

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИ АСПЕКТИ НА НАСЛЕДСТВЕНАТА СЛЕПОТА

**Борислав Попов\*, Веселина Петрова-Тачева\*, Севдалина Алекова\*\***

*\*Катедра “Молекулярна биология, имунология и медицинска генетика”, Медицински факултет*

*\*\*Катедра “Обща медицина и офталмология”, Медицински факултет  
Тракийски университет, Армейска 11, гр. Стара Загора  
e-mail: dr\_b\_popov@abv.bg*

## MOLECULAR GENETIC ASPECTS OF HEREDITARY BLINDNESS

**Borislav Popov \*, Veselina Petrova-Tacheva \*, Sevdalina Alekova \*\***

*\*Department of Molecular Biology, Immunology and Medical Genetics, Faculty of Medicine*

*\*\*Department of General medicine and Ophthalmology, Faculty of Medicine Trakia University, 11 Armejska str., Stara Zagora, Bulgaria ABSTRACT  
e-mail: dr\_b\_popov@abv.bg*

### ABSTRACT

This review presents the causes and forms of hereditary blindness. It has an emphasis on the need for molecular genetic knowledge of hereditary blindness as a major factor for its diagnosis and prevention. Modern genetic methods and biotechnology advances used in ophthalmogenetics are presented. In terms of timely prevention of visual functions, the early clinical genetic diagnosis, opportunities for timely treatment of phenotype and prognosis of visual functions, the ophthalmologist must know hereditary diseases that affect the visual system, and genetic causes, mechanisms and characteristics of their occurrence, development and impact.

*Keywords: hereditary blindness ophthalmogenetics, cytogenetic methods, molecular genetic methods, and microarray method.*

### Въведение

По обобщени данни, от On-line Mendelian Inheritance in Man – OMIM – 2013 г., броят на описаните в достъпната литература наследствени заболявания при човека днес (АД, АР, Х-свързани, У-свързани, митохондриални, соматични мутации) е огромен (22114) и продължава да се увеличава (28). При 1/3 от тези заболявания се засяга и зрителната система, а при 2/3 от тях клиничният фенотип е налице към момента на раждането. Около 3500 е броят на хромозомните заболявания и на наследствените синдроми, при някои от които е засегната и зрителната система. Броят на описаните до сега наследствените заболявания с очна изява е 969, като 754 от тях са с известен фенотип и уточнен ген, 123 са с известен фенотип и менделиращ тип на унаследяване и 92 са с известен фенотип и суспектен менделиращ тип на унаследяване (25).

### Молекулярно-генетичните познания за наследствената слепота – основен фактор за нейната диагностика и профилактика

След приключването на международните проекти за дешифриране (секвениране) на човешкия геном (Human Genom Project – HGP, 1990-2003 г. и Celera Genomics , 1998 – 2003 г.), се разшириха и неимоверно много се обогатиха познанията за гените като носители на наследствената информация (23). Днес HGP включва информация за повече от 1800 гена асоциирани със заболявания при човека. Секвенирането на човешкия геном се счита за най-крупното постижение на човешката наука през ХХ-ти век, а резултатите от проучванията станаха достояние на цялото човечество. Днес е възможно изолирането, de novo синтезирането и генетичното манипулиране на конкретни гени, които кодират точно

определен белтък (16, 23, 26, 35). Обогатиха се познанията за ролята на мутациите и за сложните механизми на активиране и потискане на генната експресия, чрез изясняване на основните принципи на епигенетичните механизми (28). Скокът в развитието на биотехнологиите, на рекомбинантните ДНК технологии, както и на молекулярната медицина, а също така навлизането на съвременни генетични методи и високотехнологични апаратури за генетична диагностика на молекулярно ниво в клиничната практика, позволяват качествено нов подход за ранната диагноза на редица наследствени заболявания при човека, включително и на наследствени заболявания на зрителната система (1, 8, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 29, 31). Всичко това доведе до формирането на интердисциплинарна медицинска специалност офталмогенетика. Обект на офталмогенетиката са наследствено-детерминирани увреждания и заболявания на зрителната система – тяхната ранна диагностика и диференциална диагностика с фенотипно сходни увреждания (които би могло да се дължат както на различни генетични, така и на различни екзогенни фактори), своевременната им профилактика, възможността за лечение на фенотипа и зрителна рехабилитация (2, 3, 4, 9, 10, 11, 13, 15, 27, 21, 27, 30, 32, 33, 34, 36).

