

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“ IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA

Facultatea de Medicină

TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDIUL CLINIC, GENETIC ȘI EPIDEMIOLOGIC AL
UNOR FAMILII CU GLAUCOM**

Conducător științific:

Prof. Dr. ARIANA PROTASE

Doctorand:

Roșca Olimpia

2011

CUPRINS

Introducere	1
LISTA ABREVIERILOR.....	2

Partea I-a

SINTEZA UNOR DATE DIN LITERATURA DE SPECIALITATE

1. CADRUL NOSOLOGIC.....	9
1.1. Definiție	9
1.2. Clasificarea glaucomului	10
1.3. Frecvența glaucomului	12
1.4. Simptomatologia glaucomului	13
2. Patogeneza glaucomului.....	14
2.1. Cauzele apoptozei neuronilor multipolari și a celulelor gliale	14
3. Diagnosticul clinic al glaucomului.....	17
3.1. Examenul oftalmologic	17
3.1.1. Examenul oftalmologic de rutină.....	17
3.1.2. Măsurarea presiunii intraoculare	19
3.1.3. Examinarea unghiului camerei anterioare (gonioscopia)	21
3.1.4. Evaluarea deschiderii unghiului	23
3.1.5. Evaluarea discului optic.....	26
3.1.6. Tomografia laser	28
3.1.7. Măsurarea grosimii stratului de celule nervoase	29
3.1.8. Testarea câmpului vizual (perimetria).....	30
3.1.9. Evaluarea perfuziei oculare	32
3.1.10. Măsurarea tensiunii arteriale	33
3.2. Examinări speciale	35
4. Genetica glaucomului.....	35
5. Tratamentul glaucomului	42

Partea II-a

CERCETĂRI PERSONALE

1. Motivația și obiectivele cercetării	46
2. Metode de studiu utilizate și pacienți.....	46
2.1. Pacienții luați în studiu	47
2.2. Anamneza.....	48
2.3. Examenul clinic.....	49

2.4. Examinările paraclinice	49
2.5. Investigații de genetică moleculară.....	49
3. Aspecte clinice în glaucom	60
3.1. Aspecte clinice în glaucomul congenital	61
3.1.1. Glaucomul congenital primar	62
3.1.2. Glaucomul congenital secundar.....	62
3.1.3. Discuții.....	64
3.2. Aspecte clinice în glaucomul acut sau glaucomul cu unghi închis.....	66
3.3. Aspecte clinice în glaucomul cronic cu unghi deschis	68
3.4. Discuții.....	79
3.5. Concluzii	84
4. Aspecte genetice în glaucom.....	85
4.1. Analiza arborilor genealogici.....	85
4.1.1 Discuții.....	101
4.2. Studii de genetică moleculară	102
4.2.1. Mutațiile genei p53 în glaucom	104
4.2.3. Concluzii	114
5. Studiul biostatistic	116
5.1. Rezultate și discuții	116
5.2. Concluzii	135
6. Concluzii generale și contribuții personale	137
BIBLIOGRAFIE SELECTIVA.....	142

CUVINTE CHEIE

Arginină, ADN, AHC, APP, APF, boală Parkinson, citozină, cardiopatie ischemică cronică, diabet zaharat, ERG, guanină, glaucom congenital primar, glaucom primar (cronic) cu unghi deschis, glaucom primar cu unghi închis, glaucom cu unghi deschis cu debut juvenil, kilobaze, perechi de baze azotate, prolină, polimorfism al unui singur nucleotid, secvențe repetitive polimorfe, Tris-acetat-EDTA.

1. CADRUL NOSOLOGIC

1.1. Definiție

Glaucomul (OMIM 137760) reprezintă un grup de boli oculare care au ca trăsături comune următoarele elemente: presiunea intraoculară crescută, afectarea nervului optic,

reducerea câmpului vizual și a acuității vizuale. În glaucom, prin distrugerea progresivă a fibrelor nervului optic, nerv care este responsabil de transmiterea informațiilor de la ochi la creier, se produce restrângerea treptată a câmpului vizual și, în final, se poate ajunge la orbire. În glaucom, celulele nervoase: cu conuri și bastonașe, neuronii bipolari și ganglionari multipolari, precum și fibrele nervoase ce formează nervul optic mor progresiv. Pe parcursul evoluției glaucomului, când numărul celulelor ganglionare lezate este mare, se instalează defectele severe de vedere. Când pacientul devine conștient de reducerea câmpului vizual, afecțiunea sa este într-un stadiu avansat.

1.2. Clasificarea glaucomului

Fiecare din cele trei mari tipuri de glaucom: congenital primar, cu unghi închis și cu unghi deschis sunt heterogene clinic și genetic (Spaeth GL., 1994; J. Flammer, 2002; Foster PJ și colab. 2002).

Glaucomul congenital primar (biftalmia sau hidroftalmia) reprezintă o afecțiune a nervului optic, cauzată de creșterea tensiunii intraoculare. Se manifestă prin reducerea câmpului vizual provocată de distrugerea fibrelor nervoase optice ca urmare a dispariției celulelor ganglionare multipolare, generată de presiunea intraoculară crescută.

Glaucomul primitiv cu unghi închis este determinat de: blocarea unghiului irido-corneean și creșterea tensiunii oculare, prezența unui iris plat și de mărirea volumului cristalinului odată cu vârsta, de subluxația de cristalin, cataractă, tumori oculare, formațiuni neovasculare, inflamații (White J.2011).

Glaucomul primitiv cu unghi deschis se caracterizează prin: afectarea nervului optic și alterarea câmpului vizual asociate cu presiune intraoculară crescută. Obstrucția trabeculară are cauză neelucidată (Kitazawa Y. 2001; Rezaie T și colab., 2002).

1.3. Frecvența glaucomului

Numărul persoanelor afectate de glaucom este influențat de grupul etnic studiat și de vârstă (Kosoko-Lasaki O și colab. 2006; Anraku A și colab. 2011; El-Mekawey HE și colab. 2011). Datele epidemiologice referitoare la frecvența glaucomului sunt incomplete. Totuși, se pare că glaucomul afectează 3% din populația generală (cu o prevalență mai mare la vârstnici).

1.4. Simptomatologia glaucomului

Glaucomul se caracterizează prin pierderea lentă, progresivă și indoloră a vederii. În faza de debut a glaucomului, pacientul este adesea asimptomatic. El nu observă pierderea vederii decât într-o fază avansată a glaucomului deoarece acuitatea vizuală centrală rămâne intactă mult timp.

La debut, dispare câmpul vizual periferic, apoi cel central și cel nazal, ultimul care dispare fiind cel temporal producându-se reducerea concentrică a câmpului vizual. Dintre simptomele cele mai frecvent întâlnite la pacienții cu glaucom enumerăm: pierderea vederii periferice sau tulburări în percepția culorilor, durere în regiunea globilor oculari, grețuri și vărsături. Simptomele diferă în funcție de tipul glaucomului.

2. PATOGENEZA GLAUCOMULUI

Glaucomul se datorează în principal morții celulare a celulelor nervoase retiniene și a axonilor, precum a celulelor gliale și a altor celule din zona discului optic (Schmitz-Valckenberg S, și colab. 2010; Cordeiro MF și colab. 2011). Moartea celulară se poate realiza printr-unul din următoarele moduri: prin necroză sau prin apoptoză sau moarte celulară programată (Shimizu S, și colab. 1998;). În glaucom, cel puțin unele celule nervoase (celulele ganglionare) mor prin apoptoză.

PIO ridicată, o tensiune arterială sistemică redusă și dereglarea vasculară acționează ca factori de risc în dezvoltarea afectării glaucomatoase.

