



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ευαγγελή Τσιρώνη

Διδακτορική Διατριβή

**"Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΟΡΦΩΝ
ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ. ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ"**

υπό

ΦΑΝΗΣ Γ. ΖΑΧΑΡΑΚΗ

Ιατρού Οφθαλμιάτρου

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2014

© 2014 Φανή Ζαχαράκη

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα» (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Δρ. Δημήτριος Χατζούλης**, Ομότιμος Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (**Επιβλέπων**),
2. **Δρ. Γεώργιος Χατζηγεωργίου**, Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
3. **Δρ. Ευαγγελή Τσιρώνη**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπων)** **Δρ. Δημήτριος Χατζούλης**
*Ομότιμος Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας*
- 2^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Γεώργιος Χατζηγεωργίου**
Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 3^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Ευαγγελή Τσιρώνη**
*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 4^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Ασπασία Τσέζου**
Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 5^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Ελένη Γεωργάτσου**
*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας-Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 6^{ος} Εξεταστής** **Δρ Παναγιώτης Λιάκος**
*Επίκουρος Καθηγητής Ιατρική Βιοχημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας*
- 7^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Ευθύμιος Δαρδιώτης**
*Επίκουρος Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η σύλληψη, σχεδίαση, υλοποίηση και ολοκλήρωση αυτής της εργασίας υπήρξε ένα μακρύ και περιπετειώδες ταξίδι. Πολλοί άνθρωποι μου έκαναν την τιμή να με συντροφεύσουν σε αυτό και να το εμπλουτίσουν με την επιστημονική τους αρτιότητα και την πνευματική τους αρετή.

Θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον δάσκαλό μου και επιβλέποντα της διδακτορικής μου διατριβής, Ομότιμο Καθηγητή Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κ. Δημήτριο Χατζούλη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση του θέματος της έρευνας, αλλά και για τη συνεχή καθοδήγηση και ενθάρρυνσή μου μέχρι την ολοκλήρωση του έργου αυτού.

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή Νευρολογίας κ. Γεώργιο Χατζηγεωργίου, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για το ουσιαστικό ενδιαφέρον και τη σταθερή υποστήριξή του σε όλα τα στάδια εκπόνησης αυτής της διατριβής.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας κα Ευαγγελία Τσιρώνη, τωρινή Διευθύντρια της Οφθαλμολογικής Κλινικής, για την καθοριστική της επίδραση στην ερευνητική μου πορεία, αλλά και στη συνολική εκπαίδευσή μου στην Οφθαλμολογία. Κυρίως όμως την ευχαριστώ για τον απεριόριστο χρόνο που μου αφιέρωσε, παρακολουθώντας, ελέγχοντας και καθοδηγώντας όλα τα στάδια της αυτής έρευνας και συμβάλλοντας στην τελική συγγραφή του κειμένου με κριτικές παρεμβάσεις. Η ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής θα ήταν αδύνατη χωρίς την πολύτιμη επιστημονική και ηθική υποστήριξη που μου προσέφερε.

Είμαι ιδιαίτερα ευγνώμων στην κα Ασπασία Τσέζου, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής, για τη γενναιόδωρη και πολύπλευρη συμβολή της στο εργαστηριακό μέρος, αλλά και για τις καίριες παρεμβάσεις της στη συγγραφή των κειμένων.

Ευχαριστώ τον κ. Κωνσταντίνο Καραμπάτσα, πρώην Επίκουρο Καθηγητή Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, που με την ευρεία εμπειρία του στο αντικείμενο του γλαυκώματος συνεισέφερε αποφασιστικά στο κλινικό μέρος αυτής της διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Γεώργιο Κολιάκο, Καθηγητή Βιολογικής Χημείας του Α.Π.Θ. και τη συνεργάτιδά του κα Κωνσταντίνα Τοπουρίδου, βιοχημικό, για τη συμβολή τους στην υλοποίηση του βιοχημικού μέρους της έρευνας.

Οφείλω πολλά στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας του University of Utah Margaret DeAngelis που με φιλοξένησε για 6 μήνες στο εργαστήριό της και μου έδωσε την ευκαιρία να περιηγηθώ στα άγνωστα νερά της γενετικής επιδημιολογικής έρευνας.

Ευχαριστώ την κα Παυλίνα Αμπανίδου, βιοχημικό, για τη σημαντική αρωγή της στο εργαστηριακό σκέλος του έργου.

Ευχαριστώ τέλος την κα Κατερίνα Σατήρα, γραμματέα του τμήματος Οφθαλμολογίας, για την ευγενική και ακούραστη υποστήριξή της και την ικανότητά της να κάνει τα δύσκολα εύκολα και τα αδύνατα δυνατά.

Φανή Ζαχαράκη

Στους γονείς μου, Μαρία και Γιώργο.

Για όσα έχουν κάνει και, περισσότερο, για όσα είναι για μένα.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Γεννήθηκα στο Βόλο Μαγνησίας το Δεκέμβριο του 1974. Ολοκλήρωσα τις βασικές μου σπουδές στη Θεσσαλονίκη.

Μετά από επιτυχία στις πανελλήνιες εξετάσεις εισήχθημ στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών, από όπου αποφοίτησα το Φεβρουάριο του 2000.

Από το Μάρτιο του 2000 ως τον Ιούλιο του 2001 υπηρέτησα την τρίμηνη άσκηση στο Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας και την υπηρεσία υπαίθρου στο Περιφερειακό Ιατρείο Αμπελακίων του νομού Λάρισας.

Πριν την έναρξη της ειδίκευσης στην Οφθαλμολογία, από τον Φεβρουάριο του 2002 ως το Νοέμβριο του 2005, παρακολουθούσα ως άμισθος συνεργάτης τις δραστηριότητες της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Στο διάστημα αυτό εγκρίθηκε η εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής, ενώ παράλληλα, τον Οκτώβριο του 2005 ολοκλήρωσα το μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών «Διοίκηση Μονάδων Υγείας» του Ελληνικού Ανοικτού Πανεπιστημίου.

Από το Νοέμβριο του 2005 ως τον Απρίλιο του 2010 υπηρέτησα ως ειδικευόμενη ιατρός στην Οφθαλμολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Στο διάστημα αυτό πραγματοποιήθηκε το μεγαλύτερο μέρος της συγκέντρωσης υλικού για τη μελέτη.

Κατά τη διάρκεια της ειδικότητάς μου, τον Ιούλιο του 2009, εκπαιδεύθηκα για διάστημα 4 εβδομάδων στο Ocular Molecular Genetics Institute, Department of Ophthalmology, Massachusetts Eye & Ear Infirmary, Harvard Medical School στη Βοστώνη των Η.Π.Α. στις τεχνικές και τη μεθοδολογία των γενετικών μελετών των οφθαλμικών παθήσεων.

Το Μάιο του 2010, μετά από επιτυχία στις πανευρωπαϊκές εξετάσεις στο Παρίσι έγινα κάτοχος του Διπλώματος Αριστείας του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου Οφθαλμολογίας (European Board of Ophthalmology Diploma).

Τον Ιούλιο του 2010 απέκτησα τον τίτλο ειδικότητας στην Οφθαλμολογία, και ως τον Απρίλιο του 2011 παρέμεινα στην Οφθαλμολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας ως επιστημονικός συνεργάτης, ολοκληρώνοντας το κλινικό και βιοχημικό μέρος αυτής της εργασίας.

Από το Μάιο ως το Νοέμβριο του 2011 εργάσθηκα ως Ερευνητικός Συνεργάτης (Research Fellow) στο DeAngelis Lab, John A. Moran Eye Center, University of Utah, Salt Lake City, UT, USA, όπου συμμετείχα σε γενετικές μελέτες οφθαλμικών παθήσεων, όπως η ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας και το γλαύκωμα. Σε αυτήν την περίοδο μου δόθηκε η ευκαιρία να ολοκληρώσω το γενετικό μέρος της διατριβής.

Από τον Ιούνιο του 2012 ως σήμερα εργάζομαι ως Κλινικός Ερευνητικός Συνεργάτης (Medical Retina Clinical Research Fellow) στο Frimley Park Hospital, στο Surrey του Ηνωμένου Βασιλείου.

Έχω ως τώρα συμμετάσχει σε 11 δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά με κριτή, η τελευταία των οποίων, με τίτλο *“Plasma homocysteine and genetic variants of homocysteine metabolism enzymes in patients from central Greece with primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma”* αφορά τη διδακτορική αυτή διατριβή και έγινε δεκτή τον Απρίλιο του 2014 στο περιοδικό *Clinical Ophthalmology*.
Είμαι έγγαμη και έχω δύο κόρες.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ

- 1) **Zacharaki F**, Hadjigeorgiou GM, Koliakos GG, Morrison MA, Tsezou A, Chatzoulis DZ, Almpantidou P, Topouridou K, Karabatsas CH, Pefkianaki M, DeAngelis MM, Tsironi EE. Plasma homocysteine and genetic variants of homocysteine metabolism enzymes in patients from central Greece with primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma. Δεκτό προς δημοσίευση στο περιοδικό *Clinical Ophthalmology*, 16/04/2014.
- 2) Owen LA, Morrison MA, Ahn J, Woo SJ, Sato H, Robinson R, Morgan DJ, **Zacharaki F**, Simeonova M, Uehara H, Chakravarthy U, Hogg RE, Ambati BK, Kotoula M, Baehr W, Haider NB, Silvestri G, Miller JW, Tsironi EE, Farrer LA, Kim IK, Park KH, DeAngelis MM. *FLT1 Genetic Variation Predisposes to Neovascular AMD in Ethnically Diverse Populations and Alters Systemic FLT1 Expression. Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014 May 8;55(6):3543-54.
- 3) Kotoula MG, **Zacharaki F**, Tsironi EE. Intravitreal Bevacizumab for Photodynamic Therapy-Induced Massive Macular Detachment in Acute Central Serous Chorioretinopathy. *Case Rep Ophthalmol* 2012;3:196-199.
- 4) Tsironi EE, Dastiridou AI, Katsanos A, Dardiotis E, Veliki S, Patramani G, **Zacharaki F**, Ralli S, Hadjigeorgiou GM. Perimetric and retinal nerve fiber layer findings in patients with Parkinson's disease. *BMC Ophthalmol.* 2012 Oct 2;12(1):54.
- 5) Tsironi EE, **Zacharaki F**, Grivea IN, Tachmitzi SV, Mivhoula AN, Vlychou M, Petinaki E, Syrogiannopoulos GA. European ST80 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* orbital cellulitis in a neonate. *BMC Ophthalmology* 2012; 12:7
- 6) Terzidou C, Dalianis G, **Zacharaki F**. Ocular symptomatology, management and clinical outcome of a giant intracranial aneurysm. *Case Rep Med.* 2012;2012:643965
- 7) Morrison MA, Silveira AC, Huynh N, Jun G, Smith SE, **Zacharaki F**, Sato H, Loomis S, Andreoli MT, Adams S, Radeke MJ, Jelcick AS, Yuan Y, Tsiloulis AN, Chatzoulis DZ, Silvestri G, Kotoula MG, Tsironi EE, Hollis BW, Chen R, Haider NB, Miller JW, Farrer LA, Hageman GS, Kim IK, Schaumberg DA, DeAngelis MM. Systems biology based analysis implicates a novel role for vitamin D metabolism in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Hum Genomics.* 2011 Oct;5(6):538-68.
- 8) Jun G, Nicolaou M, Morrison MA, Buros J, Morgan DJ, Radeke MJ, Yonekawa Y, Tsironi EE, Kotoula MG, **Zacharaki F**, Mollema N, Yuan Y, Miller JW, Haider NB, Hageman GS, Kim IK, Schaumberg DA, Farrer LA, Deangelis MM. Influence of *ROBO1* and *RORA* on Risk of Age-Related Macular Degeneration Reveals Genetically Distinct Phenotypes in Disease Pathophysiology. *PLoS One.* 2011;6(10):e25775.

- 9) Aggelakis K, **Zacharaki F**, Dardiotis E, Xiromerisiou G, Tsimourtu V, Ralli S, Gkaraveli M, Bourpoulas D, Rodopoulou P, Papadimitriou A, Hadjigeorgiou G. Interleukin-1B and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in Greek multiple sclerosis (MS) patients with bout-onset MS. *Neurol Sci.* 2010 Jun;31(3):253-7.
- 10) Labiris G, Katsanos A, Fanariotis M, **Zacharaki F**, Chatzoulis D, Kozobolis VP. Vision-specific Quality of Life in Greek Glaucoma Patients. *J Glaucoma.* 2010 Jan;19(1):39-43.
- 11) Tsironi E, Gatselis N, Kotoula MG, Zachou K, Pefkianaki M, **Zacharaki F**, Chatzoulis DZ, Dalekos GN. Ocular disorders as the prevailing manifestations of antiphospholipid syndrome: a case series. *Cases Journal.* 2009 Oct 20; 2:159.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ: 55

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

- 1) Αλετράς Β., **Ζαχαράκη Φ.**, Νιάκας Δ. Ερωτηματολόγιο μέτρησης της ικανοποίησης των επισκεπτών των εξωτερικών ιατρείων οφθαλμολογικής κλινικής ελληνικού δημόσιου νοσοκομείου. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2007; 24(1): 89-96.
- 2) Δαλιάνης Γ., **Ζαχαράκη Φ.**, Κοτούλα Μ., Δημάση Β., Τσιρώνη Ε. Υποτροπιάζουσα ραγοειδίτιδα και δευτεροπαθές γλαύκωμα σε ασθενή με αδιάγνωστη φυματίωση. *Οφθαλμολογικά Χρονικά* 2010; 20(47): 47-49.
- 3) **Ζαχαράκη Φ.**, Τσιρώνη, Γριβέα Ι., Ταχμιτζή Σ., Μιχούλα Α., Βλυχού Μ., Πετεινάκη Ε., Συρογιαννόπουλος Γ. Σοβαρή Νεογνική Οπισθοδιαφραγματική Κυτταρίτιδα Κόγχου Οφειλόμενη σε Ανθεκτικό στη Μεθικιλίνη Χρυσίζοντα Σταφυλόκοκκο. *Οφθαλμολογικά Χρονικά* 2011; 21(48): 407-409.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Καραμπάτσας Κ., **Ζαχαράκη Φ.**, Νικολοπούλου Α. «Αφαίρεση και αντικατάσταση θολωμένου ενδοφακού σε μεταμοσχευθέντα οφθαλμό με διεγχειρητική χρήση δακτυλίου στήριξης οπισθίου περιφακίου» (video). 20^ο Διεθνές Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Ενδοφακών και Διαθλαστικής Χειρουργικής. Αθήνα, Φεβρουάριος 2006.
2. *Silveira A, Morrison M, Huynh N, **Zacharaki F**, Adams S, Arneberg T, Janssian M, Sato H, Kotoula M, Tsironi E, Tsiloulis A, Chatzoulis D, Miller J, Kim I, Hollis B, Haider N, Hageman G, Chen R, DeAngelis M. "Network analysis of genome wide association data and candidate gene association implicates a novel vitamin D/calcium pathway in the pathogenesis of neovascular age-related macular degeneration"(PosterNumber:227). Keystone Symposia: Biomolecular Interaction Networks: Function and Disease, Québec City, Québec, Canada, March 7–12 2010.*
3. *Jun G, Nicolaou M, Morrison MA, Kim IK, Schaumberg DA, Kotoula MG, Tsironi EE, **Zacharaki F**, Hageman GS, Farrer LA, DeAngelis MM. "Gene-Gene Interaction between ROBO1 and RORA in Neovascular Age-related Macular Degeneration (AMD)" (Poster Number: 2888/T).60th annual meeting of the American Society of Human Genetics, Washington D.C., November 2-6 2010.*
4. *DeAngelis MM, Morrison MA, Silveira AC, Adams SM, Kotoula MG, Tsironi EE, **Zacharaki F**, Kim IK, Miller JW, Haider NB, Jelcick A, Hollis BW, Chen R, Hageman GS, Schaumberg DA. "Genetic Data Suggest a Novel Association between the Vitamin D Pathway and Development of Age-related Macular Degeneration" (Poster Number: 2928/T).60th annual meeting of the American Society of Human Genetics, Washington D.C., November 2-6 2010.*
5. ***Zacharaki F**, Chandran M, Nair N, Vijayakumar P, Menon G. "Anatomic patterns and clinical presentation of recurrence in 'stable' wet Age Related Macular Degeneration (AMD) patients". (Poster Number: 4088) ARVO 2013, Seattle, WA, USA, 5-9 May 2013.*
6. *Kailey A, Chandran M, **Zacharaki F**, Chekuri M, Menon G. "Four year results of visual outcome in Neovascular Age Related Macular Degeneration (AMD) treated with Ranibizumab". (Poster Number 3829) ARVO 2013, Seattle, WA, USA, 5-9 May 2013.*
7. *Rob N, North L, Ansari G, **Zacharaki F**, Chandran M, Menon G. "Evaluation of accuracy and efficacy of an optometrist led stable AMD clinic in a regional Age Related Macular Degeneration (AMD) centre". (Poster Number 3810) ARVO 2013, Seattle, WA, USA, 5-9 May 2013.*
8. ***Zacharaki F**, Chandran M, Nambiar S, Menon G. "Intravitreal Bevacizumab for the treatment of Peripapillary Choroidal Neovascular Membranes: 12 month results". (paper presentation) 13th EURETINA Congress, Hamburg, Germany, 26-29 September 2013.*

