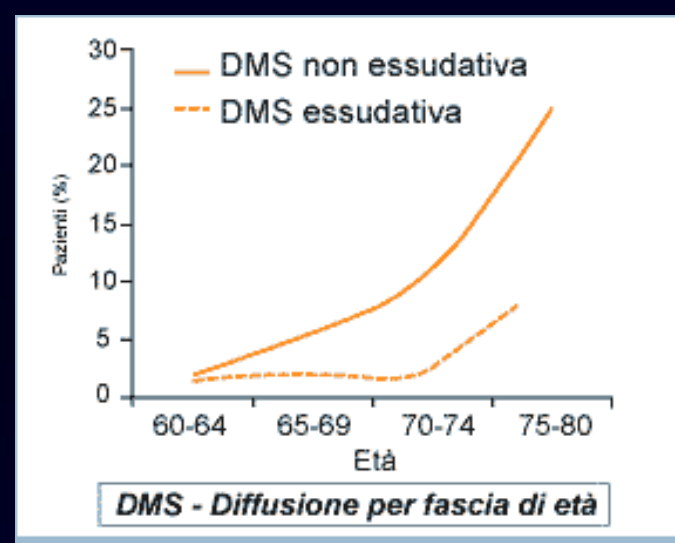
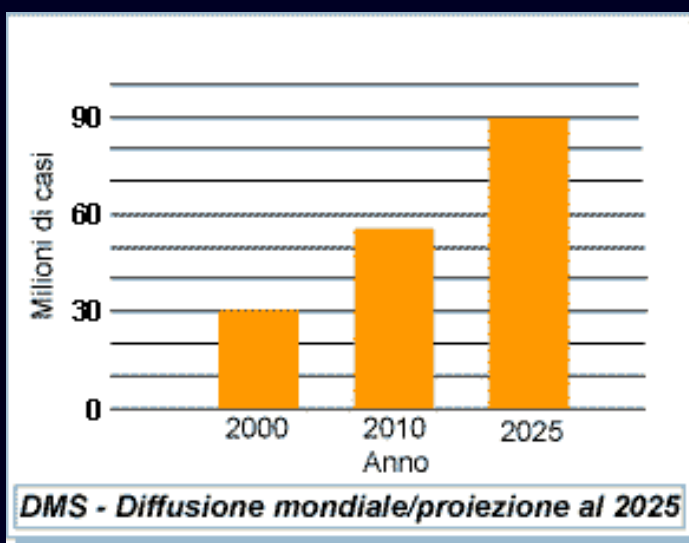
- ◆ Malattia di Stargardt (autosomica recessiva)
- ◆ Distrofia dei coni (autosomica recessiva)
- ◆ Retinite Pigmentosa (autosomica recessiva)
- ◆ Degenerazione maculare senile (AMD)



AMD



Colpisce nei soli Paesi Occidentali almeno 30 milioni di persone. Con il progressivo invecchiamento della popolazione per l'aumento della vita media, si stima che tra 20 anni il numero dei casi sarà tre volte superiore all'attuale (90 milioni nel 2025).



Il rischio di sviluppare la malattia è fortemente correlato all'età: la percentuale di persone colpite passa dal 2% tra gli ultracinquantenni a circa il 30% tra i soggetti con più di 75 anni. In Italia oltre 1,5 milioni di pazienti affetti da AMD.

Ereditarietà Multifattoriale

Le **malattie multifattoriali** sono patologie dove la suscettibilità è determinata dall'interazione tra fattori genetici, fattori dello sviluppo e fattori ambientali che determinano una particolare suscettibilità individuale