4. GENETICA GLAUCOMULUI

Glaucomul primar cu unghi deschis (GPUD, OMIM 137760) este cel mai frecvent tip de glaucom, cu factori de risc care includ creșterea presiunii intraoculare (PIO), vârsta mai avansată, antecedente familiale și originea rasială. GPUD a fost asociat cu mutațiile de la nivelul a cel puțin 20 de loci. Dar numai 3 gene au fost identificate: miociclinei (MYOC, 1q23), optineurinei (OPTN 10p15) și WDR36 (5p21). Mutațiile acestor gene sunt răspunzătoare doar de 10% din cazurile de glaucom primar cu unghi deschis (Hewitt AW și colab. 2006; Bergen AA și colab. 2004; Allingham RR și colab. 2008). În **glaucomul congenital primar** sau infantil (simbolul genei, GLC3) modul de transmitere este predominant autozomal recesiv și în câteva cazuri are loc de asemenea transmiterea de la părinte la copil (pseudodominanță). Cu ajutorul analizei linkage, în GCP au fost localizate în trei loci diferiți: GLC3A (CYP1B1; 2p21), GLC3B (MYOC; 1p36) și GLC3C (14q24.3) (Stoilov IR, și colab. 1997)

CERCETĂRI PERSONALE

1. MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Am abordat studiul aspectelor clinico-genetice și epidemiologice ale glaucomului pentru că: în literatura de specialitate din țară și din străinătate studiul aspectelor genetice și epidemiologice ale glaucomului sunt puține; glaucomul afectează preponderent vârsta mijlocie și a treia, iar nedignosticat la timp și netratat evoluează spre cecitate generând handicap sever cu implicații socio-economice; pentru profilaxia corectă a glaucomului este absolut necesară cunoașterea

defectului genetic cu atât mai mult cu cât, glaucomul având o incidență de aproximativ 1,5-3%, afectează un eșantion populațional important; glaucomul face parte din bolile comune condiționate multifactorial, fapt ce necesită depistarea tuturor factorilor (genetici și de mediu) implicați în etiologia acestei boli; incidența glaucomului poate fi redusă prin: screening populațional pentru depistarea precoce a glaucomului, tratarea corectă și acordarea sfatului genetic familiilor probanzilor; sfatul genetic acordat poate fi eficient dacă se cunoaște defectul genetic, gena mutantă și natura ei.

2. METODE DE STUDIU UTILIZATE ȘI PACIENȚI

Pentru realizarea studiului am investigat un număr de 1987 de pacienți (1079 femei/908 bărbați) înscrși în evidența Cabinetului Medical Individual din Alba Iulia, în care îmi desfășor activitatea. Am selectat pacienții care s-au prezentat la consult acuzând afecțiuni oculare.

În lotul pacienților cu afecțiuni oculare doar 41 au fost diagnosticați cu glaucom, dintre care: 3 cu glaucom congenital, unul cu glaucom acut cu unghi închis și 37 (20 femei/17bărbați) cu glaucom primar cu unghi deschis.

Metodele utilizate sunt: anamneza personală și familială; ancheta familială și analiza arborilor genealogici; examenul clinic; examinările paraclinice; investigațiile de genetică moleculară; analiza biostatistică.

3. ASPECTE CLINICE ÎN GLAUCOM

3.1. Aspecte clinice în glaucomul congenital

Glaucomul congenital sau pediatric (trabeculodisgenesia sau buftalmia sau hidroftalmia) este clasificat ca primar când este determinat de o anomalie de dezvoltare idiopatică a unghiului camerei anterioare și secundar când secreția umorii apoase este crescută datorită unei afecțiuni oculare sau sistemice congenitale sau dobândite. Glaucomul congenital primar (GCP) este cel mai frecvent tip de glaucom diagnosticat în copilărie (Mandal AK, Netland P. 2006)

În cadrul studiului efectuat, am întâlnit un singur caz de glaucom congenital primar și care a fost corectat chirurgical la vârsta de 2 ani. În continuare, vom reda rezultatele anamnezei, ale diagnosticului clinic și oftalmologic ale acestui caz:

1. Cazul A.M.

Anul nașterii: 2005. Sexul: masculin; Debutul bolii: la vârsta de 2 ani prin fotofobie, epiforă, stătea mereu cu ochii închiși, evita lumina, nu se juca. APF: mama cu HTA; tata: indemn clinic; fratrie: doi frați și două surori, toți indemni clinic; APP: rubeolă, viroze; AHC: pentru glaucom sunt negate; Manifestări clinice: fotofobie, epiforă, apatie, nu se juca și stătea adesea cu ochii închiși. Diagnosticul clinic și cel de specialitate au confirmat prezența glaucomului congenital

primar. Tratament chirurgical: trabeculectomie. Evoluție: pacientul a fost operat de urgență și funcția vizuală a revenit la normal. Am întâlnit și două cazuri de glaucom congenital secundar asociate cu .neurofibromatoza 1 și cu sindromul Sturge-Weber .

3.3. Aspecte clinice în glaucomul cronic cu unghi deschis

Glaucomul primar cu unghi deschis este o boală complexă și heterogenă genetic, caracterizată prin moartea apoptotică progresivă a celulelor ganglionare retiniene (CGR), iar genele implicate în apoptoză par a fi asociate cu glaucomul primar cu unghi deschis (Qu J, Wang D 2011). In continuare redăm unul din cazurile de glaucom primar cu unghi deschis.

Cazul C.S.

Anul nașterii: 1938 . Sexul: feminin; Grupa sanguină: A(II); Antigenele Rhesus: Rh+; Debutul bolii: la vârsta de 51 de ani cu: ochi roșii, epiforă, cefalee. Diagnosticul clinic (examen oftalmologic) și cel paraclinic (tonometrie, perimetrie, evaluarea deschiderii unghiului) au confirmat diagnosticul de glaucom primitiv cu unghi deschis. Perimetria evidențiază pentru ochiul drept un câmp vizual strâmtorat superior în proporție de 50% și nazal în proporție de 35%. La nivelul ochiului stâng, câmpul vizual are valori ce se înscriu în limite normale. APF: mama: HTA, obezitate, diabet zaharat tip II; tata: obezitate, hipercolesterolemie; copiii: o fată și doi băieți indemni clinic. APP: glaucom, HTA, diabet zaharat tip II, hipercolesterolemie; AHC: este negată prezența altor cazuri de glaucom la nivel familial; HTA, hipercolesterolemie, obezitate, diabet zaharat tip II. Evoluție: tratamentul medicamentos menține presiunea oculară în limite normale, iar acuitatea vizuală este acceptabilă.

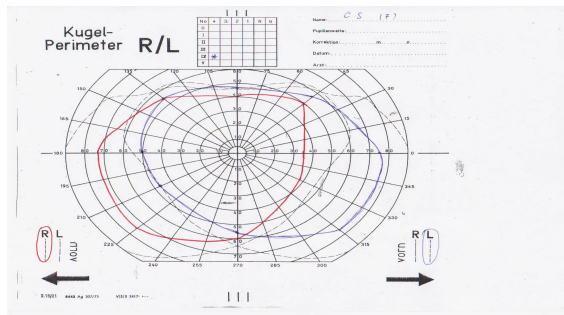


Fig. 38. Aspectul câmpului vizual al pacientei C.S

4. Aspecte genetice în glaucom

Glaucomul congenital primar are determinism genetic în 85% din cazuri, iar 15% din cazuri sunt reprezentate de glaucomul congenital secundar (Stoilov IR, și colab. 1997; Plasilova, M și colab., 1999; Yuhong Chen, MD și colab. 2008). În continuare, voi exemplifica singurul caz de glaucom congenital primar diagnosticat la vârsta de 2 ani (probandul familiei A.M.).

Pedigree-ul familiei A.M.

Analiza pedigree-ului familiei A.M. (fig. 44) evidențiază prezența glaucomului congenital primar la unul din copii familiei, la băiețelul în vârstă de 2 ani (fig. 45). Părinții de etnie romă neagă consangvinizarea. Prezența glaucomului congenital primar numai în fratrie este o caracteristică a bolilor cu transmitere autosomal recesivă.