**"Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΟΡΦΩΝ
ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ. ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ"**

ΦΑΝΗ Γ. ΖΑΧΑΡΑΚΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2014

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

4. **Δρ. Δημήτριος Χατζούλης**, *Ομότιμος Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Επιβλέπων),*
5. **Δρ. Γεώργιος Χατζηγεωργίου**, *Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,*
6. **Δρ. Ευαγγελή Τσιρώνη**, *Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γλαύκωμα, μια από τις σημαντικότερες αιτίες τύφλωσης παγκοσμίως, είναι μια εξελισσόμενη εκφυλιστική παθηση του οπτικού νεύρου που χαρακτηρίζεται ανατομικά από λέπτυνση της στιβάδας των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς και διάβρωση της κεφαλής του οπτικού νεύρου και κλινικά από προοδευτική απώλεια των οπτικών πεδίων. Με τη μελέτη αυτή επιχειρείται να διερευνηθεί ο ρόλος της ομοκουστεΐνης στην παθογένεια του πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας και του ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος, τα οποία αποτελούν τους συχνότερα απαντώμενους τύπους γλαυκώματος στην Ελλάδα. Συμμετείχαν 156 ασθενείς (76 με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και 80 με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα) και 135 μάρτυρες αντίστοιχης ηλικίας και φύλου. Μετρήθηκε η ομοκουστεΐνη πλάσματος και ακολούθησε αποτύπωση του γονοτύπου για τρεις σημειακούς γενετικούς πολυμορφισμούς ενζύμων του μεταβολισμού της ομοκουστεΐνης. Πρόκειται για τους πολυμορφισμούς rs1801131 και rs1801133 του γονιδίου της ρεδουκτάσης του μεθυλτετραϋδροφολικού (MTHFR) και έναν πολυμορφισμό (rs8006686) του γονιδίου της αφυδρογονάσης του μεθυλτετραϋδροφολικού (MTHFD1). Τα επίπεδα ομοκουστεΐνης βρέθηκαν αυξημένα στους ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες, ιδίως στην ομάδα του ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος, ωστόσο τα ευρήματα δεν ήταν στατιστικώς σημαντικά. Τα ελάσσονα αλληλία των πολυμορφισμών του γονιδίου της MTHFR έδειξαν προστατευτική τάση για το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και τάση για αυξημένο κίνδυνο για το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, ωστόσο αυτές οι συσχετίσεις δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές ($p > 0.05$). Ομοίως, δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση για το έλασσον αλληλίου του γονιδίου MTHFD1, παρ' ότι υπήρξε τάση για αυξημένο κίνδυνο και στις δύο κατηγορίες ασθενών ($p > 0.05$). Τέλος, δεν βρέθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των γενετικών πολυμορφισμών και των επιπέδων ομοκουστεΐνης ($p > 0.05$). Συμπερασματικά, στις υπό εξέταση ομάδες ασθενών, ούτε τα επίπεδα ομοκουστεΐνης, ούτε οι τρεις γενετικοί πολυμορφισμοί παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με την εμφάνιση γλαυκώματος.

ABSTRACT

Glaucoma is one of the leading causes of blindness worldwide. It is a progressive optic neuropathy characterized anatomically by thinning of the retinal nerve fibre layer at the optic nerve head and clinically by gradual development of visual field defects. The purpose of this study was to investigate plasma homocysteine levels and polymorphisms in genes encoding enzymes in the metabolic pathway of homocysteine in association with primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma, which are the commonest types of glaucoma in Greece. A total of 156 patients (76 patients with primary open-angle glaucoma and 80 with pseudoexfoliation glaucoma) and 135 age and sex - matched controls were enrolled in the study. Plasma homocysteine levels were measured using the commercially available ELISA kit. DNA was extracted from peripheral blood leucocytes and real-time PCR was used to genotype the samples. Patients were genotyped for 3 single nucleotide polymorphisms: rs1801131 and rs1801133 at the MTHFR gene and rs8006686 at the MTHFD1. Homocysteine levels were higher in those with disease as compared to controls and there was a larger difference in homocysteine levels between the pseudoexfoliation glaucoma group and controls. However, the results were not statistically significant. The minor alleles of the MTHFR polymorphisms were in the protective direction for primary open-angle glaucoma, while they showed increased risk of pseudoexfoliation glaucoma, but none of these associations reached statistical significance ($p>0.05$). The minor allele of MTHFD1 rs8006686 showed a trend of increased risk of both disease groups, but was not significant ($p>0.05$). No statistical interaction was seen between the genetic variants and homocysteine levels ($p>0.05$). In conclusion, neither polymorphism from genes involved in the pathway of homocysteine metabolism nor measured homocysteine levels were shown to be associated with either primary open-angle glaucoma or pseudoexfoliation glaucoma in the cohort examined.

Πίνακας Περιεχομένων

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή.....σελ.	17
Κεφάλαιο 2. Γενικό μέρος.....σελ.	18
2.1 Ανατομία και παθοφυσιολογία του γλαυκώματος	σελ. 18
2.2. Πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας	σελ. 25
2.3. Ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο	σελ. 36
2.4. Ψευδοαποφολιδωτικό γλάυκωμα.....σελ.	42
2.5 Ομοκυστεΐνη	σελ. 43
Κεφάλαιο 3. Ειδικό μέρος	σελ. 52
3.1. Σκοπός της μελέτης	σελ. 52
3.2. Υλικό και μέθοδος	σελ. 54
Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα	σελ. 65
Κεφάλαιο 5. Συζήτηση	σελ. 71
Κεφάλαιο 6. Συμπέρασμα.....σελ.	76
Βιβλιογραφία	σελ. 77
Παράρτημα Ι. Πρωτόκολλο εξέτασης ασθενούς.....σελ.	89
Παράρτημα ΙΙ. Κλίμακα εκτίμησης μεταβολικής κατάστασης	σελ. 95
Παράρτημα ΙΙΙ. Αποτελέσματα ταυτοποίησης γονοτύπου για τους τρεις πολυμορφισμούς.....σελ.	97
Παράρτημα ΙV. Δημοσίευση στο περιοδικό Clinical Ophthalmology.....σελ.	122

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

Ο ορισμός του γλαυκώματος έχει ιστορικά υποστεί αρκετές μεταβολές από τον 4^ο π. Χ. αιώνα, οπότε και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Ιπποκράτη. Ακόμη και σήμερα δεν υπάρχει μια ενιαία ορολογία σε όλα τα οφθαλμολογικά συγγράμματα. Ειδικά συγγράμματα, όπως αυτό της Αμερικανικής Ακαδημίας Οφθαλμολογίας, θεωρούν ως κοινό τόπο όλων των μορφών γλαυκώματος την εξελισσόμενη οπτική νευροπάθεια με απώλεια των οπτικών πεδίων και χαρακτηριστικές δομικές αλλοιώσεις που περιλαμβάνουν λέπτυνση της στιβάδας των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς και διάβρωση της κεφαλής του οπτικού νεύρου.¹ Ουσιαστικά, πρόκειται για μια ετερογενή ομάδα παθολογικών καταστάσεων που προσβάλλουν ανατομικά και λειτουργικά το οπτικό νεύρο.

Η συχνότητα του γλαυκώματος στη λευκή φυλή κυμαίνεται, αναλόγως και των κριτηρίων διάγνωσης που χρησιμοποιούνται, από 1 έως και 6,5% του γενικού πληθυσμού ηλικίας άνω των 40 ετών, ενώ είναι δέκα φορές συχνότερο σε άτομα της αφρικανικής καταγωγής. Πρόσφατη έρευνα στην Κρήτη υπολογίζει την επίπτωση του γλαυκώματος στο νησί στο ποσοστό του 2,8% στον πληθυσμό άνω των 40 ετών.²

Το γλαύκωμα αποτελεί μια από τις σημαντικότερες αιτίες τύφλωσης παγκοσμίως. Σύμφωνα με πολύ πρόσφατη εκτίμηση της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO, 2011),³ ευθύνεται για το 2% των περιπτώσεων απώλειας οπτικής ικανότητας (visual impairment) παγκοσμίως, αποτελώντας την 3^η σε συχνότητα αιτία απώλειας όρασης και την 1^η αιτία μη αναστρέψιμης απώλειας όρασης. Υπολογίζεται ότι το 2010 ο αριθμός των γλαυκωματικών ασθενών άγγιξε τα 61 εκατομμύρια, με 8,1 εκατομμύρια να βρίσκονται σε τελικό στάδιο αμφοτερόπλευρης τύφλωσης. Με δεδομένη τη διαρκή γήρανση του πληθυσμού, ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες, αναμένεται ακόμη μεγαλύτερη αύξηση των αριθμών αυτών τις επόμενες

δεκαετίες. Επιπλέον, η φυσική πορεία της ασθένειας είναι βραδέως εξελισσόμενη και ασυμπτωματική ως τα τελικά στάδια, με αποτέλεσμα, ακόμη και με τις σύγχρονες μεθόδους ανίχνευσης, να υποδιαγιγνώσκεται. Είναι επομένως πιθανόν, τόσο ο πραγματικός αριθμός των νοσούντων, όσο και ο αναμενόμενος στις μελλοντικές προβολές να είναι υψηλότεροι των εκτιμήσεων.

Μολονότι αποτελεί αντικείμενο διαρκούς έρευνας, η παθογένεια της γλαυκωματικής νευροπάθειας δεν έχει ακόμη διαλευκανθεί πλήρως. Η παρούσα μελέτη έχει στόχο τη διερεύνηση της συμμετοχής της ομοκυστεΐνης στις πολυπαραγοντικές διεργασίες ανάπτυξης και εξέλιξης των συνηθέστερων στην Ελλάδα μορφών γλαυκώματος.

Κεφάλαιο 2. Γενικό μέρος

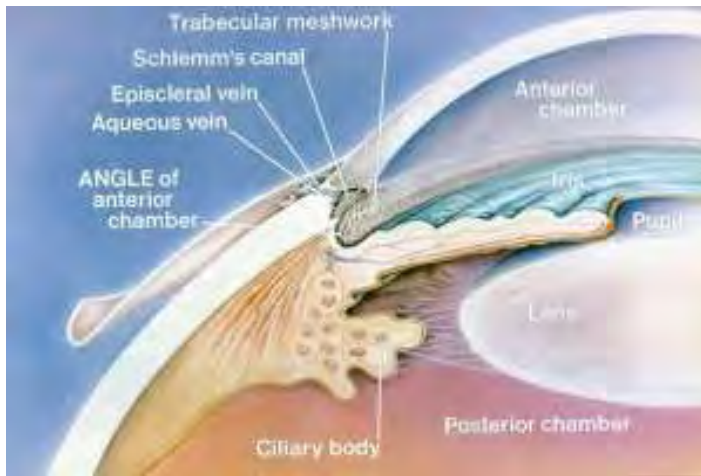
2.1. Ανατομία και παθοφυσιολογία του γλαυκώματος

Η μελέτη των γλαυκωμάτων προϋποθέτει εξοικείωση με βασικές έννοιες όπως η ενδοφθάλμια πίεση και η ανατομική της γωνίας του προσθίου θαλάμου του οφθαλμού.

Η ενδοφθάλμια πίεση είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες για την ανάπτυξη γλαυκώματος. Το ύψος της ενδοφθάλμιας πίεσης ουσιαστικά αντιπροσωπεύει την κατάσταση ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής και της παροχέτευσης του υδατοειδούς υγρού μέσα στο βολβό του οφθαλμού. Το υδατοειδές υγρό παράγεται από τα κύτταρα του μη χρωστικοφόρου επιθηλίου των ακτινοειδών προβολών του ακτινωτού σώματος μετά από διήθηση ύδατος και ηλεκτρολυτών από τα τριχοειδή αγγεία της περιοχής μέσω μηχανισμών ενεργητικής έκκρισης, στους οποίους συμμετέχουν αρκετά συστήματα ενζύμων, κυρίως η

αντλία Na^+/K^+ ΑΤΡάση αλλά και το σύστημα της καρβονικής ανυδράσης τύπου II.⁴ Είναι ένα διαυγές υπερδιήθημα του αίματος το οποίο αποτελείται κυρίως από νερό, ιόντα K^+ , Na^+ , Cl^- και άλλους ηλεκτρολύτες, μόρια χαμηλού μοριακού βάρους, όπως η γλυκόζη και το γαλακτικό οξύ, και πρωτεΐνες, όπως η αλβουμίνη και η τρανσφερρίνη. Υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις των παραπάνω συστατικών στο αίμα και στο υδατοειδές υγρό: για παράδειγμα, το υδατοειδές περιέχει λιγότερες πρωτεΐνες και περισσότερο ασκορβικό οξύ σε σχέση με το αίμα.⁴

Η παραγωγή και παροχέτευση του υδατοειδούς υγρού αποτελούν ένα σύστημα χαμηλής ροής. Ο ρυθμός παραγωγής του υδατοειδούς είναι περίπου 2-3 $\mu\text{l}/\text{min}$. Από τα σημεία παραγωγής του, στον οπίσθιο θάλαμο του οφθαλμού, εισέρχεται στον πρόσθιο θάλαμο μέσω της κόρης της ίριδας. Παροχετεύεται κατά 90% από τα μεσοδιαστήματα του σκληροκερατοειδικού ηθμού (ή γωνιακού δικτυωτού, ή trabeculum) της γωνίας του πρόσθιου θαλάμου, μέσω του αγωγού του Schlemm και των έξω αθροιστικών σωληναρίων, προς το επισκληρικό φλεβικό πλέγμα και τη γενική κυκλοφορία. Το υπόλοιπο 10% παροχετεύεται από τη ραγοειδοσκληρική οδό, ενώ ένα πολύ μικρό ποσοστό βρίσκει διέξοδο μέσω της ίριδας.



Εικόνα 1: Η ανατομία του προστίου θαλάμου του οφθαλμού και η οδός παραγωγής – παροχέτευσης του υδατοειδούς υγρού

Η σχέση που συνδέει το ρυθμό παροχέτευσης με το ύψος της ενδοφθάλμιας πίεσης μπορεί να αποτυπωθεί ως εξής:

$$F = C (P_0 - P_e)$$

όπου:

- **F** ο ρυθμός της παροχέτευσης (φυσιολογικά 2μl / min)
- **C** η ροή της παροχέτευσης (φυσιολογικά 0,2 μl / min ανά mmHg)
- **P₀** η ενδοφθάλμια πίεση (σε mmHg)
- **P_e** η πίεση στο επισκληρικό φλεβικό δίκτυο (φυσιολογικά 10 mmHg)

Η παραγωγή και η παροχέτευση του υδατοειδούς υγρού υπόκεινται σε ρύθμιση μέσω του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Η ίριδα και το ακτινωτό σώμα διαθέτουν χολινεργικούς και αδρενεργικούς υποδοχείς με κατανομή στο μυϊκό ιστό, τα αγγεία και τα επιθηλιακά κύτταρα. Από πειραματικά δεδομένα συνάγεται ότι οι χολινεργικοί υποδοχείς του ακτινωτού επιθηλίου δεν σχετίζονται με τη ρύθμιση της ενδοφθάλμιας πίεσης. Ωστόσο, χολινεργικοί παράγοντες όπως η πιλοκαρπίνη προκαλούν σύσπαση του ακτινωτού μύος, η οποία οδηγεί σε μηχανικό άνοιγμα του αγωγού του Schlemm και του σκληροκερατοειδικού ηθμού.⁵ Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της αντίστασης στη ροή του υδατοειδούς, τη διευκόλυνση της παροχέτευσής του και τελικά τη μείωση της ενδοφθάλμιας πίεσης. Οι αδρενεργικοί υποδοχείς του ακτινωτού σώματος είναι στη μεγάλη τους πλειοψηφία α_2 και β_2 υποδοχείς. Οι πρώτοι, όταν ενεργοποιούνται (για παράδειγμα από φαρμακευτικούς α_2 αγωνιστές), προκαλούν την ελάττωση της παραγωγής υδατοειδούς υγρού και, συνεπώς την ελάττωση της ενδοφθάλμιας πίεσης, αναστέλλοντας το ένζυμο της αδενυλικής κυκλάσης. Οι β_2 αγωνιστές ενεργοποιούν την αδενυλική κυκλάση, αυξάνοντας την ενδοφθάλμια πίεση, ενώ, αντίθετα οι β_2 ανταγωνιστές ελαττώνουν την ενδοφθάλμια πίεση.⁴ Τα παραπάνω αποκτούν ιδιαίτερη κλινική σημασία στη θεραπεία του γλαυκώματος. α -αγωνιστές, όπως η βριμονιδίνη, β -αναστολείς, όπως η τιμολόλη και χολινεργικοί παράγοντες όπως η πιλοκαρπίνη χρησιμοποιούνται ευρέως σε μορφή οφθαλμικών σταγόνων ως τοπική αντιγλαυκωματική αγωγή. Άλλοι παράγοντες που χρησιμοποιούνται για αυτόν τον σκοπό και δρουν μέσω διαφορετικών μηχανισμών είναι τα ανάλογα προσταγλανδινών (λατανοπρόστη, τραβοπρόστη) και οι αναστολείς της καρβονικής ανυδράσης (ακεταζολαμίδη, βρινζολαμίδη).