AMD



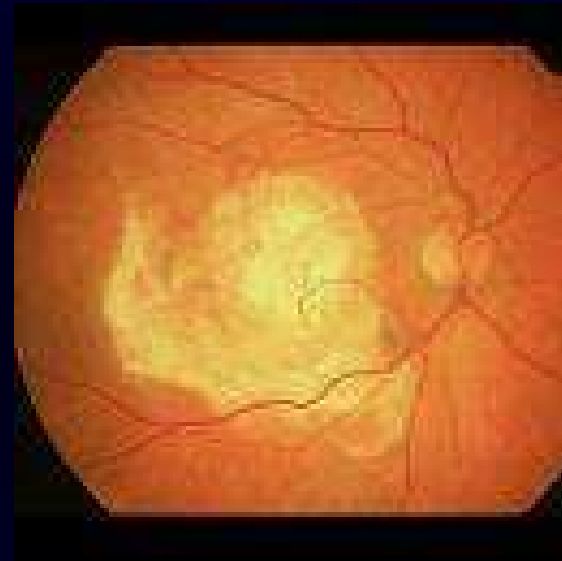
1-associazione del gene ABCR con la malattia di Stargardt (*Allikmets R, Nat Genet 1997*)

2-riscontro di mutazioni del gene ABCR nel 16% di 167 pazienti AMD (prevalentemente forme atrofiche) e solo nell'1% dei controlli (*Allikmets R, Science 1997*)

3-mancata conferma di questi risultati in altre casistiche (*Stone EM, Nat Genet 1998 ; Paz M, Ophthalmology 1999*)

4-studio collaborativo su 1218 pazienti AMD americani e dell'Europa occidentale che mostra un maggior rischio di AMD nei portatori di specifiche mutazioni ABCR (aumento del rischio di tre volte rispetto ai controlli per **D2177N** e di cinque volte per **G1961E**) (*Allikmets R, Am J Hum Genet , 2000*)

STUDI DI ASSOCIAZIONE (GENI CANDIDATI)



-ricercano le differenze genetiche fra una popolazione di pazienti affetti rispetto ad una popolazione di controlli sani
-si studiano di solito *geni candidati*, cioè geni che codificano per proteine di cui si conosca o si sospetti un coinvolgimento nel processo patologico

GENI ESAMINATI CON RISULTATO NEGATIVO

- TIMP3
- VMD2
- RDS
- GPR75
- IMP62
- LAMC1, LAMC2, LAMB3
- Fibulina 1,2,3,4

GENI CON UN SOLO RISCONTRO POSITIVO

- Fibulina 5
- CST3
- CX3CR1
- TLR4
- VEGF
- LRP6
- MMP9
- HLA



MAJOR REVIEW

The Genetics of Age-Related Macular Degeneration: A Review of Progress to Date

Stephen Haddad, MS,¹ Clara A. Chen, MHS,² Susan L. Santangelo, ScD,^{1,3,5}
and Johanna M. Seddon, MD, ScM^{2,4,5}

¹Psychiatric and Neurodevelopmental Genetics Unit, Massachusetts General Hospital; ²Epidemiology Unit, Massachusetts Eye and Ear Infirmary; ³Department of Psychiatry, Harvard Medical School; ⁴Department of Ophthalmology, Harvard Medical School; and ⁵Department of Epidemiology, Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA



Age-related macular
degeneration:
a perspective on
genetic studies

N Patel, T Adewoyin and NV Chong

CLINICAL STUDY

GENI CON PIU' DI UN RISCONTRO POSITIVO

- ABCR
- APOE
- LOC387715
- CFH, BF, C2
- HEMICENTIN-1
- PON1
- SOD2
- ELOVL4
- VLDRL
- ACE

ABCR

-nostra casistica: **103**
pazienti AMD (78 forme
atrofiche, 39 forme
essudative)



mutazioni nel
16,5%

MUTAZIONE	PAZIENTI	NUOVA/DESCRITTA
N96K	1	NUOVA
I156V	2	DESCRITTA
R152Q	1	DESCRITTA
R487W	1	NUOVA
R511H	1	NUOVA
R508C	1	NUOVA
R653C	1	DESCRITTA
G863A	1	DESCRITTA
T959S	1	NUOVA
N965S	1	DESCRITTA
L1201R	1	DESCRITTA
L1580S	1	NUOVA
G1961E	3	DESCRITTA
V2050L	1	DESCRITTA
K2172R	1	NUOVA
D2177N	2	DESCRITTA
IVS22-7 C>T	1	NUOVA

AMD



Anche alcuni polimorfismi di geni che codificano per fattori regolatori dell'attivazione del complemento sono stati associati a un maggiore (CFH) o minore (BF, C2) rischio di AMD. Le ricerche in corso sono volte a identificare un possibile profilo individuale di rischio genetico dell'AMD e a sviluppare in futuro una possibile terapia genica della malattia.