Părinții neagă prezența altor cazuri de glaucom congenital primar sau a altor afecțiuni oculare în familie. Prezența fenotipului morbid la proband poate fi explicată fie prin trecerea genei mutante prin mai multe generații ale familiei fără să se homozigoteze, fie prin prezența unei mutații “de novo” survenită în gametogeneza părinților.

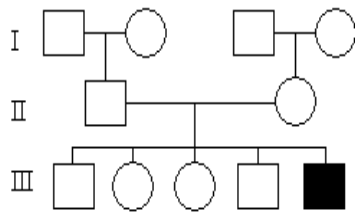


Fig. 44 Pedigree-ul familiei A. M.

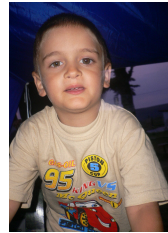


Fig. 45.Probandul familiei A.M.

Glaucomul primitiv (cronic) cu unghi deschis este cel mai frecvent tip de glaucom, afectează 1-3% din populație, în general la vârstă adultă, mai rar la tineri. Reprezintă principala cauză a cecității ireversibile la adult.

Pedigree-ul familiei P.M.

În familia P.M. (fig. 50) suferă de glaucom primitiv cu unghi deschis: probanda familiei, tatăl și un frate al acesteia.

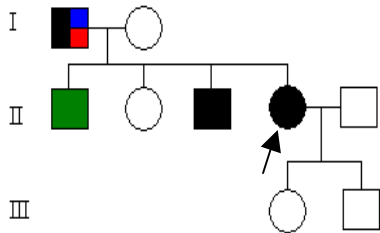


Fig. 50. Pedigree-ul familiei P.M.

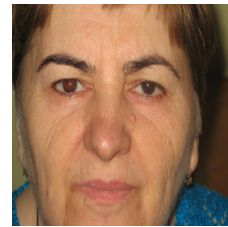


Fig. 51 Probanda familiei P.M.

Tatăl probandei este diagnosticat cu cataractă (operat) și hipercolesterolemie. Un frate al probandei are miopie. Probanda (fig. 51) neagă prezența unor afecțiuni oculare la cei doi copii ai ei. Afectarea ambelor sexe și prezența fenotipului morbid la nivelul fiecărei generații a familiei pledează pentru transmiterea glaucomului primitiv cu unghi deschis, la nivelul acestei familii, după modelul autosomal dominant.

4.2.1. Mutațiile genei p53 în glaucom

Fiziopatologia GPUD nu este cunoscută cu exactitate. GPUD este o boală multifactorială (Drance S M și colab., 1981; Leske M C și colab., 1995). Există un risc crescut de apariție a bolii în familiile în care există pacienți diagnosticați cu GPUD (agregare familială). Până în prezent, nu există informații suficiente cu privire la genetica bolii.

Studiile animale și umane, efectuate pe celulele ganglionare moarte din GPUD au evidențiat multe asemănări cu modificările morfologice observate în apoptoză, cum ar fi condensarea cromatinei, formarea de corpi apoptotici și fragmentarea ADN-ului (Nickells R W, 1996; Stuart JM, 1997).

Unul dintre polimorfismele genice cel mai intens studiat și posibil implicat în etiopatogenia GPUD este Arg72Pro, care afectează structura proteinei p53. Gena p53 este situată pe brațul scurt al cromozomului 17 (17p13.1) și joacă un rol important în controlul ciclului celular; acționează ca un factor de transcripție prin legarea de o secvență p53-specifică în genele specifice (Tsai FJ și colab., 2004).

În studiul efectuat de noi, am urmărit să evaluăm asocierea dintre polimorfismul codonului 72 al genei *p53* și glaucomul primar cu unghi deschis (GPUD). Gena *p53* se pare că joacă un rol important în etiologia neuropatiei glaucomatoase. În acest studiu au fost înrolați 55 (20 femei/35 bărbați) de voluntari sănătoși cu vârste cuprinse între 1-88 ani (vârsta medie 52 de ani) și 13 (9 femei/4 bărbați) pacienți cu GPUD (neînrușiți) cu vârste ce au variat între 18-81 ani (medie 50 de ani). Toți pacienții au fost urmăriți timp de 5-7 ani.

În studiul nostru, am investigat polimorfismul codonului 72 al genei *p53* la toți subiecții. Prevalența polimorfismului a fost comparată între grupele de martori și pacienți. Rata șansei a fost utilizată pentru calcularea frecvențelor diferitelor alele.

Analizele moleculare ale pacienților și martorilor au fost efectuate în același laborator (Departamentul de Entomologie Medicală, Institutului Național de Microbiologie și Imunologie Cantacuzino din București), în același timp, iar gelurile au fost analizate de investitori care nu cunoșteau fenotipul clinic al indivizilor studiați.

Analiza statistică pentru riscul relativ al codonului 72 al genei *p53* în grupul martor și în grupele GPUD a fost realizată comparativ cu ajutorul testului χ^2 . Rezultatele au fost considerate statistic semnificative când probabilitatea de apariție întâmplătoare a datelor a fost mai mică de 5% ($p < 0,05$). Frecvențele diferitelor alele au fost reverificate cu ajutorul ratei șansei cu intervale de încredere de 95%. Din cei 68 de pacienți analizați pentru alele *Pro* și *Arg*, opt au prezentat alela *Pro* sub formă homozigotă, 28 alela *Arg* sub formă homozigotă și 21 ambele alele

(heterozigoți). 11 probe au fost neinterpretabile. Linia 7, cu alela *Pro* a constituit martorul negativ pentru GPUD.

Studiul nostru a arătat că distribuția polimorfismului codonului 72 al genei p53 la pacienții români cu GPUD și grupul de control sănătos este semnificativ diferită (testul Fisher exact $p = 0,017$), un rezultat compatibil cu conceptul de interrelaționare dintre apoptoză și neuropatie. Frecvențele alelice indică o frecvență mai mare a alelei *Pro* p53 în grupul GPUD (31%) față de cea de control (9%), iar frecvența alelei *Arg* p53 este de asemenea mai mare în grupul GPUD (61%) față de cea de la martori (45%).

De asemenea, rezultatele noastre arată că distribuția populațională a polimorfismelor codonului 72 a genei p53 este concordantă cu studiile anterioare. Astfel, Lin și colab. (2002) au analizat un lot de 58 de pacienți chinezi cu GPUD și a constatat că polimorfismul *Pro*72 a fost semnificativ mai frecvent la pacienți decât în lotul de control. În mod similar, Rassinotis și colab. (2004) au studiat aceste polimorfisme la un lot de 140 de pacienți englezi cu GPUD și au observat o diferență semnificativă în distribuția haplotipurilor *Arg* p53, la pacienți comparativ cu controalele. Modul în care p53 mediază apoptoza reprezintă un subiect de studiu intens din momentul în care a fost descoperit (Yonish-Rouach et al, 1991).

CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

1. Glaucomul congenital primar și cel secundar, boli oculare rare, la cazurile studiate au avut manifestări clinice similare cu cele din literatura de specialitate: fotofobie, epiforă, mereu închidea ochii, evita lumina, apatie, dezinteres pentru joacă, cefalee, vedere neclară cu cercuri colorate în jurul surselor luminoase.
2. În studiul nostru am întâlnit un singur caz de glaucomul acut cu unghi închis, iar simptomele sunt similare cu cele citate în literatura de specialitate: dureri oculare violente, greață, vomă, ochi roșii și diminuarea rapidă a vederii.
3. Majoritatea pacienților care fac obiectul acestui studiu au fost diagnosticați cu glaucom cronic sau primitiv cu unghi deschis la care: presiunea intraoculară variază în limitele valorilor normale; toți pacienții cu GPUD luați în studiu prezintă reducerea câmpului vizual la unul sau la ambii ochi; în majoritatea cazurilor (74%) este prezentă strâmtorarea câmpului vizual temporal; un număr redus dintre pacienții prezentând și scotoame.
4. Din studiul efectuat reiese că, glaucomul primar cu unghi deschis este asociat mai frecvent cu următoarele afecțiuni: miopie, cataractă, diabet zaharat, HTA, cardiopatie ischemică cronică, boala Parkinson, hipercolesterolemie, poliartrită reumatoidă. Analiza biostatistică indică că *nu*

există nici un motiv pentru o asociere între această patologie ca factor de risc și apariția glaucomului la pacienții luați în studiu.