Το ύψος της ενδοφθάλμιας πίεσης εμφανίζει ημερήσιες διακυμάνσεις έως και 6 mmHg, ακολουθώντας κερκαδικό ρυθμό. Οι υψηλότερες τιμές παρατηρούνται τις πρωινές ώρες (8-11 π.μ.), ενώ οι χαμηλότερες τη νύχτα μεταξύ 12 και 2 π.μ., φαινόμενο που αποδίδεται στις

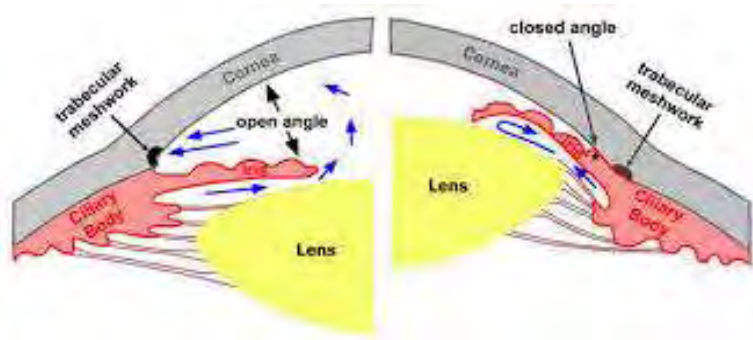
διαφορές των επιπέδων κορτικοειδών στο αίμα και σχετίζεται περισσότερο με τον κύκλο του ύπνου παρά με την εναλλαγή ημέρας-νύχτας. Έχει διαπιστωθεί από έρευνες ότι σε ασθενείς με γλαύκωμα η ημερήσια διακύμανση της ενδοφθάλμιας πίεσης είναι μεγαλύτερη και μπορεί να φθάσει ως τα 15 mmHg. Επίσης, η μέση ενδοφθάλμια πίεση αυξάνεται με την ηλικία (περίπου 1 mmHg για κάθε δεκαετία μετά την ηλικία των 40 ετών), ενώ το γυναικείο φύλο εμφανίζει μέση πίεση ελαφρώς υψηλότερη του ανδρικού.

Οι φυσιολογικές τιμές της ενδοφθάλμιας πίεσης κυμαίνονται στο γενικό πληθυσμό από 11 έως 21 mmHg, ακολουθώντας, κατά πολλούς ερευνητές, κατανομή καμπύλης του Gauss, πράγμα που σημαίνει ότι το 97,5% των ατόμων θα έχει ενδοφθάλμια πίεση <21 mmHg. Τιμές άνω των 21 mmHg θεωρούνται αυξημένες, και χαρακτηρίζονται ως «οφθαλμική υπερτονία», χωρίς όμως να οδηγούν πάντοτε σε ανάπτυξη γλαυκωματικών αλλοιώσεων του οπτικού νεύρου. Αντίστοιχα, υπάρχουν περιστατικά γλαυκωματικής οπτικής νευροπάθειας με ενδοφθάλμια πίεση εντός των αποδεκτών φυσιολογικών ορίων, τα οποία χαρακτηρίζονται ως «γλαύκωμα χαμηλής πίεσης», ή «γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης» (normal-tension glaucoma, NTG). Η μεγάλη ημερήσια διακύμανση της ενδοφθάλμιας πίεσης θεωρείται επίσης ότι σχετίζεται με ανάπτυξη γλαυκωματικής νευροπάθειας.

Η ταξινόμηση των διαφόρων μορφών γλαυκώματος μπορεί να αναφέρεται στην ηλικία εμφάνισης, την ανατομική της γωνίας του προσθίου θαλάμου και την αιτιολογία τους. Τα συγγενή γλαυκώματα οφείλονται συνήθως σε δυσγενεσίες της γωνίας ή άλλων δομών του προσθίου θαλάμου, ή σχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες του οφθαλμού που ενίοτε συνυπάρχουν και με συστηματικές εκδηλώσεις.

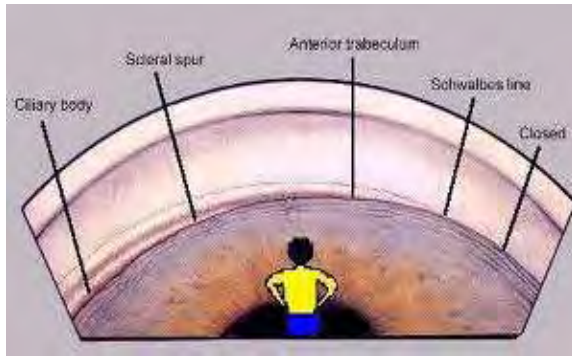
Παράλληλα, η εξέταση και γνώση της ανατομικής της γωνίας του προσθίου θαλάμου είναι κεφαλαιώδους σημασίας για την ταξινόμηση των γλαυκωμάτων. Με βάση αυτήν, τα γλαυκώματα διαχωρίζονται σε ανοικτής και κλειστής γωνίας. Στην πρώτη περίπτωση η γωνία

του προσθίου θαλάμου του οφθαλμού δεν αποτελεί εμπόδιο για την παροχέτευση του υδατοειδούς υγρού, ενώ στη δεύτερη η ανατομική της είναι τέτοια που την παρεμποδίζει, οδηγώντας σε αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης. Στην εικόνα 2 παρουσιάζονται οι διαφορές μεταξύ των δύο καταστάσεων.



Εικόνα 2: Η ανατομική του γλαυκώματος ανοικτής γωνίας (αριστερά) σε αντιδιαστολή με του γλαυκώματος κλειστής γωνίας (δεξιά) (medrounds.org)

Η επισκόπηση της γωνίας του προσθίου θαλάμου γίνεται με την τεχνική της γωνιοσκοπίας και κλινικά εμφανίζεται όπως στην εικόνα 3.



Εικόνα 3. Τα ανατομικά στοιχεία της γωνίας, όπως εμφανίζονται κατά τη γωνιοσκοπία. Όταν η γωνία είναι ανοικτή, όπως στα αριστερά, είναι εμφανείς δομές όπως ο ηθμός (trabeculum), ο σκληραίος πτερισιτήρας (scleral spur), και το ακτινωτό σώμα. Όταν είναι κλειστή, όπως στα δεξιά, οι δομές αυτές δεν είναι ορατές. (academy.org.uk)

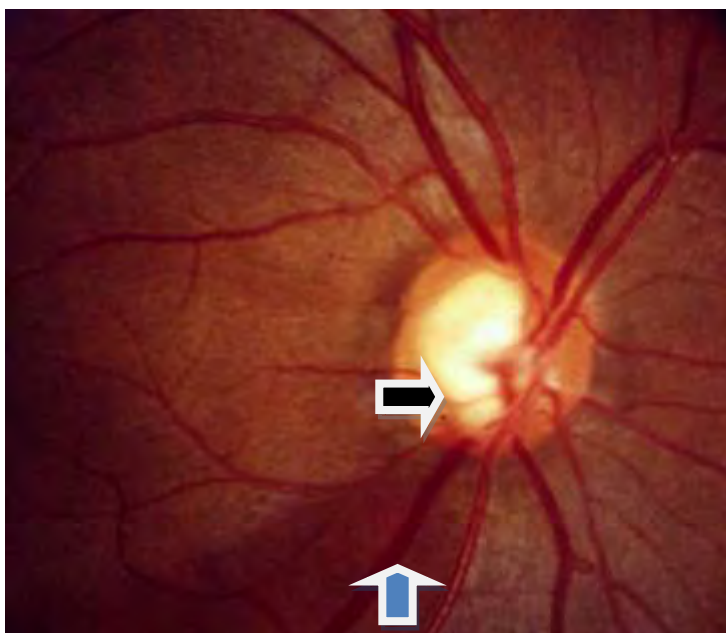
Το γλαύκωμα χαρακτηρίζεται επίσης ως πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές, ανάλογα με το αν υπάρχει γνωστή αιτία που το προκαλεί. Στα δευτεροπαθή γλαυκώματα, εξ' ορισμού, συγκεκριμένες παθολογικές καταστάσεις επιδρούν στην παροχέτευση του υδατοειδούς υγρού, όπως για παράδειγμα η ανάπτυξη νεοαγγείων στην ίριδα και τη γωνία του προσθίου θαλάμου (νεοαγγειακό γλαύκωμα), η ύπαρξη πρωτεϊνών του κρυσταλλοειδούς φακού στον πρόσθιο θάλαμο (φακολυτικό γλαύκωμα), αιμολυμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων (ghost-cell glaucoma), χρωστικής προερχόμενης από την ίριδα (χρωστικοφόρο γλαύκωμα) ή ψευδοαποφολιδωτικού υλικού (ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα). Τα δευτεροπαθή γλαυκώματα μπορεί επομένως να είναι είτε ανοικτής είτε κλειστής γωνίας.

Η συχνότερη μορφή γλαυκώματος είναι το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ενώ η ύπαρξη ψευδοαποφολίδωσης αποτελεί πολύ σημαντικό παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη δευτεροπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας.⁶

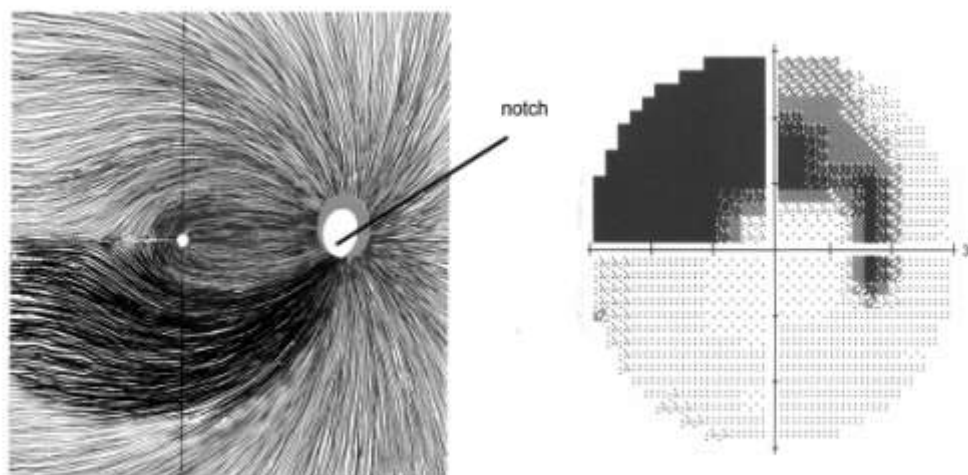
2.2. Πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας

Η συχνότερη μορφή γλαυκώματος είναι το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ή χρόνια απλό γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, το οποίο αντιπροσωπεύει τα 2/3 όλων των περιπτώσεων γλαυκώματος. Το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας ορίζεται (Ευρωπαϊκή Εταιρεία Γλαυκώματος, 2008) ως χρόνια εξελισσόμενη οπτική νευροπάθεια με χαρακτηριστικές μορφολογικές μεταβολές της κεφαλής του οπτικού νεύρου και της στιβάδας των αμφιβληστροειδικών νευρικών ινών (εικόνα 4), σε απουσία άλλης οφθαλμολογικής πάθησης ή συγγενούς ανωμαλίας.⁶ Οι μεταβολές αυτές εκδηλώνονται ιστολογικά με θάνατο των αμφιβληστροειδικών γαγγλιακών κυττάρων (μηχανισμός απόπτωσης) και κλινικά με εξελισσόμενη απώλεια των οπτικών πεδίων (εικόνα 5).

Η Αμερικανική Ακαδημία Οφθαλμολογίας συμπεριλαμβάνει στον ορισμό του πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας και την έννοια της ενδοφθάλμιας πίεσης, αναγνωρίζοντάς την ως έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες για την ανάπτυξη της νόσου.¹



Εικόνα 4: Οπτική θηλή με τυπικές γλαυκωματικές αλλοιώσεις: κατώτερη εστιακή λέπτυνση του νευροαμφιβληστροειδικού χείλους (μαύρο βέλος) με σύστοιχο σφηνοειδές έλλειμμα της στιβάδας των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς (γαλάζιο βέλος) (Remo Suzanna Jr., 2004)



Εικόνα 5: Τοξοειδές σκότωμα του οπτικού πεδίου που ακολουθεί την κατανομή της στιβάδας των οπτικών ινών του αμφιβληστροειδούς. (Remo Suzanna Jr., 2004)

Η γλαυκωματική νευροπάθεια αποτελεί μια συχνή οπτική νευροπάθεια και μια σημαντική αιτία ελάττωσης ή πλήρους απώλειας της όρασης στους ενήλικες. Από ευρείες επιδημιολογικές μελέτες έχει ισχυρά συσχετισθεί με συγκεκριμένους παράγοντες κινδύνου, όπως:

- **Αυξημένη ενδοφθάλμια πίεση.** Ο ρόλος της υψηλής ενδοφθάλμιας πίεσης επιβεβαιώθηκε από πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες, οι οποίες έδειξαν ότι η επίπτωση του γλαυκώματος αυξάνεται όταν αυξάνει η ενδοφθάλμια πίεση.⁷⁻¹⁴
- **Ηλικία.** Η ηλικία αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη γλαυκώματος καθώς έχει βρεθεί ότι η επίπτωση της νόσου αυξάνει δραματικά με την ηλικία.^{8,15} Σε μελέτη από τους Friedman και συν. 2006, η επίπτωση σε πληθυσμό λευκής καταγωγής, ήταν 3,4% στις ηλικίες 73 και 74 ετών και 9,4% στις ηλικίες άνω των 75 ετών.¹⁶

- **Οικογενειακό ιστορικό.** Η Rotterdam Eye Study έδειξε ότι άτομα με έναν συγγενή πρώτου βαθμού πάσχοντα από πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας είχαν 9,2 φορές υψηλότερη πιθανότητα να αναπτύξουν γλαύκωμα από ότι άτομα χωρίς θετικό οικογενειακό ιστορικό.¹⁷ Τη σημασία του οικογενειακού ιστορικού επιβεβαίωσαν και άλλες μεγάλες μελέτες σε πληθυσμούς διαφορετικής εθνικής σύστασης.¹⁸
- **Αφρικανική ή Λατινο-ισπανική καταγωγή.**^{19,20} Άτομα αφρικανικής καταγωγής βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης γλαυκώματος σε σύγκριση με καυκάσιους, ενώ τύφλωση λόγω γλαυκώματος συμβαίνει έξι φορές συχνότερα σε αμερικανούς αφρικανικής από ότι καυκάσιας καταγωγής.^{8,20}
- **Χαμηλό πάχος του κεντρικού κερατοειδούς.** Το πάχος του κεντρικού κερατοειδούς διαφέρει στις διάφορες εθνότητες. Στους Καυκάσιους η μέση τιμή είναι 556 μm, στους Λατίνους 546 μm και στους Αφρικανικής καταγωγής 534 μm.^{21,22} Επιπλέον, επιδρά κατά την τονομέτρηση, οδηγώντας σε ψευδώς ελαττωμένες μετρήσεις ενδοφθάλμιας πίεσης.²³ Ωστόσο, σε πιο πρόσφατες μελέτες έχει βρεθεί ότι αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη γλαυκώματος.²⁴
- **Χαμηλές πιέσεις διηθήσεως στον οφθαλμό.** Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι χαμηλή πίεση διηθήσεως οδηγεί σε διαταραχή της αιματικής ροής στην κεφαλή του οπτικού νεύρου, και συμμετέχει στην πρόκληση γλαυκωματικής βλάβης.^{10,25}
- **Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2.** Η συσχέτιση του σακχαρώδους διαβήτη με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης πρωτοπαθούς γλαυκώματος επιβεβαιώθηκε με μεγάλες μελέτες σε πληθυσμούς διαφορετικής εθνικής προέλευσης.^{26,27} Έχει προταθεί ότι η διαβητική μικροαγγειοπάθεια μπορεί να προκαλεί διαταραχές της αιμάτωσης του οπτικού νεύρου, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη γλαυκωματικών αλλοιώσεων.²⁸

- **Μυωπία.**²⁹⁻³² Πιθανολογείται ότι, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις αξονικής μυωπίας, η έλλειψη επαρκούς σκληρικής στήριξης καθιστά το οπτικό νεύρο πιο ευάλωτο στη γλαυκωματική βλάβη.

Τις τελευταίες 2 δεκαετίες, η εντυπωσιακή ανάπτυξη της γενετικής και των εργαστηριακών τεχνικών έχουν επιτρέψει την έρευνα των γλαυκωμάτων σε μοριακό επίπεδο. Ευρείες μελέτες γενετικής συσχέτισης, σε συνδυασμό με δεδομένα πρωτεϊνικής μετάφρασης και ιστικής έκφρασης έχουν προτείνει ορισμένα γονίδια ως πιθανώς συσχετιζόμενα με το γλαύκωμα.