CFH

Complement Factor H Polymorphism in Age-Related Macular Degeneration

Robert J. Klein,¹ Caroline Zeis,² Emily Y. Chew,² Jen-Yue Tsai,² Richard S. Snickler,³ Chad Haynes,³ Alice K. Henning,³ John Paul SanGiovanni,³ Shyrkka M. Miano,⁴ Susan T. Mayne,⁵ Michael B. Bracken,⁶ Frederick L. Ferris,² Jurg Ott,⁷ Colin Bambasite,⁸ Josephine Hoh¹

Age-related macular degeneration (AMD) is a major cause of blindness in the elderly. We report the results of a study of 96 cases of late AMD, controls, and polymorphisms associated with AMD. Among 136,204 single-nucleotide polymorphisms, we found a common variant in the complement factor H gene (rs1044396) that was associated with AMD (P = 1.1 × 10⁻⁶). This variant was also associated with AMD in a replication study (P = 1.1 × 10⁻⁴). The variant was associated with AMD in a meta-analysis of 10 studies (P = 1.1 × 10⁻⁶). The variant was also associated with AMD in a meta-analysis of 10 studies (P = 1.1 × 10⁻⁶). The variant was also associated with AMD in a meta-analysis of 10 studies (P = 1.1 × 10⁻⁶).

Age-related macular degeneration (AMD) is a major cause of blindness in the elderly. We report a genome-wide screen of 96 cases and 50 controls for polymorphisms associated with AMD. Among 136,204 single-nucleotide polymorphisms genotyped, an intronic and common variant in the complement

©2005 Molecular Vision

emag.org SCIENCE VOL 308 15

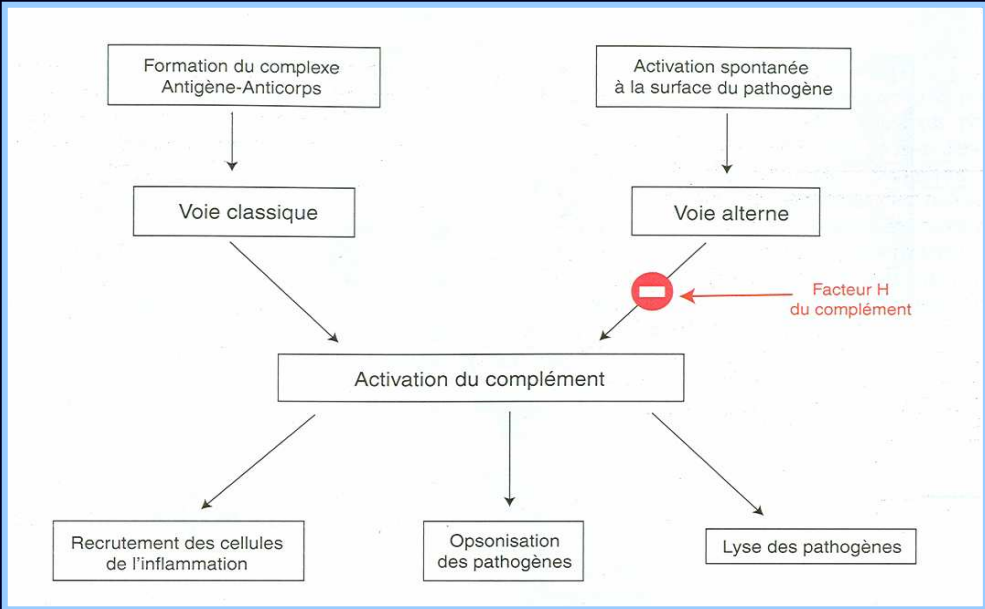
Study design. We design a whole-genome case-control association study for genes involved in AMD. To maximize the chance of success, we chose clearly defined phenotypes

We used a subset of individuals who participated in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) (12). From the AREDS

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: josephine.hoh@yale.edu

100

Y402H Complement factor H polymorphism associated with exudative age-related macular degeneration in the French population