5. Reconstituirea arborilor genealogici ai unor familii cu diferite tipuri de glaucom și analiza lor ne-au permis evidențierea următoarelor modele de transmitere în succesiunea generațiilor: glaucomul congenital primar: prezența fenotipului morbid numai la nivel de fratrie pledează pentru transmiterea autosomal recesivă; glaucomul congenital secundar: are transmitere heterogenă, corelată cu modelul de transmitere al bolii din al cărui tablou clinic face parte; glaucomul primitiv (primar, cronic) cu unghi deschis: ereditatea este de tip multifactorial, iar susceptibilitatea genetică moștenită după modelul autosomal dominat la nivelul familiilor luate în studiu. implicarea și a eredității mitocondriale în unele cazuri de glaucom primitiv cu unghi deschis ar putea fi susținută de transmiterea pe linie maternă a acestei boli în 5 din familiile studiate.

6. Rezultatele obținute în urma PCR-ului arată că:

- Amplificarea produșilor specifici (amplificarea alelei *Arg*, perechea de primeri p53⁺/Arg⁻ conduce la obținerea unui produs PCR de **141 bp**; iar perechea de primeri Pro⁺/p53⁻ amplifică un fragment de **177 bp al alelei Pro**) este posibilă;

- Din cei 68 pacienți analizați pentru alele *Pro* și *Arg*: opt au prezentat alela *Pro* sub forma homozigotă; 28 alela *Arg* sub forma homozigotă; 21 ambele alele (heterozigoți); 11 probe au fost neinterpretabile.

- Detecția alelelor *Pro* și *Arg* prin tehnica PCR folosită pentru prima dată în România este posibilă la pacienții GPUD;

- Dintr-un total de 7 pacienți GPUD analizați toți au fost homozigoți (au prezentat doar una dintre alele): 85,71% dintre aceștia fiind homozigoți pentru alela *Pro* și 14,28% pentru alela *Arg*.

- O analiză extinsă prin această tehnică PCR la un număr mai mare de pacienți GPUD ar permite o interpretare statistică în susținerea ideii că alelele *Arg* și *Pro* pot fi asociate cu apariția GPUD și ar putea constitui markeri genetici de predicție ai acestei boli.

Contribuții personale: Detecția polimorfismului *Pro/Arg* de la nivelul codonului 72 al genei supresoare tumorale p53 prin tehnica PCR la pacienții cu GPUD este folosită pentru prima dată în România; analiza pentru prima dată în România a corelației dintre aspectele clinico-genetice în GPUD; realizarea unui studiu biostatistic care să evidențieze corelația dintre GPUD și diferite boli asociate ca factori de risc.



Curriculum vitae Europass

Informații personale

Nume / Prenume	ROȘCA OLIMPIA
Adresă(e)	ALBA IULIA, STR. SEPTIMIUS SEVERUS NR.11, BL. TOL 7, AP.6
Telefon(oane)	0258812112, 0745023577
Fax(uri)	
E-mail(uri)	
Naționalitate(-tăți)	ROMÂNĂ
Data nașterii	03.02.1956
Sex	FEMEIESC

Locul de muncă vizat / Domeniul ocupațional	CMF Roșca Olimpia Alba Iulia Medicină de familie
--	--

Experiența profesională

Perioada	2001 - PREZENT
Funcția sau postul ocupat	PROFESOR DISCIPLINE DE SPECIALITATE
Activități și responsabilități principale	ACTIVITĂȚI DIDACTICE LA ȘCOALA POSTLICEALĂ
Numele și adresa angajatorului	ȘCOALA POSTLICEALĂ DE AFACERI ALBA IULIA
Tipul activității sau sectorul de activitate	ÎNVĂȚĂMÂNT PRIVAT
Perioada	1998 - PREZENT
Funcția sau postul ocupat	MEDIC DE FAMILIE
Activități și responsabilități principale	ACTIVITĂȚI ÎN CABINET MEDIC DE FAMILIE
Numele și adresa angajatorului	CMF ROȘCA OLIMPIA
Tipul activității sau sectorul de activitate	SĂNĂTATE
Perioada	1984 - 1999
Funcția sau postul ocupat	MEDIC PRIMAR
Activități și responsabilități principale	ACTIVITĂȚI MEDICALE
Numele și adresa angajatorului	SPITALUL JUDEȚEAN ALBA
Tipul activității sau sectorul de activitate	SĂNĂTATE

Educație și formare

Perioada	19 – 20.09.2006
Calificarea / diploma obținută	Curs postuniversitar „Impactul geneticii în patologia umană”

Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	UMF „Iuliu Hațieganu” CLUJ NAPOCA
Perioada	2004
Calificarea / diploma obținută	DOCTORAND
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	UMF CLUJ NAPOCA
Perioada	2000 - 2003
Calificarea / diploma obținută	JURIST
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	BAZELE DREPTULUI, DREPT CIVIL, DREPT PENAL, DPRET INTERNAȚIONAL
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	UNIVERSITATEA 1 DECEMBRIE 1918, ALBA IULIA
Perioada	2003
Calificarea / diploma obținută	CERTIFICAT DE ABSOLVIRE
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	DPPD, UNIVERSITATEA 1 DECEMBRIE 1918, ALBA IULIA
Perioada	2001 - 2003
Calificarea / diploma obținută	COMPETENȚĂ MEDIC INTREPRINDERE
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	UMF CLUJ NAPOCA
Perioada	1996 - 1997
Calificarea / diploma obținută	COMPETENȚĂ ECOGRAFIE
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	UMF CLUJ NAPOCA
Perioada	1996
Calificarea / diploma obținută	MEDIC PRIMAR
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	UMF CLUJ NAPOCA
Perioada	1991
Calificarea / diploma obținută	MEDIC SPECIALIST
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	

Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare UMF CLUJ NAPOCA
 Perioada 1978 - 1984
 Calificarea / diploma obținută DOCTOR - MEDIC
 Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite
 Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare IMF CLUJ NAPOCA, FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ

Aptitudini și competențe personale

Limba(i) maternă(e)
 Limba(i) străină(e) cunoscută(e)
 Autoevaluare
 Nivel european (*)

ROMÂNĂ
GERMANĂ, ENGLEZĂ, FRANCEZĂ

Înțelegere				Vorbire				Scriere	
Ascultare		Citire		Participare la conversație		Discurs oral		Exprimare scrisă	
B1	UTILIZATOR INDEPENDENT	B1	UTILIZATOR INDEPENDENT	B1	UTILIZATOR INDEPENDENT	B1	UTILIZATOR INDEPENDENT	B1	UTILIZATOR INDEPENDENT
A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR
A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR	A2	UTILIZATOR ÎNCEPĂTOR

(*) Nivelul Cadrelui European Comun de Referință Pentru Limbi Străine

Competențe și abilități sociale COMUNICATIVITATE, RECEPTIVITATE, MALEABILITATE, DIALOG ÎN GRUP
 Competențe și aptitudini organizatorice BUN ORGANIZATOR ÎN ACTIVITATEA PROFESIONALĂ
 Competențe și aptitudini tehnice LUCRU CU TEHNICA DE BIROU
 Competențe și aptitudini de utilizare a calculatorului OPERARE PC: WINDOWS; DIFERITE APLICAȚII
 Competențe și aptitudini artistice MUZICĂ
 Alte competențe și aptitudini
 Permis(e) de conducere DA

MEMORIU DE ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

Lucrări publicate în extenso:

1. *Poliartrita reumatoidă. Aspecte clinico-genetice*, Analele Societății Naționale de Biologie Celulară, 2005, vol. X: 368 -371;
2. *Glaucomul cu unghi deschis. Aspecte clinico-genetice*, Analele Societății Naționale de Biologie Celulară, 2006. vol. XI: 82-86;

3. *Glaucomul congenital. Aspecte clinico-genetice*, Analele Societății Naționale de Biologie Celulară, 2007, volXII: 201-204.