α) Το γονίδιο της μυοσιλλίνης (MYOC) είναι σωματικό επικρατούν, υπεύθυνο για το 3-4% των περιπτώσεων πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας.³³ Η μυοσιλλίνη είναι μια πρωτεΐνη που φυσιολογικά εκκρίνεται στο υδατοειδές υγρό. Η μετάλλαξη GLN368STOP οδηγεί σε παραγωγή πρωτεΐνης με ανώμαλη δομή, η οποία παραμένει και συσσωρεύεται στο trabeculum, προκαλώντας τοξικότητα, κυτταρική δυσλειτουργία και αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης.³⁴

β) Μεταλλάξεις στο γονίδιο της οπτινευρίνης (OPTN) θεωρείται ότι ευθύνονται για το 1,5% των περιπτώσεων γλαυκώματος φυσιολογικής πίεσης. Η οπτινευρίνη πιστεύεται ότι παίζει νευροπροστατευτικό ρόλο, ενώ η μετάλλαξη GLU50LYS οδηγεί σε μείωση της νευροπροστασίας.³⁵

γ) Μεταλλάξεις σε δύο γονίδια (CAV-1 και CAV-2) τα οποία εκφράζονται στο trabeculum αλλά και στα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς έχουν εντοπιστεί από Φινλανδούς ερευνητές ως πιθανά συσχετιζόμενες με γλαύκωμα ανοικτής γωνίας.³⁶

δ) Πολύ πρόσφατα, δύο γονίδια που εκφράζονται στο ακτινωτό σώμα, το trabecular meshwork, το οπτικό νεύρο, και στον αμφιβληστροειδή, τα GAS7 and TMCO1 βρέθηκε ότι

συσχετίζονται με τη ρύθμιση της ενδοφθάλμιας πίεσης και αλληλεπιδρούν με τα άλλα γνωστά σχετιζόμενα με το γλαύκωμα γονίδια.³⁷

Ωστόσο, μικρό σχετικά ποσοστό των περιπτώσεων γλαυκώματος μπορεί να αποδοθεί στα γνωστά γονίδια. Το δεδομένο αυτό ενισχύει την άποψη ότι πρόκειται για νόσο πολυπαραγοντικής αιτιολογίας, με γενετικό υπόβαθρο και διακριτούς φαινότυπους.

Ιστολογικά, η γλαυκωματική βλάβη φαίνεται ότι αφορά τους νευράξονες των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς. Ο πιθανότερος μηχανισμός είναι η απόπτωση και νέκρωση αυτών των κυττάρων, χωρίς τη μεσολάβηση φλεγμονώδους αντίδρασης. Εκφυλιστικές αλλοιώσεις παρατηρούνται εκτός από την κεφαλή του οπτικού νεύρου και στις οπτικές ταινίες, και τα έξω γονατώδη σώματα. Φαίνεται επίσης ότι προσβάλλεται και ο οπτικός φλοιός στον ινιακό λοβό).^{38,39} Το φαινόμενο αυτό της επέκτασης της νευρικής βλάβης κατά μήκος μιας νευρικής οδού (trans-synaptic degeneration), παρατηρείται επίσης χαρακτηριστικά και σε άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους όπως η νόσος Alzheimer.

Οι παθογενετικοί μηχανισμοί για την ανάπτυξη χρόνιου γλαυκώματος ανοικτής γωνίας δεν έχουν πλήρως τεκμηριωθεί και αποτελούν σταθερά αντικείμενο μελέτης τις τελευταίες δεκαετίες. Ιστορικά έχουν προταθεί η μηχανική και η αγγειακή θεωρία, με την πρώτη να αφορά την επίδραση της ενδοφθάλμιας πίεσης στην κεφαλή του οπτικού νεύρου και τη δεύτερη το ρόλο της ρύθμισης της αιματικής κυκλοφορίας στον οφθαλμό.

Η μηχανική θεωρία διατυπώθηκε για πρώτη φορά από το γερμανό Heinrich Müller, ο οποίος υποστήριξε ότι η αυξημένη ενδοφθάλμια πίεση προκαλεί μηχανικό stress στο ηθμοειδές πέταλο (lamina cribrosa), και στους νευράξονες του οπτικού νεύρου που διέρχονται από αυτό. Την άποψη αυτή ενίσχυσαν παλαιότερες αλλά και πιο πρόσφατες μελέτες στις οποίες αναπαράχθηκε πειραματικό μοντέλο γλαυκωματικής βλάβης σε ζώα, μέσω αύξησης της ενδοφθάλμιας πίεσης. Διαπιστώθηκε σταδιακή διαταραχή της αξονοπλασματικής ροής και

ελαττωματική μεταφορά τροφικών στοιχείων κατά μήκος των νευραξόνων, με αποτέλεσμα την αργή εκφύλιση και νέκρωση των γαγγλιακών κυττάρων.^{40,41,42}

Την αγγειακή θεωρία πρότεινε πρώτος ο Edmund von Jaeger, ο οποίος παρατήρησε ότι οφθαλμοί με κακή αιματική κυκλοφορία στην περιοχή της κεφαλής του οπτικού νεύρου είχαν προδιάθεση για ανάπτυξη γλαυκώματος. Ο αγγειακός παράγοντας έχει έκτοτε μελετηθεί από πολλούς ερευνητές, σύμφωνα με τους οποίους η αυξημένη ενδοφθάλμια πίεση ή άλλοι παράγοντες κινδύνου οδηγούν σε ελάττωση της αιματικής ροής, ισχαιμικές διαταραχές και, τέλος, θάνατο των νευρικών κυττάρων.^{43,44,45} Μάλιστα, πολύ σημαντική θεωρείται η μικροκυκλοφορία στην περιοχή της κεφαλής του οπτικού νεύρου. Η αγγειακή θεωρία δεν προϋποθέτει την ύπαρξη αυξημένης ενδοφθάλμιας πίεσης ως αναγκαία συνθήκη για την ανάπτυξη γλαυκώματος, κάτι που είχε επισημάνει και ο ίδιος ο von Jaeger, μπορεί κατά συνέπεια να ερμηνεύσει και τις περιπτώσεις γλαυκώματος φυσιολογικής πίεσης.

Σε αρκετές μελέτες έχει αναδειχθεί ότι στους γλαυκωματικούς οφθαλμούς υπάρχει ελάττωση της αιματικής ροής.^{46,47,48} Παράγοντες όπως η ενδοθηλίνη-1 που βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε ασθενείς με γλαύκωμα προκαλούν αύξηση του ιστικού ισχαιμικού stress μέσω αγγειοσύσπασης και αύξησης της αγγειακής διαπερατότητας. Επανεπιλημμένοι κύκλοι ισχαιμίας-επαναδιήθησης μπορούν από μόνοι τους να επιφέρουν αύξηση του οξειδωτικού stress στους οφθαλμικούς ιστούς και θάνατο των γαγγλιακών κυττάρων (reperfusion injury).⁴⁹ Αντιοξειδωτικοί παράγοντες όπως το ασκορβικό οξύ, η ανηγμένη γλουταθειόνη που δρουν προστατευτικά έναντι των ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS), βρίσκονται σε αφθονία μεν στο φυσιολογικό οφθαλμό, σε ελαττωμένες δε ποσότητες στους οφθαλμούς με γλαύκωμα.⁵⁰ Οι ρίζες οξυγόνου αντιδρούν με το οξείδιο του αζώτου που παράγεται από τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα και παράγουν ισχυρά οξειδωτικά μόρια όπως το νιτρικό υπεροξείδιο (ONOO⁻), που πιθανώς έχει νευροτοξική δράση.

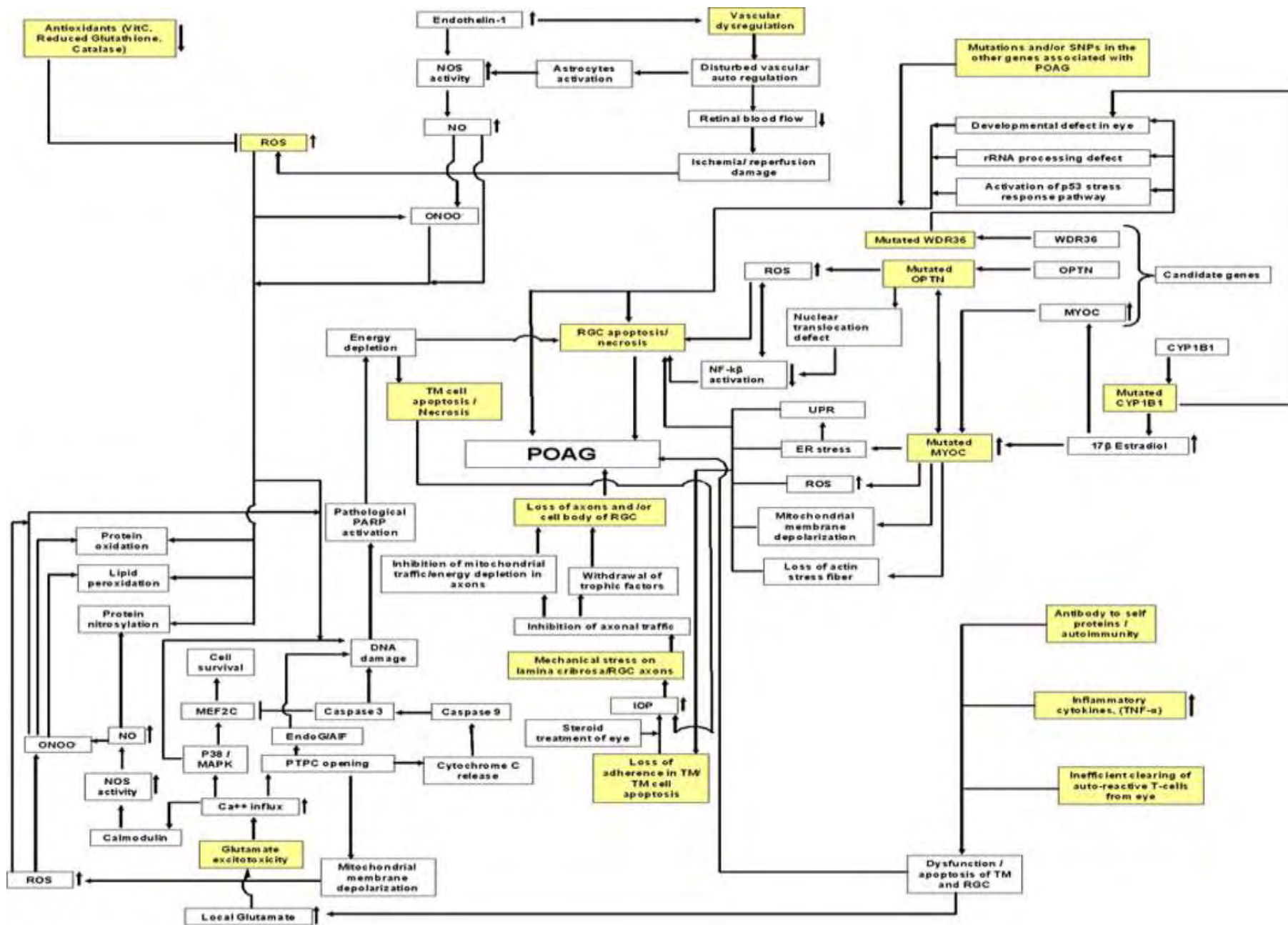
Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) ενέχεται επίσης και ως δεύτερος αγγελιοφόρος (second messenger),⁴⁸ μεταβάλλοντας τη δράση των αντλιών Na⁺ και συμμετέχοντας στην κυτταρική απόπτωση, μηχανισμός που απαντάται επίσης και σε άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως η νόσος Alzheimer.

Η τοξική δράση του γλουταμικού οξέος (glutamate excitotoxicity) έχει επίσης αναδειχθεί τελευταία ως αίτιο εκφύλισης νευρώνων. Το γλουταμικό οξύ είναι ένας ευρέως απαντώμενος νευροδιαβαστής του κεντρικού νευρικού συστήματος. Αυξημένη συγκέντρωση γλουταμικού οξέος στο διασυναπτικό διάστημα και παρατεταμένος ερεθισμός των αντίστοιχων μετασυναπτικών νευρώνων οδηγεί σε αύξηση των ενδοκυττάρων επιπέδων Ca⁺⁺, με αποτέλεσμα αυξημένη διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης σε ένζυμα και παράγοντες όπως οι ενδονουκλεάσες και οι caspsases που ενεργοποιούν μια αλυσίδα αντιδράσεων κυτταρικής απόπτωσης.⁵¹ Σημαντικοί σταθμοί αυτής της διαδικασίας είναι η βλάβη του DNA των μιτοχονδρίων και η ελαττωματική παραγωγή ενέργειας με τη μορφή ATP στο νευρικό κύτταρο, το οποίο, κατά μία έννοια «εξουθενώνεται» εξαιτίας της τοξικότητας της συνεχούς διέγερσης (excitotoxicity). Η υπόθεση της τοξικότητας του γλουταμικού οξέος έχει αποτελέσει τη βάση για τη δοκιμή φαρμάκων-εκλεκτικών ανταγωνιστών του γλουταμικού οξέος όπως η μεμαντίνη (memantine), σε γλαυκωματικούς ασθενείς.

Ο ρόλος των μηχανισμών ανοσίας στην παθογένεια του γλαυκώματος βρίσκεται επίσης υπό έρευνα. Έχει αποδειχθεί ότι μια σειρά αυτοαντισωμάτων όπως αυτά αντί των γλυκοζαμινογλυκανών του οπτικού νεύρου,⁵² αντί των heat-shock πρωτεϊνών,^{53,54} αντί της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης,⁵⁰ αντί της ροδοψίνης,⁵⁵ βρίσκονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις στον ορό ασθενών με γλαύκωμα, και κυρίως αυτών με γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης. Ωστόσο δεν έχει ακόμη αποδειχθεί με τη χρήση πειραματικών μοντέλων αν αυτά τα αυτοαντισώματα έχουν όντως παθογενετικό ρόλο ή αν απλώς αποτελούν φαινόμενα που

επισυμβαίνουν στη διαδικασία της νόσου. Αυτό που φαίνεται αρκετά πιθανό είναι ότι το αυξημένο οξειδωτικό stress μπορεί να προκαλεί παραγωγή πρωτεϊνών που αλλοιώνονται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) και οι οποίες αναγνωρίζονται ως «ξένες» από το ανοσοποιητικό σύστημα, με αποτέλεσμα την δημιουργία αντισωμάτων εναντίον τους, αντισώματα που παρουσιάζουν επιπλέον και διασταυρούμενες αντιδράσεις με τις φυσιολογικές πρωτεΐνες. Αυτήν την υπόθεση ενισχύουν μελέτες που βρίσκουν παθολογικούς πληθυσμούς T-λεμφοκυττάρων σε γλαυκωματικούς οφθαλμούς.^{56,57}

Το παρακάτω σχήμα συνοψίζει το σύνολο των μηχανισμών που ενδεχομένως ενέχονται στην παθογένεια του γλαυκώματος.



Σχήμα 1. Σχηματική απεικόνιση των πιθανών μηχανισμών που συμμετέχουν στην παθογένεια του χρόνιου απλού γλαυκώματος ανοικτής γωνίας: Παρουσιάζεται ένα δίκτυο γεγονότων που περιλαμβάνει πληροφορίες για εμπλεκόμενα γονίδια και βιοχημικές οδούς. Με κίτρινο χρώμα υποσημαίνονται τα κομβικά σημεία του δικτύου, δηλαδή γονιδιακές μεταλλάξεις, SNPs, ελάττωση αντιοξειδωτικών παραγόντων και αυξημένος σχηματισμός ROS, αγγειακή απορρύθμιση (*dysregulation*), *glutamate excitotoxicity*, ανοσολογικές διαταραχές, μηχανικό stress τα οποία τελικά οδηγούν σε δυσλειτουργία των κυττάρων του διηθητικού ηθμού και απώλεια των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς. Συντομογραφίες: ROS reactive oxygen species; NOS, nitric oxide synthetase; UPR, unfolded protein response; NO, nitric oxide; ONOO, peroxy-nitrate species; AIF, apoptosis inducing factor; MEF2C, MADS box transcription enhancer factor 2, polypeptide C; RGC, retinal ganglion cells. (Ray K., Mookherjee S. "Molecular complexity of primary open angle glaucoma: current concepts", *J Genet.*, 2009:88(4):451-67).