→ aumento del rischio di AMD per i portatori del polimorfismo **Y402H** del gene per il fattore H del complemento (Complement Factor H, CFH) per riduzione dell'effetto inibitore del fattore C sull'attivazione della via alternativa del complemento (conseguente rafforzamento dei processi flogistici)

BF, C2



Nat Gen 38(4): 460-462

nature
genetics

L9H

R32Q

Variation in factor B (*BF*) and complement component 2 (*C2*) genes is associated with age-related macular degeneration

Bert Gold¹, Joanna E Merriam², Jana Zernant³, Lisa S Hancox³, Andrew J Taiber³, Karen Gehrs³, Kevin Cramer⁴, Julia Neel⁴, Julie Bergeron⁵, Gaetano R Barile², R Theodore Smith², the AMD Genetics Clinical Study Group, Gregory S Hageman³, Michael Dean¹ & Rando Allikmets^{2,6}

E318D

Introne 10

→ alcune varianti dei geni che codificano per il fattore B (complement factor B, *BF*) e la componente 2 (*C2*), entrambi situati nella regione del complesso maggiore di istocompatibilità classe III, risultano protettivi nei confronti dell'AMD, probabilmente interferendo negativamente con l'attivazione del sistema del complemento

LOC387715



✓ La presenza della variante LOC387715 (esone1, G>T, A69S, rs10490924,) è stata associata con un maggior rischio di AMD, con un più precoce esordio della malattia e con una sua più rapida progressione

✓ L'esatta funzione di LOC387715 è al momento sconosciuta ma questo gene è situato in una ampia regione di linkage disequilibrium per il rischio di AMD e si può supporre che la mutazione responsabile possa essere collocata in uno dei geni vicini non ancora identificati

Association of *CFH* Y402H and *LOC387715* A69S With Progression of Age-Related Macular Degeneration

Johanna M. Seddon, MD, ScM

Peter J. Francis, MD, PhD

Sarah George, MPH

Dennis W. Schultz, PhD

Bernard Rosner, PhD

Michael L. Klein, MD

AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION (AMD) is associated with *CFH* gene polymorphisms, including Y402H on chromosome 1, and the *LOC387715* variant A69S on chromosome 10.¹⁻⁹ Both forms of advanced AMD, geographic atrophy and neovascular disease, are related to these polymorphisms.^{7,8} Several previous studies have found and confirmed cross-sectional associations between AMD and the *CFH* and *LOC* genes. However, to our knowledge, no study has examined the prospective relationships between these common polymorphisms and progression from early or intermediate stages of maculopathy to advanced forms of AMD associated with visual loss. Factors associated with prevalence may differ from those associated with progression or incidence of disease. We evaluated these associa-

Context Studies have reported that single-nucleotide polymorphisms in the genes *CFH* and *LOC387715* are associated with age-related macular degeneration (AMD).

Objective To assess whether these genetic variants have prognostic importance for progression to advanced AMD and related visual loss.

Design, Setting, and Participants Prospective analysis of 1466 white participants in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS), a US multicenter clinical trial conducted from 1990 to 2001 with a mean follow-up time of 6.3 years. Age-related macular degeneration status was determined by grading of fundus photographs. Progression (n=281) was defined as newly diagnosed advanced AMD (geographic atrophy, exudative disease, or AMD causing visual loss) in one or both eyes during the course of the study. Genotypic analysis was conducted in 2006.

Main Outcome Measure Incidence rates of dry and neovascular advanced AMD.

Results The *CFH* Y402H and *LOC387715* A69S polymorphisms were each independently related to progression from early or intermediate stages to advanced stages of AMD, controlling for demographic factors, smoking, body mass index, and AREDS vitamin-mineral treatment assignment, with odds ratios (ORs) of 2.6 (95% confidence interval [CI], 1.7-3.9) for *CFH* and 4.1 (95% CI, 2.7-6.3) for *LOC387715* for the homozygous risk genotypes ($P<.001$ for trend for each additional risk allele for both genes). The effect of *LOC387715* was stronger for progression to neovascular disease (OR, 6.1; 95% CI, 3.3-11.2) compared with geographic atrophy (OR, 3.0; 95% CI, 1.4-6.5) relative to no progression for the homozygous risk state. The presence of all adverse factors (both risk genotypes, smoking, and body mass index ≥ 25) increased risk 19-fold. Smoking and high body mass index increased odds of progression within each risk genotype. Genetic plus nongenetic risk scores provided an area under the receiver operating characteristic curve of up to 0.78.