Lucrări publicate în rezumat:

1. *Glaucomul aspecte clinico-genetice*, Al II-lea Congres Național de Genetică Medicală, Cluj Napoca, 2006, pg.30
2. *Poliartrita reumatoidă. Aspecte clinico-genetice*, a XXIII-a Sesiune Științifică Anuală a Societății Naționale de Biologie Celulară, Sibiu, 2005, pg. 183
3. *Distribution of p53 codon 72 polymorphism in primary open angle glaucoma in a Romanian cohort (Alba County)*, BALKAN CONGRES OF MEDICAL GENETICS, Timișoara, 2011, pg.61

Participări la congrese și sesiuni științifice:

1. Diplomă, Sesiunea Națională de Biologie Celulară (SNBC), Sibiu, 2005
2. Certificat de participare, Al II-lea Congres Național de Genetică Medicală, Cluj Napoca, 2006
3. Certificat de participare, Curs Postuniversitar „Impactul geneticii în patologia umană”, Cluj Napoca, 2006
4. Certificat de participare, A IV-a Conferință a Societății Române de Genetică Medicală, Craiova, 2008
5. Certificat de participare, Conferința Națională de Genetică Medicală, Sibiu, 2009
6. Diploma de participare, BALKAN CONGRESS FOR RARE DISEASES ROMANIA, Cluj Napoca, 2009
7. Diplomă de participare, Sesiunea Anuală a Societății Române de Biologie Celulară, Constanța, 2010
8. Diplomă de participare, 3rd International Congress of Romanian Society for Cell Biology held in Arad (Romania) and Szeged (Hungary), June 8-12, 2011
9. Diplomă de participare, BALKAN CONGRES OF MEDICAL GENETICS, Timișoara, 2011

“IULIU HAȚIEGANU” UNIVERSITY
OF MEDICINE AND PHARMACY CLUJ-NAPOCA
Faculty of Medicine

DOCTORAL THESIS

CLINICAL, GENETIC AND EPIDEMIOLOGICAL STUDY
OF SOME FAMILIES WITH GLAUCOMA

Scientific Director:

Prof. Dr. ARIANA PROTASE

Doctoral candidate

Roșca Olimpia

2011

CONTENTS

Introduction	1
ABBREVIATION LIST.....	2

Part I

SYNTHESIS OF SOME LITERATURE DATA

1. NOSOLOGICAL FRAMEWORK.....	9
1.1. Definition	9
1.2. Classification of glaucoma.....	10
1.3. Frequency of glaucoma	12
1.4. Symptomatology of glaucoma	13
2. Pathogenesis of glaucoma	14
2.1. Causes of multipolar neuron and glial cell apoptosis	14
3. Clinical diagnosis of glaucoma	17
3.1. Ophthalmological examination	17
3.1.1. Routine ophthalmological examination	17
3.1.2. Measurement of intraocular pressure	19
3.1.3. Examination of the anterior chamber angle (gonioscopy).....	21
3.1.4. Evaluation of the opening of the angle	23
3.1.5. Evaluation of the optic disc	26
3.1.6. Laser tomography	28
3.1.7. Measurement of the nerve cell layer thickness.....	29
3.1.8. Testing of the visual field (perimetry).....	30
3.1.9. Evaluation of ocular perfusion	32
3.1.10. Measurement of arterial pressure	33
3.2. Special examinations	35
4. Genetics of glaucoma	35
5. Treatment of glaucoma.....	42

Part II

PERSONAL RESEARCHES

1. Motivation and objectives of the research	46
2. Study methods used and patients	46
2.1. Patients included in the study	47
2.2. Anamnesis.....	48
2.3. Clinical examination	49

2.4. Paraclinical examinations	49
2.5. Molecular genetic investigations	49
3. Clinical aspects in glaucoma.....	60
3.1. Clinical aspects in congenital glaucoma	61
3.1.1. Primary congenital glaucoma	62
3.1.2. Secondary congenital glaucoma.	62
3.1.3. Discussion.....	64
3.2. Clinical aspects in acute glaucoma or closed angle glaucoma	66
3.3. Clinical aspects in chronic open angle glaucoma	68
3.4. Discussion.....	79
3.5. Conclusions.....	84
4. Genetic aspects in glaucoma	85
4.1. Pedigree analysis.....	85
4.1.1 Discussion.....	101
4.2. Molecular genetic studies	102
4.2.1. Gene p53 mutations in glaucoma.....	104
4.2.3. Conclusions.....	114
5. Biostatistical study	116
5.1. Results and discussion	116
5.2. Conclusions.....	135
6. General conclusions and personal contributions.....	137
SELECTIVE BIBLIOGRAPHY	142

KEY WORDS

Arginine, DNA, family history, personal pathological history, personal physiological history, Parkinson disease, cytosine, chronic ischemic heart disease, diabetes mellitus, ERG, guanine, primary congenital glaucoma, primary (chronic) open angle glaucoma, primary closed angle glaucoma, juvenile onset open angle glaucoma, kilobase, nitrogen base pairs, proline, single nucleotide polymorphism, polymorphic repeat sequences, Tris-acetate-EDTA.

1. NOSOLOGICAL FRAMEWORK

1.1. Definition

Glaucoma (OMIM 137760) represents a group of eye diseases that have the following common elements: increased intraocular pressure, optic nerve damage, reduction of the visual

field and visual acuity. In glaucoma, the progressive destruction of the fibers of the optic nerve, nerve that is responsible for the transmission of information from the eye to the brain, results in the gradual reduction of the visual field and possibly blindness. In glaucoma, nerve cells: cones and rods, bipolar neurons and multipolar ganglion neurons, as well as the nerve fibers that form the optic nerve, progressively die. During the evolution of glaucoma, when the number of injured ganglion cells is increased, severe vision defects occur. When patients become aware of the visual field loss, their disease is at an advanced stage.

1.2. Classification of glaucoma

Each of the three main types of glaucoma: primary congenital, closed angle and open angle glaucoma is clinically and genetically heterogeneous (Spaeth GL., 1994; J. Flammer, 2002; Foster PJ et al. 2002).

Primary congenital glaucoma (buphthalmia or hydrophthalmia) is a disorder of the optic nerve, caused by the increase of intraocular pressure. It manifests by the reduction of the visual field caused by the destruction of optic nerve fibers as a result of the disappearance of multipolar ganglion cells, generated by increased intraocular pressure.

Primitive closed angle glaucoma is caused by the blockage of the iridocorneal angle and the increase of ocular pressure, the presence of a flat iris and the increase in the crystalline lens volume with age, crystalline lens subluxation, cataract, eye tumors, neovascular formations, inflammation (White J.2011).

Primitive open angle glaucoma is characterized by optic nerve damage and altered visual field associated with increased intraocular pressure. Trabecular obstruction has an unclarified cause (Kitazawa Y. 2001; Rezaie T et al., 2002).

1.3. Frequency of glaucoma

The number of people affected by glaucoma is influenced by the studied ethnic group and age (Kosoko-Lasaki O et al. 2006; Anraku A et al. 2011; El-Mekawey HE et al. 2011). Epidemiological data on the frequency of glaucoma are incomplete. However, it seems that glaucoma affects 3% of the general population (with a higher prevalence in the elderly).