Конкретните генетични открития, които оказаха съществено значение за изучаването на наследствените заболявания на зрителната система на съвременен етап са:

- Ролята на PAX6 (Paired box6, 11p13) гена и на редица транскрипционни гени и фактори, които имат отношение за морфогенезата и антенаталното развитие на човешкото око/очи
- RX (retina and anterior neural homeobox), с хромозомна локализация 18q21; SOX2 (SRI-box-containing gene2), хромозомна локализация 3q26; PITX2 (paired-like homeodomain transcription factor2), хромозомна локализация 4q25; PITX3 (paired-like homeodomain transcription factor3), хромозомна локализация 10q25; FOXC1 (Forkhead box C1), хромозомна локализация хромозомна локализация 6p25 и др.
- Експерименталните съвременни генетични проучвания на окото/очите върху различни животни.
- Уточняването на транскрипционните фактори, които засягат първичното развитие на предния очен сегмент.
- Уточняването на транскрипционните фактори, които засягат първичното развитие на задния очен сегмент.
- Уточняването на транскрипционните фактори със синдромна очна манифестация при редица наследствени заболявания.
- Резултатите от молекулярно-генетичното проучване на редица метаболитни заболявания с очна изява.
- Резултатите от проучването на някои тумори/туморни синдроми с очна изява.
- Проучванията на генетиката на соматичната клетка (с клиничен модел ретинобластома).
- Проучванията на генетиката на митохондриалното увреждане (с клиничен модел Леберовата атрофия на зрителния нерв).

Поставянето на ранна клинична диагноза в офталмологията е възможно при голям брой заболявания на зрителната система, независимо от локализацията на патологичния процес в окото или възрастта на пациента (5, 14, 22, 24, 35). Уточняването, дали очната патология е изолирана или асоциирана с общо увреждане и своевременното поставяне на клинично-генетичната диагноза с уточняване на генетичния фактор, особено при спорадичните случаи, както и при синдромите, или в случаите когато се касае за неизвестен или по-малко известен клиничен фенотип, е многоетапен интердисциплинарен процес. Той изисква прилагането на различни съвременни методи за своевременно уточняване на точната и пълна клинична диагноза, проследяването на фенотипа във времето, прилагането на високотехнологични параклинични и високотехнологични скъпи генетични изследвания.

### **Съвременни генетични методи и биотехнологични постижения използвани в областта офталмогенетиката**

#### ▪ **Методи за генетичен анализ на клетъчно ниво (цитогенетични и молекулярно-цитогенетични методи)**

Цитогенетичните методи са много на брой и са добре документирани в достъпната литература по медицинска генетика. Установеният кариотип се изписва съгласно общо възприетата международна система за лентовите методи – G, Q, R, C, T, DA, DAP1, NOR, CXO лентови техники - ISCN, 1995 (6, 7, 8).

Молекулярно-цитогенетичните методи са също много на брой. FISH (флуоресцентна ин ситу хибридизация), PRINS (ин ситу полимеразна реакция), Fiber-FISH (високорезолютивен FISH върху изтеглена ДНК фибрила), CGH (сравнителна геномна хибридизация), многоцветен FISH (6, 7, 8).

Провеждането на всички тези методи се осъществява в специализираните медико-генетични лаборатории от съответните специалисти.

Днес някои форми на ретинобластома и на аниридията се считат за резултат на микроделеционни структурни промени и са открити чрез посочените методи. Някои асоциации на микрофтalma с различни структурни аномалии на окото – на увеята, лещата, ретината, зрителния нерв може да се дължат на различни хромозомни нарушения (46).

#### ▪ **Методи за изследване на биохимично ниво на продукта на генното действие**

Тези методи се използват при необходимост за диагностициране на някои заболявания на обмяната на веществата, вродени анемии, обменни енцефалопатии и др. Днес са известни около 300 веществообменни заболявания, като при 150 от тях са известни биохимичните промени. Най-често срещани и имащи същевременно отношение към зрителната система заболявания на обмяната на веществата са галактоземията, фенилкетонурията, хомоцистинурията, тоталният албинизъм и много други (6, 7, 8, 28).

Не е доказан биохимичен маркер, който да има самостоятелна диагностична стойност при нито едно изолирано наследствено заболяване на зрителната система.

#### ▪ **Методи за генетично изследване на имунната система**

Ценни са постиженията на имуногенетиката в изучаването на HLA системата (Human Leukocyte Antigen system) и клиничното им приложение. Днес термина HLA се замества от по-широкото и разпространено понятие Главен комплекс на тъканната съвместимост (ГКТС), като в много публикации у нас се използва и съкращението МНС. Системата ГКТС на всеки индивид е представена от гени на тъканната съвместимост, които се намират в различни локуси на ГКТС в 6-та хромозома у човека и от молекули на ГКТС, експресирани на повърхността на всички ядроносни клетки. Някои от имуногенетичните изследвания имат съществено приложение в офталмологията. За кератопластиката и за етиологичното уточняване на някои увеити (M. Behcet, идиопатичния ювенилен артрит и др.) своевременното доказване на конкретни HLA-маркери и съответните им локуси е важно за ранната диагноза, избора на съвременно лечение и прогнозата за зрителните функции (6, 7, 8, 12, 28).