Conclusions Common polymorphisms in the genes *CFH* and *LOC387715* are independently related to AMD progression after adjustment for other known AMD risk factors. Presence of these polymorphisms plus AREDS vitamin-mineral treatment, smoking, and body mass index of 25 or higher identify patients who are highly susceptible to developing advanced stages of this visually disabling disease.

JAMA. 2007;297:1793-1800

www.jama.com

Ruolo dell'angiogenesi in fisiopatologia

- Malattie autoimmuni (artrite reumatoide e psoriasi)
- Malattie cardiovascolari
- Crescita neoplastica
- Disordini infiammatori
- Retinopatia diabetica
- Degenerazione maculare senile (AMD)



With macular degeneration, print may appear distorted, and areas of words may be missing.

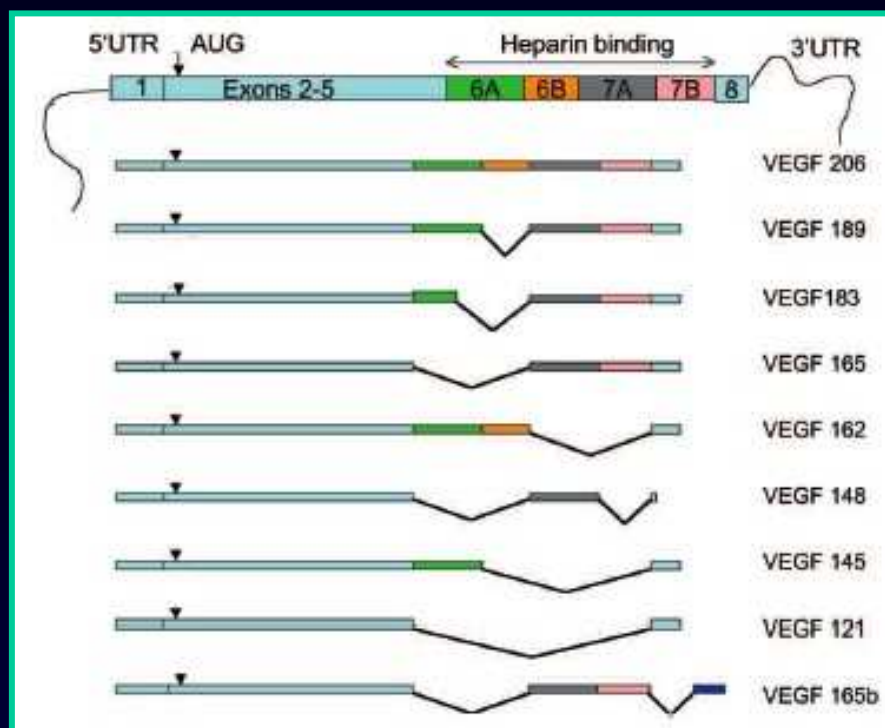
Fattori angiogenici

Pro	Contro
Angiogenina	Angiostatina
Leptina	Endostatina
Fattore di crescita dei fibroblasti (acido e basico) (FGF)	Interferone alfa e beta (IFN)
Fattore di crescita degli epatociti	Interleuchina-12 (IL-12)
Interleuchina 8	Proteine indotte dall'interferone
Fattore di crescita placentare	Maspina
Fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF)	Inibitore dell'attivatore del plasminogeno
Pleiotropina	Fattore piastrinico 4
Fattore di crescita trasformante (TGF)	Inibitori tessutali delle metalloproteinasi
Fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-alfa)	Inibitore del fattore di crescita endoteliale
Fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF)	Vasostatina
Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)	Trombospondina-1

VEGF

(Vascular endothelial growth factor)