1.4. Symptomatology of glaucoma

Glaucoma is characterized by a slow, progressive, painless loss of vision. In the onset stage of glaucoma, patients are frequently asymptomatic. They only become aware of the loss of vision at an advanced stage of glaucoma, because central visual acuity remains unaffected for a long time. At onset, the peripheral visual field disappears, followed by central and nasal visual

field loss, the temporal visual field being the last to disappear, with the concentric reduction of the visual field. The most frequent symptoms found in patients with glaucoma include: loss of peripheral vision or disturbances in the perception of colors, pain in the ocular globes, nausea and vomiting. Symptoms differ depending on the type of glaucoma.

2. PATHOGENESIS OF GLAUCOMA

Glaucoma is mainly due to the cell death of retinal nerve cells and axons, as well as of glial cells and other cells from the optic disc area (Schmitz-Valckenberg S et al. 2010; Cordeiro MF et al. 2011). Cell death can occur in one of the following ways: by necrosis or apoptosis or programmed cell death (Shimizu S et al. 1998;). In glaucoma, at least some nerve cells (ganglion cells) die by apoptosis.

Increased IOP, low systemic arterial pressure and vascular deregulation act as risk factors in the development of glaucomatous disease.

4. GENETICS OF GLAUCOMA

Primary open angle glaucoma (POAG, OMIM 137760) is the most frequent type of glaucoma, with risk factors including increased intraocular pressure (IOP), more advanced age, family history and racial origin. POAG has been associated with mutations in at least 20 loci. Only 3 genes have been identified: myocilin gene (MYOC, 1q23), optineurin gene (OPTN 10p15) and WDR36 (5p21). The mutations in these genes are responsible for only 10% of the cases of primary open angle glaucoma (Hewitt AW et al. 2006; Bergen AA et al. 2004; Allingham RR et al. 2008). In **primary congenital glaucoma** or infantile glaucoma (gene symbol GLC3) the inheritance pattern is predominantly autosomal recessive and in some cases, from parent to offspring (pseudodominance). Using linkage analysis, in PCG three different loci have been mapped: GLC3A (CYP1B1; 2p21), GLC3B (MYOC; 1p36) and GLC3C (14q24.3) (Stoilov IR et al. 1997)

PERSONAL RESEARCHES

1. MOTIVATION AND OBJECTIVES OF THE RESEARCH

We approached the study of the clinico-genetic and epidemiological aspects of glaucoma because: there are few studies on the genetics and epidemiology of glaucoma in the Romanian and foreign literature; glaucoma predominantly affects middle aged and elderly subjects, and when undiagnosed at an early stage and untreated, it develops into blindness, generating severe disabilities with socio-economic implications; the correct prophylaxis of glaucoma requires the knowledge of the genetic defect, all the more so as glaucoma affects an important proportion of the population, having an incidence of approximately 1.5-3%; glaucoma is a common,

multifactorial disease, which requires the detection of all (genetic and environmental) factors involved in the etiology of this disorder; the incidence of glaucoma can be reduced by: population screening for the early detection of glaucoma, correct treatment and genetic counseling to the families of the probands; genetic counseling can be effective if the genetic defect, the mutant gene and its nature are known.

2. STUDY METHODS USED AND PATIENTS

We investigated 1987 patients (1079 women/908 men) from the records of the Individual Medical Office of Alba Iulia, where I work. We selected the patients who came for a consultation complaining of eye disorders.

In the group of patients with eye disorders, only 41 were diagnosed with glaucoma, of which: 3 with congenital glaucoma, 1 with acute closed angle glaucoma and 37 (20 women/17 men) with primary open angle glaucoma.

The methods used are: personal and family history; family inquiry and pedigree analysis; clinical examination; paraclinical examinations; molecular genetic investigations; biostatistical analysis.

3. CLINICAL ASPECTS IN GLAUCOMA

3.1. Clinical aspects in congenital glaucoma

Congenital or pediatric glaucoma (trabeculodysgenesis or buphthalmia or hydrophthalmia) is classified as primary when caused by an idiopathic developmental anomaly of the anterior chamber angle, and secondary when the aqueous humor secretion is increased due to a congenital or acquired ocular or systemic disease. Primary congenital glaucoma (PCG) is the most frequent type of glaucoma diagnosed in childhood (Mandal AK, Netland P. 2006).

In the study performed, we found one case of primary congenital glaucoma, which was surgically corrected at the age of 2. In what follows, we present the results of the anamnesis, of the clinical and ophthalmological diagnosis of this case:

1. Case A.M.

Year of birth: 2005. Sex: male; Onset of disease: at the age of 2, through photophobia, epiphora, always keeping his eyes closed, avoiding light, not playing. Personal physiological history: mother with AHT; father: clinically healthy; siblings: two brothers and two sisters, all clinically healthy; personal pathological history: rubella, viroses; no family history of glaucoma; Clinical manifestations: photophobia, epiphora, apathy, avoiding to play and frequently keeping his eyes closed. Clinical and ophthalmological diagnosis confirmed the presence of primary congenital glaucoma. Surgical treatment: trabeculectomy. Evolution: the patient was operated in emergency

and his visual function was restored. We also found two cases of secondary congenital glaucoma associated with neurofibromatosis 1 and Sturge-Weber syndrome.

3.3. Clinical aspects in chronic open angle glaucoma

Primary open angle glaucoma is a complex and genetically heterogeneous disease, characterized by the progressive apoptotic death of retinal ganglion cells (RGC), and the genes involved in apoptosis seem to be associated with primary open angle glaucoma (Qu J, Wang D 2011). In what follows, we present one of the cases of primary open angle glaucoma.

Case C.S.

Year of birth: 1938 . Sex: female; Blood type: A (II); Rhesus antigens: Rh+;
Onset of disease: at the age of 51: red eyes, epiphora, cephalaea. Clinical diagnosis (ophthalmological examination) and paraclinical diagnosis (tonometry, perimetry, evaluation of the opening of the angle) confirm the diagnosis of primitive open angle glaucoma. Perimetry evidences a 50% upper visual field loss and a 35% nasal visual field loss for the right eye. For the left eye, the visual field has values within normal limits. Personal physiological history: mother: AHT, obesity, type II diabetes mellits; father: obesity, hypercholesterolemia; offspring: a clinically healthy girl and two clinically healthy boys. Pathological personal history: glaucoma, AHT, type II diabetes mellitus, hypercholesterolemia; family history: no other cases of glaucoma; AHT, hypercholesterolemia, obesity, type II diabetes mellitus. Evolution: drug therapy maintains ocular pressure within normal limits, and visual acuity is acceptable.

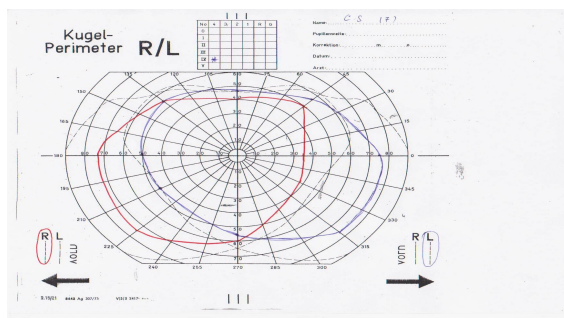


Fig. 38. The visual field of patient C.S

4. Genetic aspects in glaucoma

Primary congenital glaucoma is genetically determined in 85% of the cases, and 15% of the cases are represented by secondary congenital glaucoma (Stoilov IR et al. 1997; Plasilova, M et al., 1999; Yuhong Chen, MD et al. 2008). In what follows, I will exemplify the only case of primary congenital glaucoma diagnosed at the age of 2 years (proband of family A.M.).

Pedigree of family A.M.

The analysis of the pedigree of family A.M. (Fig. 44) evidences the presence of primary congenital glaucoma in one of the family's offspring, a 2-year-old boy (Fig. 45). The parents of Roma nationality deny consanguinity. The presence of primary congenital glaucoma in the sibship alone is a characteristic of autosomal recessive diseases.