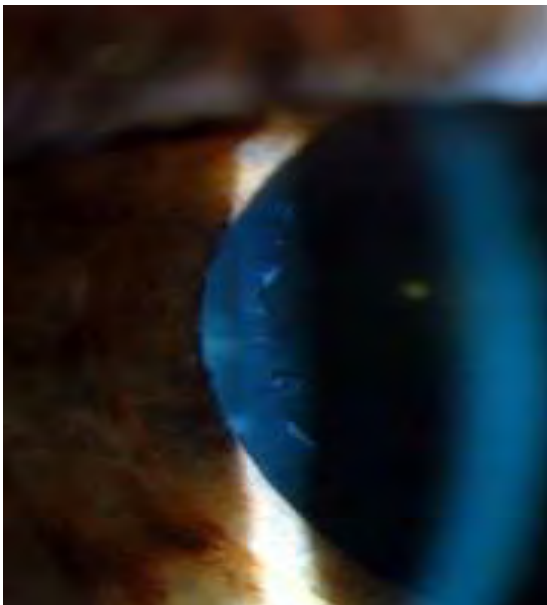
Από τα παραπάνω συνάγεται ότι ένα σύνολο παραγόντων και μοριακών μηχανισμών που περιλαμβάνουν την επίδραση της οφθαλμικής υπερτονίας, τη δυσλειτουργία των μηχανισμών αγγειακής αυτορρύθμισης, (vascular dysregulation), την τοξικότητα του γλουταμικού, και την αύξηση του οξειδωτικού stress συνυπάρχουν και ουσιαστικά συγκλίνουν σε έναν κοινό παρονομαστή αυξημένου φυσιολογικού stress επί των νευρικών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς, τα οποία οδηγούνται σε πρόωρο θάνατο και σε αυτό που αποκαλούμε γλαυκωματική οπτική νευροπάθεια.

2.3. Ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο

Το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο είναι η συχνότερη αιτία δευτεροπαθούς χρόνιου γλαυκώματος ανοικτής γωνίας. Η ονομασία «ψευδοαποφολίδωση» δόθηκε κατ' αντιδιαστολή με την αληθή αποφολίδωση του κρυσταλλοειδούς φακού του οφθαλμού, μια σπάνια κατάσταση κατά την οποία οι επιπολής στιβάδες του περιφακίου (της κάψας που περιβάλλει το φακό) αποπίπτουν, συνεπεία μηχανικού ή θερμικού τραύματος ή φλεγμονής, και κυκλοφορούν στο υδατοειδές υγρό.

Η ψευδοαποφολίδωση περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1917 από τον Φινλανδό Lindberg, και βρίσκεται σε μεγάλη συχνότητα σε σκανδιναβικής καταγωγής άτομα. Πρόκειται για σχετιζόμενη με την ηλικία παραγωγή και εναπόθεση φαιοχρώου κοκκιώδους εξωκυττάριου υλικού που μοιάζει με αμυλοειδές σε πολλούς οφθαλμικούς ιστούς. Συνηθέστερα σημεία εναπόθεσης είναι το πρόσθιο περιφάκιο, οι ίνες της Ζιννείου ζώνης, το ακτινωτό σώμα, το κορικό χείλος της ίριδας, το trabeculum, το πρόσθιο υαλοειδές και ο επιπεφυκότας.

Κατά τη διάγνωση το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο είναι κλινικά ετερόπλευρο στο 50% των περιπτώσεων. Ωστόσο, μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έχουν τεκμηριώσει την ύπαρξη αποφολιδωτικού υλικού και στον «μη προσβεβλημένο» οφθαλμό,^{58,59} επομένως είναι ίσως ορθότερο να θεωρείται αμφοτερόπλευρο με ασύμμετρη κατανομή.



Εικόνα 6: Εικόνα ψευδοαποφολίδωσης στη σχισμοειδή λυχνία. (American Academy of Ophthalmology Web Site: www.aaopt.org).

Το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο είναι η πιο ισχυρά συσχετιζόμενη με το γλαύκωμα, τεκμηριωμένη από μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες, κλινική οντότητα.^{60,61} Η συχνότητά του διαφέρει από χώρα σε χώρα, πράγμα που αποδίδεται σε γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Στην Ελλάδα, σε έρευνα που διεξήχθη σε χωριά της Κρήτης, διαπιστώθηκε ότι σε άτομα άνω των 40 ετών η συχνότητα της ψευδοαποφολίδωσης κυμαίνεται από 11,5 ως 27%.⁶² Παράλληλα, στο 28,8% των ασθενών με ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο διαπιστώθηκε αυξημένη ενδοφθάλμια πίεση, σε σύγκριση με το 5,4% μη ψευδοαποφολιδωτικών. Στην Greece glaucoma study που διεξήχθη επίσης στην Κρήτη διαπιστώθηκε ότι από τους ασθενείς στους οποίους διεγνώσθη γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (9,67% των εξετασθέντων), το 25,8% είχε και ψευδοαποφολίδωση.⁶³ Στη Thessaloniki Eye Study, μια διατμηματική πληθυσμιακή μελέτη χρόνιων οφθαλμικών νόσων που διεξήχθη σε δείγμα 2261 συμμετεχόντων από την ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλονίκης, η επίπτωση της ψευδοαποφολίδωσης ήταν 11,9%. Η επίπτωση γλαυκώματος μεταξύ των ατόμων με ψευδοαποφολίδωση ήταν 15,2%, ενώ μεταξύ των μη αποφολιδωτικών 4,7%.⁶⁴ Σε πληθυσμιακές μελέτες του εξωτερικού βρέθηκαν γλαυκωματικές αλλοιώσεις στο 14% των οφθαλμών με ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο, έναντι 1,7% μη αποφολιδωτικών, πράγμα που σημαίνει ότι το γλαύκωμα εμφανίζεται 5 ως και 8 φορές συχνότερα σε αποφολιδωτικούς οφθαλμούς.^{60, 65} Εξάλλου, έχει υπολογιστεί ότι ο συνολικός κίνδυνος για ανάπτυξη γλαυκώματος σε ψευδοαποφολιδωτικούς οφθαλμούς ανέρχεται σε 5% στα 5 έτη και σε 15% στα 10 έτη, ο δε κίνδυνος για ανάπτυξη γλαυκώματος στο δεύτερο οφθαλμό, μετά από εμφάνιση ετερόπλευρου ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος ανέρχεται σε 50% σε 5 έτη. Μάλιστα το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα θεωρείται ότι έχει χειρότερη πρόγνωση του

πρωτοπαθούς, δεδομένου ότι έχει επιθετικότερη φυσική πορεία και πτωχότερη απόκριση στη συνήθη φαρμακευτική αγωγή.^{66,67}

Η σύσταση του ψευδοαποφολιδωτικού υλικού είναι ακόμη εν πολλοίς άγνωστη.⁶⁵ Έρευνες με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε ιστοχημικές χρώσεις οφθαλμικών ιστών έχουν δείξει ότι οι εναποθέσεις του ψευδοαποφολιδωτικού συνδρόμου αποτελούνται από δύο συστατικά: ινίδια και άμορφο αποφολιδωτικό υλικό.⁶⁸ Τα ινίδια αποτελούνται αφενός από στοιχεία της βασικής μεμβράνης, όπως λαμινίνη και φιμπρονεκτίνη και αφετέρου από στοιχεία του συστήματος ελαστικών ινών, όπως α-ελαστίνη, τοποελαστίνη, αμυλοειδές P και κυρίως φιμπριλλίνη-1.⁶⁹ Η άμορφη θεμέλια ουσία είναι ένα σύνθετο μίγμα γλυκοζαμινογλυκανών και πρωτεογλυκανών, όπως η θειική ηπαράνη, η θειική δερματάνη και το υαλουρονικό οξύ. Η απορρύθμιση του μεταβολισμού των γλυκοζαμινογλυκανών και η υπερπαραγωγή τους φαίνεται να είναι ένα βασικό στοιχείο της παθογένειας του ψευδοαποφολιδωτικού συνδρόμου.⁶⁸

Η παθογένεια του ψευδοαποφολιδωτικού συνδρόμου συνοψίζεται σε τρεις θεωρίες:^{65,68} i) τη θεωρία της βασικής μεμβράνης, σύμφωνα με την οποία το υλικό της ψευδοαποφολίδωσης προέρχεται από διαταραχή του μεταβολισμού της βασικής μεμβράνης – εξ' ου και η ύπαρξη σε αυτό στοιχείων όπως η λαμινίνη ή η φιμπρονεκτίνη. ii) τη θεωρία των ελαστικών μικροϊνιδίων, που βασίζεται στην συμμετοχή των συστατικών του ελαστικού συστήματος, όπως οι ελαστίνες, στη δομή του ψευδοαποφολιδωτικού υλικού. iii) τελευταία, διατυπώνονται και θεωρίες για εμπλοκή κάποιου άγνωστου λοιμογόνου παράγοντα, πιθανώς ιού. Αυτές βασίζονται σε έρευνες σε συζύγους, στους οποίους βρέθηκε αυξημένη συχνότητα ψευδοαποφολίδωσης από το αναμενόμενο. Τη θεωρία αυτή ενισχύουν και περιστατικά που έχουν ανακοινωθεί, ανάπτυξης ψευδοαποφολιδωτικού

συνδρόμου σε νεαρά άτομα που υπεβλήθησαν σε διαμπερή κερατοπλαστική με μόσχευμα από ηλικιωμένους δότες.⁷⁰

Οι ψευδοαποφολιδωτικές εναποθέσεις συχνά συνδέονται με εκφύλιση του ακτινωτού επιθηλίου, των ινών της Ζιννείου ζώνης και, κυρίως, του επιθηλίου της ίριδας. Η προσβολή της ίριδας και η απώλεια των φυσιολογικών κυττάρων του επιθηλίου της ενοχοποιούνται πιθανώς για την πτωχή μυδρίαση αλλά και τη διασπορά χρωστικής που συχνά εμφανίζουν οι ψευδοαποφολιδωτικοί οφθαλμοί. Με εφαρμογή μεθόδων ανοσοϊστοχημείας έχει διαπιστωθεί ότι οι ψευδοαποφολιδωτικές εναποθέσεις μπορούν να σημανθούν με μονοκλωνικά αντισώματα, όπως αυτά έναντι του υδατανθρακικού επιτόπου HNK-1.⁷¹ Ο επίτοπος HNK-1 είναι ένας 3-σουλφογλυκουρονικός υδατάνθρακας με όξινες ομάδες, στον οποίο αποδίδεται η ικανότητα του ψευδοαποφολιδωτικού υλικού να προσκολλάται στις εσωτερικές επιφάνειες του οφθαλμού. Με τη χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι αυτού του επιτόπου έχει εντοπιστεί αποφολιδωτικό υλικό γύρω από τα αιμοφόρα αγγεία της ίριδας, ακόμα και σε υποκλινικές μορφές ψευδοαποφολιδώσης.^{71,72} Η συσσώρευση αυτών των στοιχείων προκαλεί αλλοιώσεις στα αγγεία της ίριδας με διαταραχές της αιματικής ροής και, σε τελικά στάδια, ισχαιμία. Μια μελέτη των αγγείων της ίριδας σε αποφολιδωτικούς οφθαλμούς από τους Konstas και συν. το 1993 με μικροσκόπιο φωτός (light microscopy) έχει δείξει την ύπαρξη του αποφολιδωτικού υλικού σε μεγάλη πυκνότητα στην περιαγγειακή θεμέλια ουσία, ενώ με τη χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης (transmission electron microscopy, TEM) η αγγειοπάθεια διακρίθηκε σε 4 στάδια: Στάδιο 1: εστιακή συσσώρευση υλικού χωρίς κυτταρικές εκφυλίσεις, στάδιο 2: εκφυλιστικές αλλοιώσεις των σθηρικτικών περικυττάρων των αγγείων, στάδιο 3: εκφυλιστικές αλλοιώσεις και των ενδοθηλιακών κυττάρων και στάδιο 4: ψευδοαποφολιδωτικό υλικό το οποίο καταλαμβάνει ένα ακυτταρικό αγγειακό

τοίχωμα (ghost vessel).⁷³ Οι συγγραφείς συμπεραίνουν ότι οι αγγειακές αλλοιώσεις της αποφολίδωσης έχουν ως αφετηρία τα στηρικτικά κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων. Αποτέλεσμα αυτών των αλλοιώσεων και της επακόλουθης ισχαιμίας είναι οι μικρονεοαγγειώσεις, κυρίως στην περιοχή του κορικού χείλους, όπου μπορεί να εμφανιστούν και οπίσθιες συνέχειες και, σπάνια, στη γωνία του προσθίου θαλάμου. Οι συνθήκες ισχαιμίας που αναπτύσσονται στους ψευδοαποφολιδωτικούς οφθαλμούς ίσως αιτιολογούν και τη συσχέτιση του ψευδοαποφολιδωτικού συνδρόμου με την απόφραξη της κεντρικής φλέβας του αμφιβληστροειδούς, η οποία έχει αναφερθεί από αρκετούς ερευνητές. Επίσης, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις συσχέτισής του με την εμφάνιση καταρράκτη.

Ψευδοαποφολιδωτικές εναποθέσεις έχουν εντοπιστεί και σε άλλους, πλην του οφθαλμού, ιστούς, όπως το δέρμα, η καρδιά, οι πνεύμονες, το ήπαρ, η χοληδόχος κύστη, οι μήνιγγες του εγκεφάλου, γεγονός που ίσως υποδηλώνει την ύπαρξη μιας συστηματικής διαταραχής, της οποίας το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο αποτελεί την οφθαλμική εκδήλωση.^{69,74} Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις ότι το υλικό αυτό έχει διαφορές σε σχέση με την ενδο-οφθάλμια ψευδοαποφολίδωση, όπως η μη σήμανσή του με τον επίτοπο HNK-1.^{71,72} Παραμένει αμφισβητούμενο επίσης το κατά πόσο η εντόπιση του υλικού αυτού σχετίζεται με εκφυλιστικές αλλοιώσεις των παραπάνω ιστών.⁷⁵

Μια συσχέτιση που έχει προταθεί τα τελευταία χρόνια είναι αυτή που συνδέει το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο στον οφθαλμό με αγγειακές διαταραχές, όπως στηθάγχη, υπέρταση, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικά επεισόδια, ανεύρυσμα κοιλιακής αορτής.^{76,77} Ασθενείς με ψευδοαποφολίδωση εμφανίζονται επίσης να παρουσιάζουν αυξημένους δείκτες θνησιμότητας.⁷⁸ Δεν έχει όμως σε καμιά περίπτωση αποδειχθεί αιτιολογική σχέση ανάμεσα στην ύπαρξη ψευδοαποφολιδωτικού υλικού και στην εκδήλωση παθολογικών καταστάσεων. Στην Ελλάδα, η ομάδα του Thessaloniki Eye Study

δεν διαπίστωσε συσχέτιση της ψευδοαποφολίδωσης με καμμία συστηματική νόσο.⁶⁴ Ωστόσο, η στενή σχέση ψευδοαποφολίδωσης και διαταραχών της αιματικής ροής αποτελεί ισχυρή ένδειξη για την ύπαρξη κάποιου παθογενετικού μηχανισμού, πιθανώς μέσω ιστικής ισχαιμίας.

2.4. Ψευδοαποφολιδωτικό γλάυκωμα

Η παθολογία της αυξημένης ενδοφθάλμιας πίεσης, η οποία σε τόσο μεγάλη συχνότητα συνδέεται με το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο, παραμένει αμφισβητούμενη.

Δεν είναι κατ' αρχήν σαφές εάν η ψευδοαποφολίδωση πραγματικά προκαλεί το χρόνια γλάυκωμα ή απλά τυχαίνει να συνυπάρχει με αυτό.⁶⁵ Η πιθανότερη ερμηνεία είναι ότι ψευδοαποφολιδωτικό υλικό ή χρωστική προερχόμενη από την ίριδα αποφράσσει τον ηθμό του trabeculum παρεμποδίζοντας την παροχέτευση του υδατοειδούς υγρού.⁷⁹ Έρευνες έχουν αποδείξει την ύπαρξη τέτοιου υλικού στον αγωγό του Schlemm και στους διάμεσους χώρους του σκληροκερατοειδικού ηθμού (trabeculum), ενώ αποφολιδωτικές ίνες εντοπίστηκαν και στα τοιχώματα των οπίσθιων ακτινοειδών αρτηριών.⁴⁶

Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι και το γλάυκωμα κλειστής γωνίας εμφανίζεται συχνά σε ψευδοαποφολιδωτικούς οφθαλμούς.^{65,79} Μάλιστα θεωρείται ότι υπάρχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των οφθαλμών αυτών που προδιαθέτουν στην εμφάνισή του, όπως οι οπίσθιες συνέχειες μεταξύ ίριδας και φακού, και η ατροφία της Ζιννείου ζώνης, που ευνοούν την πρόσθια παρεκτόπιση του ιριδοκορικού διαφράγματος και τη στένωση της γωνίας του προσθίου θαλάμου.