#### ▪ **Молекулярно-генетични методи**

Това е най-новата, съвременна и приоритетна група от методи. Молекулярно-генетичните методи позволиха да бъде изучена молекулярната организация на наследствените структури, а също така и настъпилите генни и геномни (екзомни) мутации в тях (8, 18, 20, 28). При над 1000 наследствени заболявания с очна изява вече е уточнен гена/гените, хромозомната им локализация и генния продукт, а при някои и вариантите на екзомно ниво, като например при първичната вродена глаукома и при някои форми на първична откритоъгълна глаукома при възрастни - MYOC (Myocilin, trabecular meshwork inducible glucocorticoid response или TIGR) ген, CYP1B1 (Cytochrome P450 1B1) ген, WDR36 (WD repeat-containing protein 36) ген, OPTN (Optineurin) ген и др. При класическата форма на

аниридия, някои анофтальми, някои форми на микрофтальм, и др. PAX6 (Paired box -6) ген, при някои АД форми на вродена изолирана катаракта PITX3 (Paired-like homeodomain transcription factor) ген, BFSP2 (Phakinin in humans) ген, GJA3 (Lens connexin-46) ген и др. При някои AP форми на вродена изолирана катаракта FICO1 (Fyve and coiled-coil domaincontaining 1) ген, CRYAA (Cristallin alphaA) ген и др. Катарактата (двустранна и зонуларен тип най-често) при синдрома лицев дисморфизъм, вродена катаракта, невропатия (CCFDN syndrome), описан в българската популация, при много от АД и AP форми на пигментен ретинит, при макулената дегенерация свързана с възрастта и при много други (16, 18, 21, 28).

#### ▪ **Микрочипови методи**

Микрочиповите методи имат редица предимства пред молекулярно-генетичните методи. Те са най-модерната и много скъпа технология в съвременната научна и медицинска практика. Използват се за широко обхватно изследване на малки промени в целия геном (single-nucleotide polymorphism – SNP), както и за изследване на генната експресия на всички или повечето гени в генома.

#### **Заклучение**

Наследствените заболявания на зрителната система са много на брой, могат да засегнат всяка една от многобройните структури на зрителната система и същевременно с това те са редки заболявания в ежедневната практика на офталмолога и много бавно се натрупва личен опит в изучаването им.

Огромният брой на описаните в литературата наследствени заболявания на зрителната система (над 1000). Рядката честота на огромен брой от тях. Клиничният им полиморфизъм, както и полиморфизма на конкретни наследствени заболявания (вродена тотална катаракта, вродена зонуларна катаракта, първична вродена глаукома, пигментен ретинит, макулена дегенерация свързана с възрастта, кератоконус, ювенилна макулена дегенерация, конкомитентен страбизъм и др.), хетерогенността, генетичния полиморфизъм, а също така и фенотипната неспецифичност за конкретна етиология (конкретна генетична или конкретна екзогенна) силно затрудняват ранната клинично-генетична диагноза и изискват от офталмолога познаването, насочено търсене и включването на всички патологични стигми в окончателната клинична диагноза.

От гледна точка на своевременната профилактика на зрителните функции, на ранната клинично-генетична диагностика, на възможностите за своевременно лечение на фенотипа и прогнозата на зрителните функции, офталмологът трябва да познава наследствените заболявания, които засягат зрителната система, както и генетичните причини, механизмите и особеностите за тяхното възникване, развитие и последиците им.

#### **ЛИТЕРАТУРА:**

1. Международна класификация на болестите (МКБ), 10-та ревизия, I, II т. (2010).
2. Национална конференция с международно участие “Наследствена и вродена очна патология”, 20-21 ноември 1998 г. Сб. Резюме, с. 94.
3. Попова, А (1994). Клинично-генетични форми и варианти на детската очна патология, водеща до слепота. Канд. дис., София.
4. Попова, А. Нов метод за клинично-генетична оценка на очния фенотип. Български офталмологичен преглед, год. XLVII, бр. 1, 2003, 57 – 60.
5. Танев, В. Флуоресцеинова ангиография на очното дъно. М.Ф., София, 1990, 91 с.
6. Тончева, Д. и съавтори. Редки генетични болести част I. Симелпрес, 2014, 543 с.
7. Тончева, Д. и съавтори. Редки генетични болести част II. Симелпрес, 2014, 464 с.
8. Тончева, Д. Медицинска генетика в постгеномната ера. Геномна медицина, Тончева, Д. и съавтори. Редки генетични болести част I. Симелпрес, София, 2010, 882 с.