Lo splicing alternativo di un singolo pre-mRNA genera diverse isoforme di VEGF-A



VEGF-A 165

- Specie molecolare predominante
- Manca dei residui codificati dall'esone 6



Prodotto : Cand-5 - Bevasiranib

Azione: Inibizione intracellulare della produzione del VEGF

Somministrazione : Iniezione Intravitreale

Comitato Scientifico : Drs. Lloyd Paul Aiello, Alexander Brucker (SAB Chair), Yihai Cao, Alan Gewirtz, Baruch Kuppermann, Richard McCloskey, Lawrence Singerman, William Tasman, Jason S. Slakter and Lawrence A. Yannuzzi

Fase I: scarsi effetti collaterali (dose : 3 mg) : emorragia sottocongiuntivale, dolore locale, corpi mobili endovitreali

CONCLUSIONI E OBIETTIVI FUTURI

La conoscenza dei meccanismi biologici dell'angiogenesi (o almeno di quelli piu' significativi) permette di identificare dei bersagli molecolari per cercare di modulare il fenomeno nelle condizioni patologiche (es. angiogenesi nei tumori, neovascolarizzazione oculare)

**Paziente con sospetto
clinico**

Inviato dall' oculista

**Fase
pre-analitica**

Consulenza genetica

**Fase
analitica**

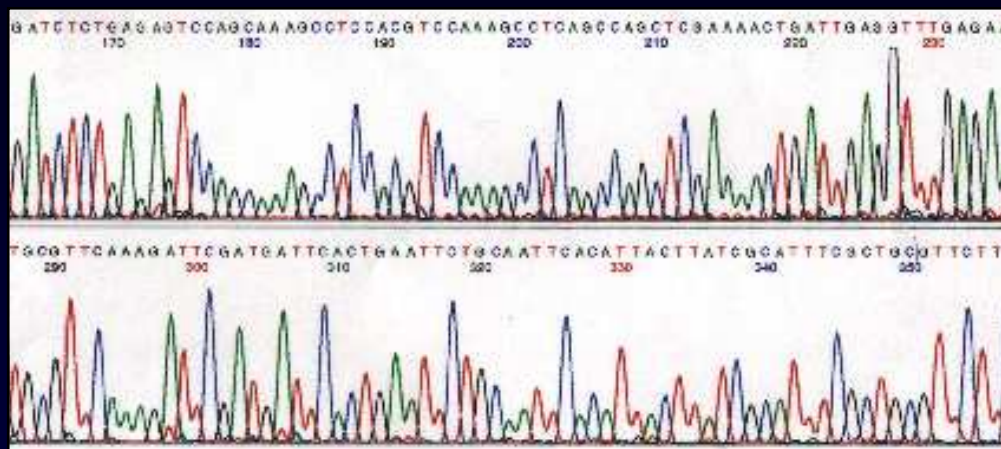
- Estrazione del DNA da sangue periferico
- Reazioni PCR: amplificazione degli esoni dei geni di interesse. Segue purificazione dei prodotti di PCR
- Reazioni di sequenza: sequenziamento degli esoni dei geni di interesse a partire dai prodotti di PCR. Segue purificazione dei prodotti di reazione
- Corsa elettroforetica su sequenziatore automatico
- Analisi dei dati

**Fase
post-analitica**

**Refertazione
Consulenza post test**

SCREENING AUTOMATICO





PATOLOGIE MULTIGENICHE

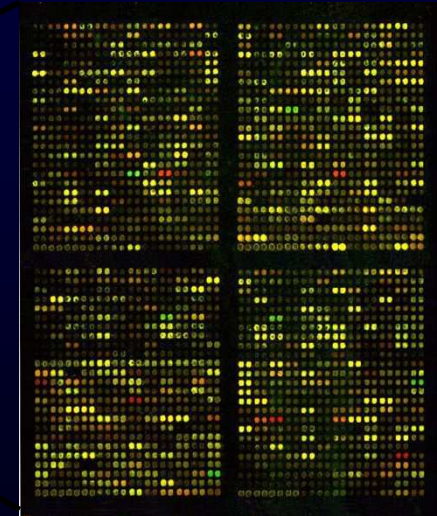
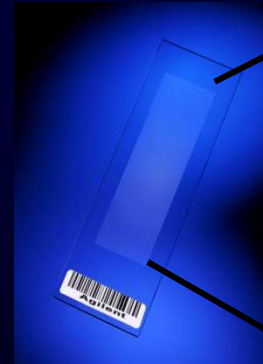
RETINITE
PIGMENTOSA:
oltre 34 geni coinvolti