Το 2007 ανακαλύφθηκε η συσχέτιση 2 μεταλλάξεων στο γονίδιο της λυσουλ-οξειδάσης 1 (LOXL1, OMIM153456) με την ανάπτυξη ψευδοαποφολιδωτικού

γλαυκώματος.⁸⁰ Η οικογένεια των γονιδίων λυσυλ-οξειδάσης θεωρείται ότι εμπλέκεται στο σχηματισμό και τη διατήρηση δομών του ελαστικού ιστού, συμμετέχοντας στην ομοιοστάση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, επάγοντας τη διασύνδεση (cross-linking) κολλαγόνου και ελαστικών ινών. Η λυσυλ-οξειδάση λειτουργεί ως ένζυμο διασύνδεσης (cross-linking) μέσω του οποίου επιτυγχάνεται η διακριτή εναπόθεση της ελαστίνης στο χώρο.⁸¹ Επίσης η λυσυλ-οξειδάση ρυθμίζει τον προαγωγέα (promoter) της ελαστίνης.⁸²

Μια πολύ ενδιαφέρουσα παράμετρος είναι ότι αυξημένη δραστηριότητα του ενζύμου έχει βρεθεί σε εγκεφαλικά αγγεία και πλακόμορφες αλλοιώσεις ασθενών με νόσο Alzheimer.⁸³

2.5 Ομοκυστεΐνη

2.5.1. Γενικά στοιχεία

Ανάμεσα στους παράγοντες που βρίσκονται τελευταία υπό διερεύνηση σε σχέση με το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας αλλά και το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο είναι η ομοκυστεΐνη του πλάσματος.

Η ομοκυστεΐνη έχει προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον ως παράγοντας αθηρωμάτωσης, καθώς η υπερομοκυστεϊναιμία έχει αναγνωριστεί ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για καταστάσεις όπως οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και εγκεφαλικά επεισόδια, καταστάσεις που, όπως έχει αναφερθεί συσχετίζονται με την ψευδοαποφολίδωση.^{84,85,86} Επίσης έχει συσχετιστεί με παθήσεις όπως η απόφραξη της κεντρικής φλέβας του αμφιβληστροειδούς, η πρόσθια ισχαιμική οπτική νευροπάθεια και η απόφραξη της κεντρικής αρτηρίας του αμφιβληστροειδούς.^{87,88,89} Είναι επομένως πολύ πιθανό η αθηρωματογόνος δράση της υπερομοκυστεϊναιμίας, να λειτουργεί ως

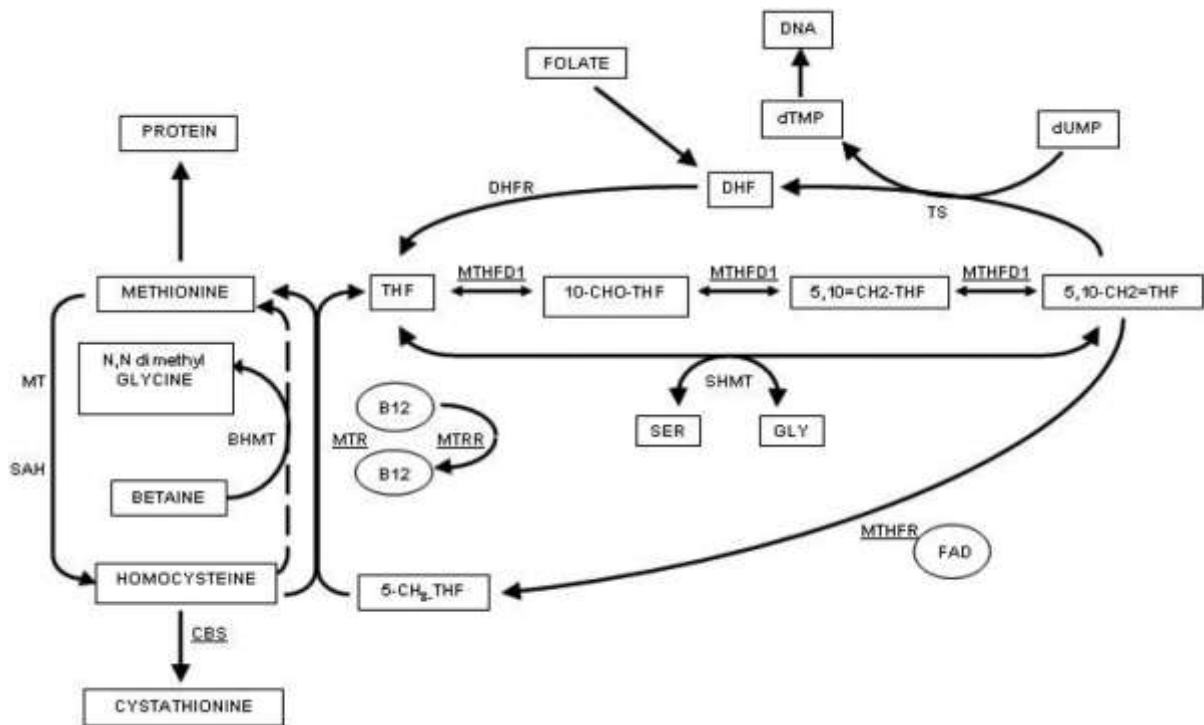
παράγοντας ελάττωσης της αιματικής ροής στην περιοχή του οπτικού νεύρου και, εν συνεχεία, ως παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη γλαυκώματος. Μάλιστα, το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας αποτελεί τον συχνότερο οφθαλμικό παράγοντα κινδύνου για απόφραξη κεντρικής φλέβας αμφιβληστροειδούς.

Πολύ μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζουν πειραματικά ευρήματα που ενοχοποιούν την ομοκυστεΐνη για αγγειακές βλάβες και πρόκληση απόπτωσης (κυτταρικού θανάτου) αμφιβληστροειδικών νευρώνων.⁹⁰

Η ομοκυστεΐνη είναι ένα αμινοξύ το οποίο αποτελεί παράγωγο του μεταβολισμού των πρωτεϊνών και κυκλοφορεί σε ελεύθερη μορφή στο αίμα. Είτε μεθυλιώνεται σε μεθειονίνη, μέσω ενζυμικών οδών που χρησιμοποιούν το φολικό οξύ και τη βιταμίνη B12, είτε φωσφορυλιώνεται σε κυσταθειονίνη μέσω της 5- φωσφορικής πυριδοξάλης.

Τα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα εξαρτώνται από τη διατροφική πρόσληψη συγκεκριμένων βιταμινών που δρουν ως συμπαραγοντες στο μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης, κυρίως του φυλλικού οξέος και των βιταμινών B₆ και B₁₂, και από τη νεφρική αποβολή της ομοκυστεΐνης. Εξαρτώνται επίσης από τη λήψη συγκεκριμένων φαρμάκων ή άλλων παραγόντων που παρεμβαίνουν στις συγκεκριμένες μεταβολικές οδούς.⁹¹

Το παρακάτω σχήμα δείχνει τις οδούς του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης.



Σχήμα 2. Μεταβολισμός ομοκυστεΐνης

Τα προϊόντα του μεταβολισμού εμφανίζονται μέσα σε ορθογώνια, οι συν-παράγοντες με κύκλους, τα ένζυμα σε απλό κείμενο και τα γονίδια υπογραμμισμένα.

Συντομογραφίες: **B12**: vitamin B12, **BHM**: betaine-homocysteine methyltransferase, **CBS**: cystathionine beta synthase, **DHF**: dihydrofolate, **DHFR**: dihydrofolate reductase, **dTMP**: thymidine monophosphate, **dUMP**: uridine monophosphate, **FAD**, flavin adenine dinucleotide, **GLY**: glycine, **MTHFD1**: trifunctional methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, cyclohydrolase, synthase, **MTHFR**: methylenetetrahydrofolate reductase, **MTR**: 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase, **MTRR**: 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase, **MT**: methyl transferase, **SAH**: S-adenosylhomocysteine hydrolase, **SER**: serine, **THF**: tetrahydrofolate, **TS**: thymidylate synthase, **5-CH₃-THF**: 5-methyl tetrahydrofolate, **5,10-CH₂=THF**: methylene

tetrahydrofolate, **5,10=CH₂-THF**: methenyl tetrahydrofolate, **10-CHO-THF**: 10-formyl tetrahydrofolate

(Fan et al, Mol Vis. 2008)

Εξ' άλλου, γενετικές μεταλλάξεις σε γονίδια των ενζύμων που συμμετέχουν στο μεταβολισμό είτε της ομοκυστεΐνης, είτε των βιταμινών αυτών μπορούν να έχουν επίδραση στα επίπεδα της ουσίας στο αίμα. Η καλύτερα μελετημένη μετάλλαξη σε αυτή τη μεταβολική οδό είναι ο πολυμορφισμός C677T (rs1801131) στο γονίδιο του ενζύμου ρεδουκτάση του μεθυλεν-τετραϋδροφολικού (MTHFR) στο χρωμόσωμα 1.^{91,92,93} Το ένζυμο αυτό καταλύει την αναγωγή του 5,10-μεθενυλ-τετραϋδροφολικού σε 5-μεθυλεν-τετραϋδροφολικό. Το 5-μεθυλεν-τετραϋδροφολικό είναι η κύρια μορφή φυλλικού στην κυκλοφορία, η οποία και προσφέρει τη μεθυλο-ομάδα για τη μετατροπή της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη. Ο σημειακός πολυμορφισμός (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) rs1801133 εντοπίζεται στο βραχύ τμήμα του χρωμοσώματος 1 (1p36.22a), στο εξόνιο 8, στη θέση 1:11,856,378 στο γονίδιο του ενζύμου MTHFR. Η αντικατάσταση της κυτοσίνης (C) από την θυμιδίνη (T) στο εξόνιο έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση του αμινοξέος αλανίνη με το αμινοξύ βαλίνη στο μόριο της MTHFR (missense variation), γεγονός που πιστεύεται ότι οδηγεί σε ανεπάρκεια του εν λόγω ενζύμου, μέσω της αύξησης της θερμοευαισθησίας του. Αυτό συνεπάγεται ελάττωση του ρυθμού μετατροπής της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη και επακόλουθη αύξηση της ομοκυστεΐνης στο αίμα. Πρόκειται για έναν σχετικά κοινό πολυμορφισμό, με συχνότητα ετεροζυγωτών που αγγίζει το 38%, και ομοζυγωτών έως 16%. Η συχνότητα του ελάσσονος αλληλίου (Minor Allele Frequency) υπολογίζεται σε 0,31 (www.ncbi.nlm.nih.gov). Η μέση δραστηριότητα του ενζύμου στους ετεροζυγώτες είναι το 65% της φυσιολογικής, η οποία παρατηρείται σε υγιείς ομοζυγώτες (CC), ενώ στους ομοζυγώτες ως προς το έλασσον αλληλίο (γονότυπος TT) η μέση δραστηριότητα ελαττώνεται στο 30% της φυσιολογικής.⁹² Ωστόσο, τα αποτελέσματα πολλών σχετικών ερευνών είναι αμφιλεγόμενα, καθώς η ύπαρξη του συγκεκριμένου πολυμορφισμού δε βρέθηκε να λειτουργεί ως ανεξάρτητος προγνωστικός

παράγοντας αθηρωμάτωσης, παρά μόνο ως παράγοντας που καθορίζει τα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα.^{84,88,89}

Μια δεύτερη περίπτωση που έχει πρόσφατα περιγραφεί, και αφορά επίσης το ένζυμο της MTHFR είναι ο πολυμορφισμός rs1801131, που εντοπίζεται επίσης σε εξόνιο στο χρωμόσωμα 1 (1p36.22a), συγκεκριμένα στη θέση 1:11,854,476. Η αντικατάσταση της αδενίνης από κυτοσίνη στην αλληλουχία, οδηγεί επίσης σε missense variation και σε αντικατάσταση του γλουταμικού οξέος από την αργινίνη στο τελικό μόριο του ενζύμου.

Ο πολυμορφισμός rs8006686 εντοπίζεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 14 και αφορά ιντρόνιο του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο αδφυδρογονάση του μεθυλεν-τετραϋδροφολικού (MTHFD1) της μεταβολικής οδού της ομοκυστεΐνης. Πρόκειται για αντικατάσταση νουκλεοτιδίων, όπου η θυμιδίνη αντικαθίσταται από κυτοσίνη. Σε πρόσφατη μελέτη που δημοσίευσε το Πανεπιστήμιο του Harvard βρέθηκε οριακή συσχέτιση του εν λόγω πολυμορφισμού με το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο και το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα.⁹⁴

Ο μηχανισμός της αθηρωματογόνου δράσης της ομοκυστεΐνης δεν είναι πλήρως γνωστός, φαίνεται όμως να περιλαμβάνει τη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου, όπως το H_2O_2 και το ανιόν $H_2O_2^{-2}$, οι οποίες προκαλούν κυτταρικές βλάβες στο ενδοθήλιο των αγγείων.⁸⁹ Η κυτταρική αυτή διαταραχή σχετίζεται με ελάττωση των επιπέδων του NO, το οποίο φυσιολογικά δρα προστατευτικά για το αγγειακό ενδοθήλιο. Επίσης η ομοκυστεΐνη προάγει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών ινών και την οξειδωση των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, τα οποία αποτελούν κεντρικά γεγονότα στη διαδικασία της αθηρωμάτωσης. Παράλληλα, έχει θρομβωτική δράση, μέσω της ενεργοποίησης των παραγόντων V, X, και XII του συστήματος πήξης, της αναστολής της έκφρασης της θρομβομοδουλίνης, της ελάττωσης της δραστηριότητας του TPA και της

καταστολής της δράσης της ηπαρίνης. Υπάρχουν, τέλος και πειραματικά δεδομένα, ότι η ομοκουστεΐνη μπορεί να ενεργοποιήσει έναν καταρράκτη αντιδράσεων που καταλήγουν σε φλεγμονή και ανάπτυξη αθηρωματικών πλακών.

2.5.2. Ομοκουστεΐνη και γλαύκωμα

Τα αποτελέσματα ερευνών σχετικά με τα επίπεδα ομοκουστεΐνης σε ασθενείς με απλό γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα και ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο είναι αλληλοαντικρουόμενα.

Η πρώτη αναφορά συσχέτισης της ομοκουστεΐνης με το γλαύκωμα έγινε το 2002, όταν οι Bleich και συν. διαπίστωσαν ότι ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα είχαν αυξημένα επίπεδα ομοκουστεΐνης πλάσματος σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.⁹⁵ Το 2003 οι Leibovitch και συν. εξέτασαν τα επίπεδα ομοκουστεΐνης πλάσματος σε 30 ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα και ισάριθμους μάρτυρες και διαπίστωσαν υψηλότερα επίπεδα στους ασθενείς, πράγμα που, κατ' αυτούς εξηγεί μερικώς και την αυξημένη συχνότητα καρδιαγγειακής νόσου στους αποφολιδωτικούς ασθενείς.⁹⁶ Δύο ακόμη σχεδόν σύγχρονες μελέτες με παρόμοια ευρήματα έγιναν από τους Vessani και συν. το 2003, και Ruustjäärni το 2004.^{97,98} Στην πρώτη ελέγχθηκαν ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο, ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα και γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης, και ότι η υπερομοκουστεΐναιμία ήταν συχνότερη στις ομάδες με ψευδοαποφολιδωση. Στη δεύτερη μελέτη σε 36 ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο και ισάριθμους μάρτυρες, έχει βρεθεί ότι η ομοκουστεΐνη του πλάσματος είναι αυξημένη στους ασθενείς, ενώ ενδιαφέρον είναι ότι τα επίπεδά της στο υδατοειδές υγρό δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά στις δύο υπό εξέταση ομάδες. Σε πρόσφατη έρευνα σε Τούρκους ασθενείς με

ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο και ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα δεν αναδείχθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα επίπεδα ομοκυστεΐνης του πλάσματος, αλλά ούτε και στη συχνότητα του πολυμορφισμού C677T.⁹⁹ Αντίθετα οι Altıntaş και συν. επίσης το 2005 διαπίστωσαν αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης σε ασθενείς με αποφολίδωση με ή χωρίς γλαύκωμα.¹⁰⁰ Σε δύο άλλες έρευνες έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης σε ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, σε σχέση με μάρτυρες. Ο πολυμορφισμός C677T έχει βρεθεί σε μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, όχι όμως και σε αυτούς με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, σε σύγκριση με τους μάρτυρες.^{95, 101} Η ίδια ομάδα ερευνητών με σειρά εργασιών διαπιστώνουν αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα και το υδατοειδές υγρό ασθενών με χρόνια και αποφολιδωτικό γλαύκωμα.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Συνδέουν επίσης τα ευρήματα αυτά με ελαττωμένα επίπεδα βιταμινών του συμπλέγματος Β και φυλλικού οξέος στο πλάσμα στις ίδιες κατηγορίες ασθενών σε σύγκριση με τους μάρτυρες.¹⁰³ Οι Cumurcu και συν. βρήκαν επίσης αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης και ελαττωμένα επίπεδα φυλλικού σε ασθενείς με ψευδοαποφολίδωση.¹⁰⁵ Φαίνεται παράλληλα ότι και στα δάκρυα τα επίπεδα ομοκυστεΐνης είναι υψηλότερα σε ασθενείς με αποφολίδωση.¹⁰⁴ Αντίθετα, άλλη ομάδα ερευνητών δεν έχει βρει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος μεταξύ ασθενών με απλό γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και μαρτύρων.¹⁰⁶ Οι Mossbock και συν. (2006) μελέτησαν μεγάλο αριθμό ασθενών με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα σε σχέση με τον πολυμορφισμό C677T και δεν βρήκαν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σύγκριση με την ομάδα των μαρτύρων.¹⁰⁷ Ο πολυμορφισμός βρέθηκε σε συχνότητα 6,9% στους ασθενείς με γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, σε 11,6% στους ασθενείς με αποφολιδωτικό γλαύκωμα και 9,5% στους

μάρτυρες. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι χρειάζεται περαιτέρω μελέτη σε αυτήν την κατεύθυνση.