The parents deny the presence of other cases of primary congenital glaucoma or of other eye diseases in the family. The presence of the morbid phenotype in the proband can be explained either by the transmission of the mutant gene across several family generations without its becoming homozygous, or by the presence of a "de novo" mutation occurring in the gametogenesis of the parents.

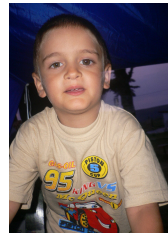
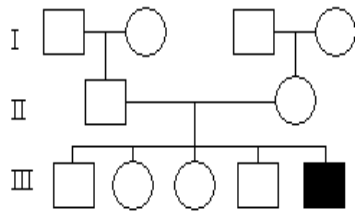


Fig. 44. Pedigree of family A. M.

Fig. 45. Proband of family A.M.

Primitive (chronic) open angle glaucoma is the most frequent type of glaucoma, affecting 1-3% of the population, generally at adult age, more rarely at young age. It is the main cause of irreversible blindness in adults.

Pedigree of family P.M.

In family P.M. (Fig. 50), the proband of the family, her father, and one of her brothers have primitive open angle glaucoma.

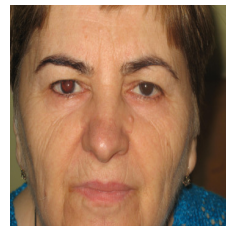
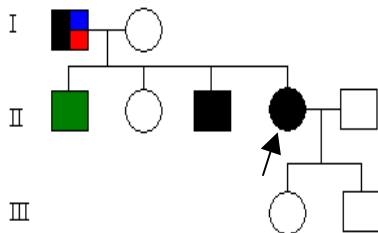


Fig. 50. Pedigree of family P.M.

Fig. 51 Proband of family P.M.

The proband's father is diagnosed with (operated) cataract and hypercholesterolemia. A brother of the proband has myopia. The proband (Fig. 51) denies the presence of any eye disease in her two children. The involvement of both sexes and the presence of the morbid phenotype in

each generation of the family suggest an autosomal dominant inheritance pattern of primitive open angle glaucoma in this family.

4.2.1. Gene p53 mutations in glaucoma

The pathophysiology of POAG is not completely understood. POAG is a multifactorial disease (Drance S M et al., 1981; Leske M C et al., 1995). There is an increased risk for the disease in families with patients diagnosed with POAG (familial aggregation). There is currently no sufficient information on the genetics of the disease.

Animal and human studies performed in dead ganglion cells in POAG have evidenced many resemblances to the morphological changes seen in apoptosis, such as chromatin condensation, the formation of apoptotic bodies and DNA fragmentation (Nickells R W, 1996; Stuart JM, 1997).

One of the most studied gene polymorphisms that is possibly involved in the etiopathogeny of POAG is Arg72Pro, which affects the structure of protein p53. Gene p53 is situated on the short arm of chromosome 17 (17p13.1) and plays an important role in the control of the cell cycle; it acts as a transcription factor by binding to a p53-specific sequence in specific genes (Tsai FJ et al., 2004).

In our study, we aimed to evaluate the association between *p53* codon 72 polymorphism and primary open angle glaucoma (POAG). Gene p53 seems to play an important role in the etiology of glaucomatous neuropathy. This study included 55 healthy volunteers (20 women/35 men) aged between 1-88 years (mean age 52 years) and 13 (unrelated) patients with POAG (9 women/4 men) aged between 18-81 years (mean age 50 years). All patients were followed up for 5-7 years.

In our study, we investigated the *p53* codon 72 polymorphism in all subjects. The presence of the polymorphisms was compared between the control and patient groups. Odds ratio was used for the calculation of the frequencies of different alleles.

The molecular analyses of patients and controls were performed in the same laboratory (Department of Medical Entomology, Cantacuzino National Institute of Microbiology and Immunology in Bucharest), at the same time, and the gels were analyzed by investigators who did not know the clinical phenotype of the studied individuals.

The statistical analysis for the relative risk of *p53* codon 72 in the control group and in the POAG groups was comparatively performed using the χ^2 test. The results were considered statistically significant when the probability of random appearance of the data was less than 5% ($p < 0.05$). The frequencies of the various alleles were reverified using odds ratio with 95%

confidence intervals. Of the 68 patients analyzed for the *Pro* and *Arg* alleles, 8 had the *Pro* allele in the homozygous form, 28 had the *Arg* allele in the homozygous form, and 21 had both alleles (heterozygotes). 11 samples could not be interpreted. Line 7, with the *Pro* allele was the negative control for POAG.

Our study showed that the distribution of p53 codon 72 polymorphism in Romanian patients with POAG and the control group was significantly different (Fisher exact test $p = 0.017$), a result compatible with the concept of interrelation between apoptosis and neuropathy. Allele frequencies indicate a higher frequency of the *Pro* p53 allele in the POAG group (31%) compared to the control (9%), and the frequency of the *Arg* p53 allele was also higher in the POAG group (61%) compared to the controls (45%).

Our results also show that the population distribution of p53 codon 72 polymorphisms is in accordance with previous studies. Thus, Lin et al. (2002) analyzed a group of 58 Chinese patients with POAG and found that the *Pro*72 polymorphism was significantly more frequent in patients than in the control group. Similarly, Ressiniotis et al. (2004) studied these polymorphisms in a group of 140 English patients with POAG and noticed a significant difference in the distribution of *Arg* p53 haplotypes between patients and controls. The way in which p53 mediates apoptosis has been a subject of intense study since the time it was discovered (Yonish-Rouach et al., 1991).

GENERAL CONCLUSIONS AND PERSONAL CONTRIBUTIONS

4. Primary and secondary congenital glaucoma, rare eye diseases, had in the studied cases clinical manifestations similar to those of the literature: photophobia, epiphora, frequent eye closing, avoiding light, apathy, no interest in playing, cephalaea, blurred vision with colored circles around light sources.
5. In our study, we found one case of acute closed angle glaucoma, whose symptoms are similar to those reported in the literature: violent ocular pain, nausea, vomiting, red eyes and rapid loss of vision.
6. The majority of the patients included in this study were diagnosed with chronic or primitive open angle glaucoma, in which: intraocular pressure varies within normal value limits; all the studied patients with POAG have visual field loss in one or both eyes; in the majority of the cases (74%), temporal visual field loss is present; a small number of patients also have scotomas.
4. The study performed shows that primary open angle glaucoma is more frequently associated with the following disorders: myopia, cataract, diabetes mellitus, AHT, chronic ischemic heart disease, Parkinson disease, hypercholesterolemia, rheumatoid polyarthritis. The biostatistical

analysis indicates that *there is no reason for an association between this pathology as a risk factor and the appearance of glaucoma* in the patients included in the study.

5. The reconstruction of the pedigrees of some families with different types of glaucoma and their analysis allowed us to evidence the following inheritance patterns across generations: primary congenital glaucoma: the presence of the morbid phenotype in the sibship alone suggests an autosomal recessive inheritance pattern; secondary congenital glaucoma: it has a heterogeneous inheritance pattern, correlated with the inheritance pattern of the underlying disease; primitive (primary, chronic) open angle glaucoma: inheritance is multifactorial and genetic susceptibility is inherited in an autosomal dominant pattern in the families included in the study. The implication of mitochondrial inheritance in some cases of primitive open angle glaucoma might be supported by the maternal transmission of this disease in 5 of the studied families.

6. The results obtained following PCR show that:

- The amplification of specific products (amplification of the *Arg* allele, the p53⁺/*Arg*⁻ primer pair leads to the obtaining of a **141 bp** PCR product; and the Pro⁺/p53⁻ primer pair amplifies a **177 bp** fragment of the *Pro* allele) is possible;

- Of the 68 patients analyzed for the *Pro* and *Arg* alleles: eight had the *Pro* allele in the homozygous form; 28 had the *Arg* allele in the homozygous form; 21 had both alleles (heterozygotes); 11 samples could not be interpreted.