AMAUROSIS CONGENITA DI
LEBER:
11 geni coinvolti

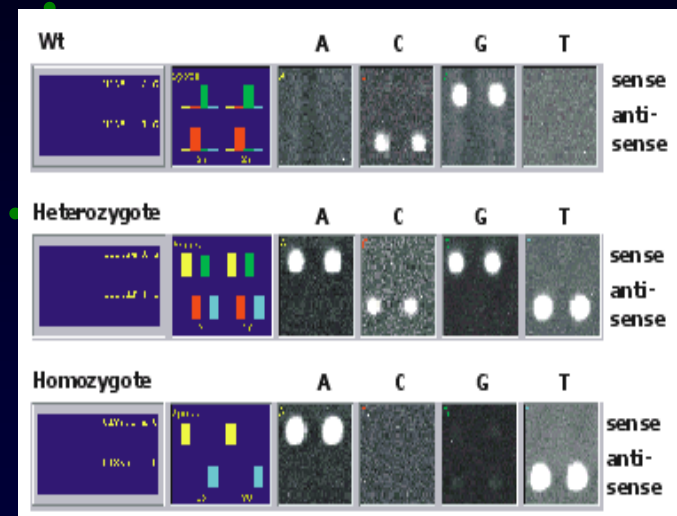
SINDROME DI
USHER:
8 geni coinvolti

*Necessità di una tecnica che consenta di effettuare un primo
screening delle mutazioni più frequenti*

Nuove tecniche di screening

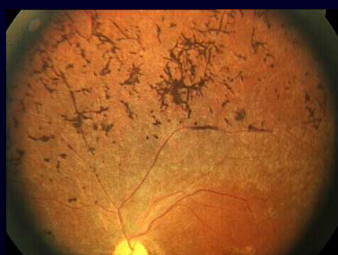


Microarray specifico per le patologie retiniche che permette di analizzare molte mutazioni in più geni contemporaneamente



Test disponibili

Retinite Pigmentosa AR



501 mutazioni in 16 geni

CERKL, CNGA1, CNGB1, MERTK, PDE6A, PDE6B, PNR, RDH12, RGR, RLBPI, SAG, TULP1, CRB, RPE65, USH2A, USH3A

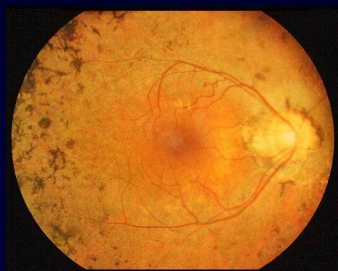
Amaurosi Congenita di Leber



451 mutazioni in 11 geni

AIPL1, CRB1, CRX, GUCY2D, LRAT, TULP1, MERTK, RPE65, RPGRIP1, CEP290, RDH12

Sindrome di Usher



429 mutazioni in 8 geni

CDH23, MYO7A, PCDH15, USH1C/Harmonin, SANS, USH2A/Usherin, VLGR1, USH3A

Percorso diagnostico proposto



Consulenza genetica
pre-test



Screening di mutazioni
mediante tecnologia APEX
Microarray



Conferma delle mutazioni
mediante sequenziamento

Studio della correlazione
genotipo-fenotipo



Consulenza
genetica post test

Test genetico: perchè

Conferma diagnosi
clinica incerta

genotipo-fenotipo

classificazione

Idoneità per trials
clinici

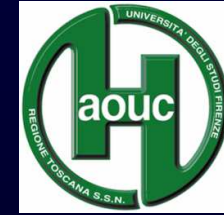
(terapia genica)

monitoraggio

Valutazione rischio di ricorrenza
(possibilità di trasmettere la
malattia ai propri discendenti)

AOU Careggi
SOD Diagnostica Genetica

E-mail: passerini@aou-careggi.toscana.it



ILARIA PASSERINI

La consulenza genetica e i test genetici nella
pratica clinica

MACULOPATIE

Siena, 24 Settembre 2009