Σε μια μελέτη σε κορεάτικο πληθυσμό βρέθηκε ισχυρός συσχετισμός του πολυμορφισμού C677T σε νέους ασθενείς με γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης, όχι όμως και σε γηραιότερους ασθενείς, πράγμα που οι συγγραφείς θεωρούν ότι πιθανώς υποδηλώνει ότι ο πολυμορφισμός αποτελεί ένα είδος γενετικού δείκτη της νόσου.¹⁰⁸

Πολύ πρόσφατα, μια ομάδα ερευνητών από το Οφθαλμολογικό Τμήμα του Πανεπιστημίου του Harvard,⁹⁴ εξέτασε δέκα επτά σημειακούς πολυμορφισμούς (SNPs) σε πέντε γονίδια που ενέχονται στο μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης, σε ασθενείς αμιγώς καυκάσιας καταγωγής με ψευδοαποφολίδωση και ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, χωρίς να βρει συσχετισμό για κανέναν πλην του rs8006686 στο γονίδιο MTHFD1.

Μια μελέτη που αφορούσε πληθυσμό πακιστανικής καταγωγής προερχόμενο όμως από δύο διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της χώρας, εξέτασε τη συχνότητα δυο πολυμορφισμών της MTHFR [(677C>T (rs1801133) και A1298>C (rs1801131)] σε ασθενείς με γλαύκωμα ανοικτής και κλειστής γωνίας.¹⁰⁹ Από τα αποτελέσματά της συμπεραίνεται αυξημένη συχνότητα των γονότυπων TT και AC των δύο πολυμορφισμών αντίστοιχα, στους ασθενείς με καταγωγή από τη μία μόνο γεωγραφική περιοχή, που έπασχαν από με γλαύκωμα κλειστής γωνίας και όχι σε αυτούς με γλαύκωμα ανοικτής γωνίας. Η ίδια ομάδα ασθενών εμφάνιζε και υψηλότερες τιμές ομοκυστεΐνης πλάσματος. Ωστόσο, στην έρευνα αυτή δεν γίνεται αναφορά στην αποφολίδωση.

Οι ίδιοι πολυμορφισμοί της MTHFR [(677C>T (rs1801133) και A1298>C (rs1801131)] εξετασθηκαν επίσης σε ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας σε μία μελέτη από την Ιαπωνία και μία από τη Σουηδία, χωρίς να επιβεβαιωθεί στατιστικώς σημαντική συσχέτιση.^{110,111}

Οι Αυστραλοί Clement και συν. συνέκριναν τα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος ασθενών με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα και γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης με μαρτύρων και βρήκαν ότι ήταν αυξημένα σε πάσχοντες όλων των τύπων γλαυκώματος. Δεν διαπίστωσαν συσχέτιση με το γονότυπο 667C>T με τα βιοχημικά αποτελέσματα, ούτε με την ύπαρξη ή μη γλαυκώματος.¹¹²

Το 2011, μια ερευνητική ομάδα από το πανεπιστήμιο της Ρώμης ανέφερε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος σε ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα σε σύγκριση με μάρτυρες αλλά και ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα χωρίς ψευδοαποφολιδωση.¹¹³

Δύο πολύ πρόσφατες μετα-αναλύσεις που συμπυκνώνουν στοιχεία από τις σχετικές προαναφερθείσες μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η υπερομοκυστεϊναιμία, όχι όμως και ο γονότυπος 677C>T συσχετίζεται τόσο με το απλό γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, όσο και με το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα.^{114,115}

Κεφάλαιο 3. Ειδικό μέρος

3.1. Σκοπός της μελέτης

Όπως προκύπτει από τις προαναφερθείσες έρευνες, υπάρχουν ενδείξεις πιθανής συμμετοχής της υπερομοκυστεϊναιμίας στην παθογένεση του πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας, του ψευδοαποφολιδωτικού συνδρόμου και του ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος,^{95,97,98,101,113} κάτι όμως που δεν αποτελεί σταθερό εύρημα σε όλες τις μελέτες.^{99,109}

Οι περισσότερες από τις έρευνες αυτές, ακόμα και οι μετα-αναλύσεις που ακολούθησαν, αφορούσαν ομάδες με μικρό αριθμό ασθενών, από χώρες με συγκριτικά χαμηλή επίπτωση ψευδοαποφολίδωσης.

Οπωσδήποτε λοιπόν ήταν ενδιαφέρον να μελετηθεί εκτενέστερα ο ρόλος της ομοκυστεΐνης σε βιοχημικό και γενετικό επίπεδο για πρώτη φορά, σε ελληνικό πληθυσμό γλαυκωματικών ασθενών, δεδομένου μάλιστα ότι η ψευδοαποφολίδωση είναι πολύ κοινό εύρημα και το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα αποτελεί το δεύτερο σε συχνότητα τύπο γλαυκώματος στην Ελλάδα.

Η παρούσα έρευνα αποτελεί μια προοπτική μελέτη ασθενών-μαρτύρων. Πρώτος σκοπός της ήταν η μέτρηση των επιπέδων ομοκυστεΐνης πλάσματος ασθενών με χρόνια απλό γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα και η σύγκρισή τους με τα επίπεδα υγιών μαρτύρων. Από τα αποτελέσματα επιχειρείται να διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση της υπερομοκυστεϊναιμίας με τις παραπάνω νοσολογικές οντότητες και να διαπιστωθεί αν αποτελεί κοινό εύρημα ή στοιχείο που χαρακτηρίζει μια κατηγορία ασθενών (π.χ. αυτούς με αποφολιδωτικούς οφθαλμούς). Τα ευρήματα αυτά μπορεί να οδηγήσουν σε κάποιες υποθέσεις σχετικά με την παθογένεια του συνδρόμου ψευδοαποφολίδωσης ή τη συσχέτισή του με το γλαύκωμα. Έτσι, ενδέχεται η ανίχνευση υψηλών επιπέδων ομοκυστεΐνης στο αίμα να αποτελεί ένδειξη για αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης γλαυκώματος.

Δεύτερο σκοπό αποτελεί η διερεύνηση σε μοριακό επίπεδο τη συχνότητας των τριών προαναφερθέντων πολυμορφισμών του γονιδίου της ομοκυστεΐνης (rs1801131, rs1801133 και rs8006686) σε ασθενείς των παραπάνω κατηγοριών και σε υγιείς και πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού με την εμφάνιση γλαυκώματος, αλλά και με τα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος στις υπό εξέταση ομάδες.

3.2. Υλικό και μέθοδος

3.2.1. Επιλογή ασθενών

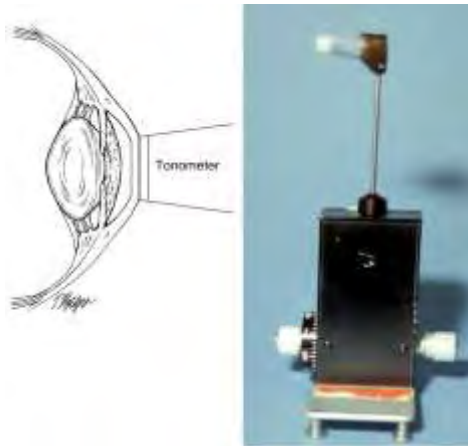
Η μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι, με την έγκριση της αρμόδιας επιτροπής δεοντολογίας. Όλοι οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν και έδωσαν τη συγκατάθεσή τους πριν συμπεριληφθούν σε αυτήν.

Υλικό αποτέλεσαν πάσχοντες από πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, οι οποίοι εντοπίστηκαν μεταξύ των ασθενών που παρακολουθούνται στα Εξωτερικά Ιατρεία και το ειδικό Ιατρείο Γλαυκώματος της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας.

Για όλα τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ελήφθη και καταγράφηκε λεπτομερές ιατρικό και οφθαλμικό ιστορικό, και η φαρμακευτική αγωγή που ακολουθούσαν. Ακολούθησε πλήρης οφθαλμολογική εξέταση που περιελάμβανε εξέταση στη σχισμοειδή λυχνία, τονομέτρηση (μέτρηση της ενδοφθάλμιας πίεσης), γωνιοσκοπία (επισκόπηση της γωνίας του προσθίου θαλάμου με τη βοήθεια ειδικών κατόπτρων) και βυθοσκόπηση (εξέταση του οπισθίου ημιμορίου του οφθαλμού, συμπεριλαμβανομένου και του οπτικού νεύρου).

Ως κριτήρια για τη διάγνωση του πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας χρησιμοποιήθηκαν αυτά που περιλαμβάνονται στις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Γλαυκώματος, ήτοι: i) ενδοφθάλμια πίεση >22 mmHg, σε τρεις τουλάχιστον μετρήσεις, ληφθείσες σε διαφορετικές ώρες της ίδιας ημέρας ή διαφορετικές ημέρες, ii) ανοικτή γωνία του προσθίου θαλάμου, τεκμηριωμένη με γωνιοσκοπία και iii) γλαυκωματικές αλλοιώσεις του οπτικού νεύρου ή/και χαρακτηριστικές αλλοιώσεις των οπτικών πεδίων.⁶

Η μέτρηση της ενδοφθάλμιας πίεσης πραγματοποιήθηκε με το τονόμετρο επιπέδωσης τύπου Goldmann (Goldmann AT 900®, Haag-Streit International), το οποίο αποτελεί το σύγχρονο gold standard από άποψη αξιοπιστίας(Εικόνα 7).^{1,6}



Εικόνα 7: Τονόμετρο τύπου Goldmann. Αριστερά η αρχή της τονομέτρησης επιπέδωσης. Υπολογίζεται η πίεση επιπέδωσης του κερατοειδούς, η οποία κατά σύμβαση θεωρείται ίση με την ενδοφθάλμια πίεση. (hopkinsmedicine.org)

Χαρακτηριστικές αλλοιώσεις του οπτικού νεύρου, οι οποίες διαπιστώθηκαν με κλινική εξέταση των ασθενών (βιομικροσκόπηση), θεωρήθηκαν οι παρακάτω: α) λέπτυνση της δακτυλιοειδούς επιφάνειας ή νευροαμφιβληστροειδικού χείλους της θηλής (neuroretinal rim), β) αύξηση του λόγου της διαμέτρου κοίλανσης προς τη διάμετρο της οπτικής θηλής (cup/disc ratio, C/D) ο οποίος φυσιολογικά είναι ως 0,3 κατά τον κάθετο άξονα, γ) απώλεια, τμηματική ή διάχυτη της στιβάδας των νευρικών ινών του

αμφιβληστροειδούς, (RNFL), (εικόνα 3) δ) αλλοιώσεις της περιθηλαϊας περιοχής, ε) φλογοειδείς αιμορραγίες στην οπτική θηλή.

Η εξέταση των κεντρικών οπτικών πεδίων έγινε με τη χρήση της συσκευής αυτοματοποιημένης περιμετρίας Humphrey Field Analyzer (HFA II I, Carl Zeiss Meditec, Germany) στο πρόγραμμα 24-2 και του στατιστικού προγράμματος Swedish Interactive Threshold Algorithm (SITA). Τυπικές γλαυκωματικές αλλοιώσεις θεωρήθηκαν τα παρακεντρικά σκοτώματα στην περιοχή μεταξύ 10^0 και 20^0 (περιοχή Bjerrum), το ρινικό βήμα του Roenne, η διεύρυνση της τυφλής κηλίδας, τα τοξοειδή σκοτώματα (ανώτερα ή κατώτερα) και τα δακτυλοειδή σκοτώματα, που αποτελούν εξέλιξη των προηγούμενων, ενώ μπορεί να υπάρχουν και πιο εκτεταμένα ελλείμματα του οπτικού πεδίου (Σχήμα 4).

Απαραίτητη προϋπόθεση ήταν επίσης η ανοικτή γωνία προσθίου θαλάμου, όπως αυτή εκτιμήθηκε με γωνιοσκοπία (Εικόνα 2). Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της έμμεσης γωνιοσκοπίας, με τη χρήση της τριεδρικής υάλου τύπου Goldmann.

Η ύπαρξη ψευδοαποφολίδωσης διαπιστώθηκε με εξέταση στη σχισμοειδή λυχνία υπό μυδρίαση, όπου ήταν ορατό το ψευδοαποφολιδωτικό υλικό στο πρόσθιο περιφάκιο και το κορικό χείλος (εικόνα 6). Η διάγνωση του ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος ετίθετο όταν συνυπήρχαν τα κριτήρια του γλαυκώματος ανοικτής γωνίας, όπως αυτά αναφέρθηκαν παραπάνω.

Οι μάρτυρες επιλέχθηκαν ανάμεσα στους ασθενείς του γενικού Εξωτερικού ιατρείου της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, ώστε να αντιστοιχούν με τους πάσχοντες ως προς την ηλικία και το φύλο. Όλοι οι μάρτυρες παρουσίαζαν κατά την κλινική εξέταση ενδοφθάλμια πίεση <21 mmHg, απουσία ψευδοαποφολιδωτικών εναποθέσεων στον πρόσθιο θάλαμο και φυσιολογικό οπτικό νεύρο, χωρίς αλλοιώσεις στα οπτικά πεδία.

Κριτήρια αποκλεισμού, τόσο για τους ασθενείς όσο και για τους μάρτυρες, αποτελούσαν: α) Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα ομοκυστεΐνης, όπως η λήψη συγκεκριμένων φαρμάκων ή συμπληρωμάτων διατροφής που περιέχουν βιταμίνες B₆, B₁₂ ή φυλλικό οξύ. Φάρμακα η λήψη των οποίων έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι επηρεάζει τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης είναι η μεθοτρεξάτη, η καρβαμαζεπίνη, η φαινυντοΐνη, οι φιμπράτες και η τριμεθοπρίμη (Westphal et al., 2001).¹¹⁶

β) Παθολογικές καταστάσεις όπως νεφρική ανεπάρκεια, κακοήθης αναιμία, υψηλή κατανάλωση αλκοόλ και κακή διατροφή.^{117,118} Η διατροφική κατάσταση των ασθενών αξιολογήθηκε με οδηγό τη βαθμολογία στην κλίμακα Subjective Global Nutritional Assessment (SGNA) κατά Detsky et al., ώστε να πιστοποιείται η καλή κατάσταση των ασθενών από πλευράς θρέψης.^{119,120} Ασθενείς οι οποίοι στη συγκεκριμένη κλίμακα χαρακτηρίστηκαν χαμηλότερα του «καλή κατάσταση θρέψης» αποκλείστηκαν. γ) Επίσης αποκλείστηκαν από τη μελέτη ασθενείς με ιστορικό προηγούμενης αμφοτερόπλευρης επέμβασης καταρράκτη, ιστορικό οφθαλμικής φλεγμονής, ασθενείς με υψηλή μυωπία, ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς, μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια ή διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια. δ) Άτομα με οφθαλμική υπέρταση ή ψευδοαποφολίδωση, χωρίς ενδείξεις γλαυκωματικών βλαβών αποκλείστηκαν επίσης, ώστε να διατηρηθεί κατά το δυνατόν η φαινοτυπική καθαρότητα των ομάδων.

Στις δύο ομάδες ασθενών, μετά από τεκμηρίωση της κάθε διάγνωσης, όπως και στους μάρτυρες, έγινε έλεγχος των επιπέδων ομοκυστεΐνης αίματος και της συχνότητας των τριών πολυμορφισμών των γονιδίων των MTHFR και MTHFD1.

3.2.2. Εργαστηριακό μέρος

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων ολικής ομοκυστεΐνης, ελήφθησαν από νήστες ασθενείς και μάρτυρες δείγματα αίματος όγκου 2ml σε σωληνάρια με αντιπηκτικό EDTA, τα οποία φυγοκεντρήθηκαν μέσα σε διάστημα συντομότερο των 20 min στις 3000g για 10 min και το υπερκείμενο τοποθετήθηκε αμέσως σε πλαστικά σωληνάρια Eppendorf και φυλάχθηκε σε θερμοκρασία -20°C ως την ανάλυσή του. Ο έλεγχος των επιπέδων ομοκυστεΐνης έγινε με ανοσοϊστοχημική μέθοδο (ELISA)¹²¹ στο Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Χρησιμοποιήθηκε το διαθέσιμο στο εμπόριο Axis® Homocysteine Enzyme Immunoassay (EIA) kit, (Axis-Shield, Dundee, Scotland, U.K.). Τα ανώτερα φυσιολογικά επίπεδα ομοκυστεΐνης κυμαίνονται συνήθως μεταξύ 9 και 15 $\mu\text{mol/l}$. Τιμές άνω των 15 $\mu\text{mol/l}$ θέτουν τη διάγνωση της υπερομοκυστεϊναιμίας, ωστόσο, σε άτομα ηλικίας άνω των 65 ετών το όριο αυτό μπορεί να ανέρχεται στα 20 $\mu\text{mol/l}$.