- The detection of *Pro* and *Arg* alleles by the PCR technique used for the first time in Romania is possible in patients with POAG;

- Of the 7 patients with POAG, all were homozygous (they had only one of the alleles): 85.71% of these were homozygous for the *Pro* allele and 14.28% for the *Arg* allele.

- An extensive analysis by this PCR technique in a large number of patients with POAG would allow a statistical interpretation in supporting the idea that *Arg* and *Pro* alleles can be associated with the appearance of POAG and might be genetic markers for the prediction of this disease.

Personal contributions: The detection of the *Pro/Arg* polymorphism in codon 72 of the tumor suppressor gene p53 using the PCR technique in patients with POAG is used for the first time in Romania; the analysis for the first time in Romania of the correlation between clinico-genetic aspects in POAG; the performance of a biostatistical study to evidence the correlation between POAG and various associated diseases as risk factors.



Curriculum vitae Europass

Personal information

Last name / First name **ROȘCA OLIMPIA**
Address ALBA-IULIA, STR. SEPTIMIUS SEVERUS NO.11, BL. TOL 7, AP.6
Telephone 0258812112, 0745023577
Fax
E-mail
Nationality ROMANIAN
Date of birth 03.02.1956
Sex FEMALE

Workplace concerned / occupational field

CMF Roșca Olimpia Alba-Iulia
Family medicine

Professional experience

Period 2001 - PRESENT
Position filled PROFESSOR OF SPECIALTY DISCIPLINES
Main activities and responsibilities TEACHING ACTIVITY AT THE POSTGRADUATE SCHOOL
Name and address of the employer POSTGRADUATE BUSINESS SCHOOL ALBA -IULIA
Type or sector of activity PRIVATE EDUCATION
Period 1998 - PRESENT
Position filled FAMILY DOCTOR
Main activities and responsibilities FAMILY MEDICINE OFFICE ACTIVITIES
Name and address of the employer CMF ROȘCA OLIMPIA
Type or sector of activity HEALTH CARE
Period 1984 - 1999
Position filled CONSULTANT DOCTOR
Main activities and responsibilities MEDICAL ACTIVITIES
Name and address of the employer ALBA COUNTY HOSPITAL
Type or sector of activity HEALTH CARE

Education and training

Period 19 – 20.09.2006
Qualification / diploma obtained Postgraduate course on "Impact of genetics on human pathology"
Main disciplines studied / professional competences acquired
Name and type of the education institution / training provider "Iuliu Hațieganu" UMPH CLUJ-NAPOCA
Period 2004
Qualification / diploma obtained DOCTORAL STUDENT
Main disciplines studied / professional competences acquired
Name and type of the education institution / training provider UMPH CLUJ-NAPOCA

Period 2000 - 2003
 Qualification / diploma obtained LEGAL PROFESSIONAL
 Main disciplines studied / professional competences acquired FUNDAMENTS OF LAW, CIVIL LAW, CRIMINAL LAW, INTERNATIONAL LAW
 Name and type of the education institution / training provider 1 DECEMBRIE 1918 UNIVERSITY, ALBA-IULIA
 Period 2003
 Qualification / diploma obtained GRADUATION CERTIFICATE
 Main disciplines studied / professional competences acquired
 Name and type of the education institution / training provider DPPD, 1 DECEMBRIE 1918 UNIVERSITY, ALBA-IULIA
 Period 2001 - 2003
 Qualification / diploma obtained ENTERPRISE DOCTOR COMPETENCE
 Main disciplines studied / professional competences acquired
 Name and type of the education institution / training provider UMPH CLUJ-NAPOCA
 Period 1996 - 1997
 Qualification / diploma obtained COMPETENCE IN ULTRASOUND
 Main disciplines studied / professional competences acquired
 Name and type of the education institution / training provider UMPH CLUJ-NAPOCA
 Period 1996
 Qualification / diploma obtained CONSULTANT DOCTOR
 Main disciplines studied / professional competences acquired
 Name and type of the education institution / training provider UMPH CLUJ- NAPOCA
 Period 1991
 Qualification / diploma obtained SPECIALIST DOCTOR
 Main disciplines studied / professional competences acquired
 Name and type of the education institution / training provider UMPH CLUJ-NAPOCA
 Period 1978 - 1984
 Qualification / diploma obtained MEDICAL DOCTOR
 Main disciplines studied / professional competences acquired
 Name and type of the education institution / training provider IMPH CLUJ-NAPOCA, FACULTY OF GENERAL MEDICINE

Personal skills and competences

Native language ROMANIAN

Foreign languages spoken GERMAN, ENGLISH, FRENCH

Self-evaluation
European level (*)

Language

Language

Understanding				Speaking				Writing	
Listening		Reading		Participation in conversation		Oral speech		Written expression	
B1	INDEPENDENT USER	B1	INDEPENDENT USER	B1	INDEPENDENT USER	B1	INDEPENDENT USER	B1	INDEPENDENT USER
A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER

	A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER	A2	BEGINNING USER
	(*) Common European Framework of Reference for Foreign Languages									
Social competences and skills	COMMUNICATION, RECEPTIVITY, FLEXIBILITY, GROUP DIALOGUE									
Organizational competences and skills	GOOD ORGANIZER OF PROFESSIONAL ACTIVITY									
Technical competences and skills	USE OF OFFICE TECHNIQUE									
Computer competences and skills	USE OF PC: WINDOWS; VARIOUS APPLICATIONS									
Artistic competences and skills	MUSIC									
Other competences and skills										
Driving license	YES									

SCIENTIFIC ACTIVITY REPORT

Papers published as full text:

4. *Poliartrita reumatoidă. Aspecte clinico-genetice*, Analele Societății Naționale de Biologie Celulară, 2005, vol. X: 368 -371;
5. *Glaucomul cu unghi deschis. Aspecte clinico-genetice*, Analele Societății Naționale de Biologie Celulară, 2006, vol. XI: 82-86;
6. *Glaucomul congenital. Aspecte clinico-genetice*, Analele Societății Naționale de Biologie Celulară, 2007, vol. XII: 201-204.

Papers published as abstracts:

4. *Glaucomul aspecte clinico-genetice*, Al II-lea Congres Național de Genetică Medicală, Cluj Napoca, 2006, p.30
5. *Poliartrita reumatoidă. Aspecte clinico-genetice*, a XXIII-a Sesiune Științifică Anuală a Societății Naționale de Biologie Celulară, Sibiu, 2005, p. 183
6. *Distribution of p53 codon 72 polymorphism in primary open angle glaucoma in a Romanian cohort (Alba County)*, BALKAN CONGRESS OF MEDICAL GENETICS, Timișoara, 2011, p.61

Participation in scientific meetings:

10. Diploma, National Session of Cell Biology (SNBC), Sibiu, 2005
11. Attendance certificate, The 2nd National Congress of Medical Genetics, Cluj-Napoca, 2006
12. Attendance certificate, Postgraduate course on "Impact of genetics on human pathology", Cluj-Napoca, 2006
13. Attendance certificate, The 4th Conference of the Romanian Society of Medical Genetics, Craiova, 2008
14. Attendance certificate, National Conference of Medical Genetics, Sibiu, 2009
15. Attendance diploma, BALKAN CONGRESS FOR RARE DISEASES ROMANIA, Cluj-Napoca, 2009
16. Attendance diploma, The Annual Session of the Romanian Society for Cell Biology, Constanța, 2010
17. Attendance diploma, The 3rd International Congress of the Romanian Society for Cell Biology held in Arad (Romania) and Szeged (Hungary), June 8-12, 2011
18. Attendance diploma, BALKAN CONGRESS OF MEDICAL GENETICS, Timișoara, 2011