9. Филипов, Е. Н. Наследствените и вродените заболявания на окото в етиологията на детската слепота и тяхната профилактика. Канд. Дис., 1980, София.
10. Филипов, Е. Основи на офталмогенетиката, с. 43-53, в Клинична офталмология, Л. Луков, МФ, София, 1985, 334 с.
11. Филипов, Е. Проблеми на офталмогенетиката в България. Български Офталмологичен Преглед, бр.1, 1999 (5-11).
12. Цонева, М. Медико-генетична консултация. М.Ф., София, 1984, 344 с.
13. Цонева, М. Справочник за наследствените болести и предразположения. М.Ф., София, 1988, 255 с.
14. American Academy of Ophthalmology. Basic and Clinical Science Course 2012-2013; Lifelong Education for the Ophthalmologist.
15. Churchill, A , Graw, J 2011, 'Clinical and experimental advances in congenital and paediatric cataracts'. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, vol 27;366(1568), pp. 1234 – 1249.
16. Churchill AJ, Booth AP, Anwar R, Markham AF. PAX 6 is normal in most cases of Peters' anomaly. *Eye*. 1998;12(Pt 2):299–303.
17. Churchill AJ, Hanson IM, Markham AF. Prenatal diagnosis of aniridia. *Ophthalmology*. 2000;107:1153–6.
18. Direct Genomic Value (<http://projects.tcag.ca/variation/>).
19. Farrar GJ, Kenna P, Jordan SA, Kumar-Singh R, Humphries MM, Sharp EM, Sheils DM, Humphries P (Jan 1992). "A three-base-pair deletion in the peripherin-RDS gene in one form of retinitis pigmentosa". *Nature* 354 (6353): 478–480.
20. Genedx ([www.genedx.com](http://www.genedx.com)), 2000-03.12.2013.
21. Graw, J. The genetic and molecular basis of congenital eye defects. *Nature Rev. Genet.* 4, 876-888 (2003).
22. Harley, R.D., L.B. Nelson, S.E. Otilsky. *Harley's pediatric ophthalmology*. Lippincott Williams & Wilkins, 2005, 587 pp.
23. Human Genome Project (HGP), 24.01.2013, [www.genome.gov](http://www.genome.gov)
24. Kanski, J. J. *Clinical Ophthalmology, A Systematic Approach With Expert Consult - Online and Print 7/E (Paperback)*, Seventh edition, 2011, [www.xxl-sale.co.uk/sale](http://www.xxl-sale.co.uk/sale)
25. Krawczynski, M. *Ophthalmogenetics*, on line, 22.05.2011.
26. Mac Donald, I., M. Tran, M.A. Musarella. *Ocular Genetics: Current Understanding*. Survey of Ophthalmology, vol. 49, number 2, March-April, 2004, 159- 196.
27. Mc Kusick, V.A. *Mendelian Inheritance in man*. Catalogs of autosomal-dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes, 6th edition, Baltimore, London, Johns Hopkins Univ. Press, 1982, 975.
28. Online Mendelian Inheritance in Man, (OMIM), [www.omim.org](http://www.omim.org). (2013).
29. Orphanet Journal of Rare Diseases (on line), 2013. ([www.orpha.net](http://www.orpha.net)).
30. Reed E. Pyeritz. The family history: the first genetic test, and still useful after all those years?. *Genetics in Medicine* (2012) 14, 3–9 [Published online 07 October 2011]. Kam lit. za daltonisma ot Wilson
31. Terminology and guidelines for glaucoma (3-rd Edition 2008), European Glaucoma Society.
32. Tonwar, M., R. Sihota, T. Dada et all. Sturge-Weber syndrome with Congenital Glaucoma and Cytochrome P450(CYB1B1) Gene Mutations. *J. Glaucoma*, 2009, dec. 30.
33. Traboulsi, E. I. Malformations of the anterior segment of the eye. In: Traboulsi, E. I. (ed.) : *Genetic Diseases of the Eye*. New York: Oxford Univ. Press 1998:81-88.
34. Traboulsi EI. *A Compendium of Inherited Disorders and the Eye*. New York, NY: Oxford University Press, Inc; 2006: 22-25.
35. Traboulsi EI. *Genetic Diseases of the Eye*, Second Edition, New York, NY, Oxford University, 2012.
36. Von Norden KG. *Binocular vision and ocular motility*. The C.V. Mosby Company. St Louis-Baltimore-Philadelphia-Toronto-1990.