Επίσης ελήφθησαν δείγματα αίματος όγκου 6-9 ml, τα οποία συντηρήθηκαν σε θερμοκρασία -20°C , για τον έλεγχο των γενετικών πολυμορφισμών. Από τα εμπύρρινα κύτταρα (λευκοκύτταρα) του ολικού αίματος έγινε η απομόνωση του γενομικού DNA με τη μέθοδο της εξαλάτωσης με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμης συσκευασίας (Qiagen, Valencia, CA), σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή.¹²² Το καθαρό DNA που θα απομονώθηκε, φυλάχθηκε σε θερμοκρασία -20°C , έως την περαιτέρω ανάλυσή του.

Η ταυτοποίηση του γονιδιώματος (genotyping) βασίσθηκε στη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR). Με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται ο πολλαπλασιασμός ενός συγκεκριμένου τμήματος του DNA που βρίσκεται ανάμεσα σε δυο περιοχές με γνωστή αλληλουχία, με τη χρήση καταλλήλων ζευγών εκκινητών (primers) και ελεύθερων δεσοξυνουκλεοτιδίων. Το DNA υφίσταται

αλληλάλληλους κύκλους αποδιάταξης –σύζευξης των εκκινητών –επέκτασης των εκκινητών, στο τέλος των οποίων πραγματοποιείται στάδιο σταθεροποίησης των προϊόντων της PCR. Τελικά παράγονται χιλιάδες «αντίγραφα» του ζητούμενου τμήματος DNA. Η εκτίμηση της καθαρότητας και της ποσοτικής επάρκειας των προϊόντων της PCR (PCR products) γίνεται με ηλεκτροφόρηση αυτών σε γέλη αγαρόζης. Κατά την ηλεκτροφόρηση γίνεται διαχωρισμός των τμημάτων DNA που έχουν προκύψει από την PCR αναλόγως του μεγέθους των. Τα τμήματα αυτά σημαίνονται με φθορίζουσα ουσία (βρωμιούχο αιθίδιο), ώστε να γίνονται ορατά κατά τη φωτογράφιση. Εν συνεχεία ακολουθεί sequencing ή πέψη με ένζυμα περιορισμού.

Μια παραλλαγή της μεθόδου, η οποία επιλέχθηκε για τη μελέτη αυτή, είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου ή Real-Time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA). Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει επίσης συγκεκριμένους κύκλους αποδιάταξης – σύζευξης – επέκτασης, και εν συνεχεία το προϊόν της PCR σημαίνεται με ειδική φθορίζουσα χρωστική (blue dye) με την οποία εντοπίζονται οι πολυμορφισμοί με ανίχνευση του φθορισμού.

Για τους τρεις υπό εξέταση πολυμορφισμούς χρησιμοποιήθηκαν ήδη υπάρχουσες διαθέσιμες στο εμπόριο δοκιμασίες (Custom TaqMan SNP Genotyping Assays). Στην αντίδραση χρησιμοποιήθηκε μίγμα συνολικού όγκου 15 μL , το οποίο αποτελείτο από 7,5 μL TaqMan Genotyping Master Mix 2X, 0,3 μL μίγμα εκκινητών 40X, 7,2 μL ddH₂O και 10 ngr ξηρό DNA. Στη συνέχεια παρατίθενται τα στοιχεία των δοκιμασιών και των εκκινητών, όπως δόθηκαν από την Applied Biosystems.

1) rs1801131

*** AB Assay Information File

*** Version 03.01.00

*** Number of Assay Information Fields 1

*** Begin Assay Information

Customer Name	Order Number	Ship Date	Delivery Number	Part Number
Product Type	Assay ID	Lot Number	Plate Type	Plate ID
Vial ID	Well Location	Assay Mix Conc.	Forward Primer Name	Forward Primer Seq.
Forward Primer Conc.	Reporter 1 Name	Reporter 1 Dye	Reporter 1 Sequence	Reporter 1 Conc.
Reporter 1 Quencher	Reporter 2 Name	Reporter 2 Dye	Reporter 2 Sequence	Reporter 2 Conc.
Reporter 2 Quencher	Reporter 2 Quencher	Context Sequence	Design	Strand Category
Category ID	Group	Group ID	Gene Symbol	Gene Name
Chromosome	Species	Target Exons	NCBI Gene Reference	NCBI SNP Reference
Medline Reference	Celera ID	Cytogenetic Band	SNP Type	Minor Allele Freq - Caucasian
Minor Allele Freq - Japanese	Minor Allele Freq - Chinese	Celera Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	Location on Celera Assembly
Location on NCBI Assembly				

University of Utah	186668836	26-SEP-2011	883508129	4351379	TaqMan®
SNP Genotyping Assays, Human, SM	C___850486_20	P110920-003A02	96-position tube rack v1	186668836_3	Matrix Tube
	0118062065	B01	40x	C___850486_20_F	36
	C___850486_20_R	36	C___850486_20_V	VIC	8
	NFQ	C___850486_20_M	FAM	8	NFQ
AAGAACGAAGACTTCAAAGACACTT[G/T]CTTCACTGGTCAGCTCCTCCCC					
CCA	Forward	Chromosome 1	Chr1	D1S2667-D1S507	D1S2667
	MTHFR	methylenetetrahydrofolate reductase (NAD(P)H)		1	Homo
sapiens	rs1801131	hCV850486	1p36.22a		
	Intergenic/Unknown			37	11854476

1) rs1801133

*** AB Assay Information File

*** Version 03.01.00

*** Number of Assay Information Fields 1

*** Begin Assay Information

Customer Name	Order Number	Ship Date	Delivery Number	Part Number	
Product Type	Assay ID	Lot Number	Plate Type	Plate ID	Vial Type
Vial ID	Well Location	Assay Mix Conc.	Forward Primer Name	Forward Primer Seq.	Forward Primer Conc.
Reporter 1 Name	Reporter 1 Dye	Reporter 1 Sequence	Reporter 1	Reporter 1	Reporter 1
Reporter 1 Quencher	Reporter 2 Name	Reporter 2 Dye	Reporter 2	Reporter 2	Reporter 2
Reporter 2 Conc.	Reporter 2 Quencher	Context Sequence	Design	Design	Design
Strand Category	Category ID	Group Group ID	Gene Symbol	Gene Name	Gene Name
Chromosome	Species	Target Exons	NCBI Gene Reference	NCBI SNP Reference	NCBI SNP Reference
Medline Reference	Celera ID	Cytogenetic Band	SNP Type	SNP Type	SNP Type
Minor Allele Freq - Caucasian	Minor Allele Freq - African-American	Minor Allele Freq - Japanese	Minor Allele Freq - Chinese	Celera Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number
Location on Celera Assembly	NCBI Assembly Build Number	Location on NCBI Assembly	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number

University of Utah 186668836 21-SEP-2011 883497349 4351379 TaqMan®
SNP Genotyping Assays, Human, SM C__1202883_20 P110915-001D12 96-
position tube rack v1 186668836_1 Matrix Tube 0117269627 F01 40x
C__1202883_20_F 36 C__1202883_20_R 36
C__1202883_20_V VIC 8 NFQ C__1202883_20_M FAM
8 NFQ
GAAAAGCTGCGTGATGATGAAATCG[G/A]CTCCCGCAGACACCTTCTCCTT
CAA Forward Chromosome 1 Chr1 D1S2667-D1S507 D1S2667
CLCN6,MTHFR chloride channel 6, methylenetetrahydrofolate reductase
(NAD(P)H) 1 Homo sapiens rs1801133 hCV1202883
1p36.22a Intergenic/Unknown 37
11856378

*** End Assay Information

3) rs8006686

*** AB Assay Information File

*** Version 03.01.00

*** Number of Assay Information Fields 1

*** Begin Assay Information

Customer Name	Order Number	Ship Date	Delivery Number	Part Number	
Product Type	Assay ID	Lot Number	Plate Type	Plate ID	Vial Type
Vial ID	Well Location	Assay Mix Conc.	Forward Primer Name	Forward Primer Seq.	Forward Primer Conc.
Reporter 1 Name	Reporter 1 Dye	Reporter 1 Sequence	Reporter 1	Reporter 1	Reporter 1
Reporter 1 Quencher	Reporter 2 Name	Reporter 2 Dye	Reporter 2	Reporter 2	Reporter 2
Reporter 2 Conc.	Reporter 2 Quencher	Context Sequence	Design	Design	Design
Strand Category	Category ID	Group Group ID	Gene Symbol	Gene Name	Gene Name
Chromosome	Species	Target Exons	NCBI Gene Reference	NCBI SNP Reference	NCBI SNP Reference
Medline Reference	Celera ID	Cytogenetic Band	SNP Type	SNP Type	SNP Type
Minor Allele Freq - Caucasian	Minor Allele Freq - African-American	Minor Allele Freq - Japanese	Minor Allele Freq - Chinese	Celera Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number
Location on Celera Assembly	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number
Location on NCBI Assembly	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number	NCBI Assembly Build Number
University of Utah	186699510	08-NOV-2011	883616369	4351379	TaqMan®
SNP Genotyping Assays, Human, SM	C__32395448_10	P111031-001C03	96-	position tube rack v1	186699510_1
Matrix Tube	0117634053	A01	40x	C__32395448_10_F	36
C__32395448_10_R	36	C__32395448_10_R	36	C__32395448_10_V	VIC
8	NFQ	8	NFQ	C__32395448_10_M	FAM
8	NFQ	8	NFQ	C__32395448_10_M	FAM
AGTCTTTTGCTGTGTGCTGGTTTGA[C/T]TGAAATATATGGAGAAAATTTGG					
CT	Reverse	Chromosome 14	Chr14	D14S274-D14S1050	D14S274
MTHFD1	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1, methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase, formyltetrahydrofolate synthetase				
Homo sapiens	NM_005956.3	rs8006686	hCV32395448	14	14
14q23.3a	Intron		37	64868671	64868671

*** End Assay Information

Ακολούθησε η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης των δειγμάτων σε συσκευές κυκλικής θέρμανσης (thermocyclers) υπό τις παρακάτω συνθήκες.

Πίνακας 1. Συνθήκες αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος	Κύκλοι
95	15 min	1
95	15 sec	40
60	1 min	
4	∞	

Εν συνεχεία μετρήθηκε ο φθορισμός στο σύστημα ABI 7500 Real-Time PCR System και ταυτοποιήθηκαν οι γονότυποι μετά από ανάλυση με τη χρήση του συνοδού λειτουργικού προγράμματος (software).

3.2.3. Στατιστική ανάλυση

Για κάθε έναν από τους πολυμορφισμούς ελέγχθηκε η απόκλιση από την ισορροπία Hardy-Weinberg [Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)] με τη χρήση της δοκιμασίας χ^2 στον πληθυσμό ελέγχου. Οι συσχετίσεις ελέγχθηκαν με τη χρήση του ελάσσονος αλληλίου, όπου ως έλασσον αλλήλιο ορίστηκε αυτό που απαντήθηκε σε χαμηλότερη συχνότητα στον πληθυσμό ελέγχου. Οι συσχετίσεις των αλληλίων και των ανεξάρτητων μεταβλητών με το γλαύκωμα πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο της λογιστικής παλινδρόμησης (logistic regression) με τη χρήση του ειδικού λογισμικού στατιστικής ανάλυσης SAS (v9.1, Cary, North Carolina). Η ηλικία και τα επίπεδα ομοκυστεΐνης θεωρήθηκαν ως συνεχείς και το φύλο ως διχότομη μεταβλητή, κατά τον έλεγχο συσχέτισής τους με το γλαύκωμα. Πραγματοποιήθηκαν ξεχωριστές αναλύσεις υιοθετώντας κάθε φορά διαφορετικά υποθετικά γενετικά μοντέλα [προσαυξητικό, επικρατές και υπολειπόμενο (additive, dominant, and recessive genetic models)] για την συσχέτιση των αλληλίων (allelic association). Ο έλεγχος αλληλεπίδρασης γενετικών πολυμορφισμών και επιπέδων ομοκυστεΐνης πραγματοποιήθηκε με την προσθήκη του αντίστοιχου όρου αλληλεπίδρασης στο λογιστικό μοντέλο που εμπεριείχε και τις δύο αυτές μεταβλητές. Η ύπαρξη linkage disequilibrium (LD) (r^2) μεταξύ των πολυμορφισμών του ίδιου χρωμοσώματος (rs1801133 και rs1801131) διαπιστώθηκε με τη χρήση του προγράμματος Haploview (<http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview/>).

Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα

Συνολικά 291 άτομα που ικανοποιούσαν τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού συμπεριλήφθησαν στη μελέτη. Η ομάδα των ασθενών (156 ασθενείς) αποτελείτο από δύο υποομάδες. Η πρώτη αφορούσε 76 ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και η δεύτερη 80 ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα. Η ομάδα ελέγχου περιελάμβανε 135 μάρτυρες.

Τα χαρακτηριστικά των τριών υπό εξέταση ομάδων περιγράφονται στον πίνακα 2. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν $71,3 \pm 8,6$ για την ομάδα ελέγχου, $71,2 \pm 9,8$ για την ομάδα του χρόνιου απλού γλαυκώματος και $75,0 \pm 6,6$ για την ομάδα του ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος. Η μέση ηλικία, όπως επίσης και η αναλογία ανδρών/γυναικών ήταν παρόμοια μεταξύ των τριών ομάδων και δεν παρουσίαζαν στατιστικώς σημαντική διαφορά (πίνακας 3).

Η μέση τιμή ομοκυστεΐνης ήταν $16,3 \pm 5,7$ για τους μάρτυρες, $16,5 \pm 6,1$ για την ομάδα του χρόνιου απλού γλαυκώματος και $17,4 \pm 6,3$ για την ομάδα του ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος. Συνολικά τα επίπεδα ομοκυστεΐνης ήταν υψηλότερα στους ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες, και η διαφορά αυτή ήταν πιο ευρεία στην ομάδα των ασθενών με ψευδοαποφολιδωση. Ωστόσο η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικώς σημαντική (πίνακας 3). Η ηλικία ήταν ένας παράγοντας που σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος ($p=0,0021$, πίνακας 3).

Στο Παράρτημα III παρατίθενται αναλυτικά όλα τα αποτελέσματα των real-time PCR για τον κάθε πολυμορφισμό, όπως δόθηκαν από το software της Applied Biosystems.

Οι δύο πολυμορφισμοί του γονιδίου της MTHFR (rs1801133 και rs1801131) και ο πολυμορφισμός του γονιδίου MTHFD1 (rs8006686) βρίσκονταν σε ισορροπία Hardy – Weinberg (HWE). Όπως φαίνεται στο σχήμα 3, οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο της MTHFR δεν ευρέθησαν σε υψηλό LD στην ομάδα ελέγχου ($r^2=0,34$), και το ίδιο συνέβη και σε κάθε μια ομάδα ασθενών. Τα ελάσσονα αλληλία αυτών των πολυμορφισμών έδειξαν προστατευτική τάση για το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ενώ αντίθετα αυξημένο κίνδυνο για το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, ωστόσο οι συσχετίσεις αυτές δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές ($p>0,05$, πίνακας 4). Εξάλλου, το έλασσον αλληλίο του πολυμορφισμού rs8006686 στο γονίδιο της MTHFD1 παρουσίασε τάση για αυξημένο κίνδυνο και στις δύο κατηγορίες ασθενών, εύρημα που όμως δεν ήταν στατιστικώς σημαντικό ($p>0,05$, πίνακας 2). Επίσης δεν τεκμηριώθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των υπό μελέτη γενετικών πολυμορφισμών και των επιπέδων ομοκυστεΐνης ($p>0,05$).

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των ομάδων ασθενών - μαρτύρων

Χαρακτηριστικό	Μάρτυρες (n=135)	ΠΓΑΓ (n=76)	ΨΑΓ (n=80)
Άρρενες (% total)	73 (54,1%)	43 (56,6%)	52 (65,0%)
Μέση ηλικία ± SD	71,3 ± 8,6	71,2 ± 9,8	75,0 ± 6,6
Μέση τιμή ομοκυστεΐνης ± SD	16,3 ± 5,7	16,5 ± 6,1	17,4 ± 6,3
MTHFR rs1801131 MAF	G = 30,8%	G = 29,5%	G = 36,5%
MTHFR rs1801133 MAF	A = 43,1%	A = 41,4%	A = 36,8%
MTHFD1 rs8006686 MAF	C = 21,4%	C = 22,5%	C = 24,3%

Συντομογραφίες: ΠΓΑΓ: πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ΨΑΓ:

Ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, SD: standard deviation, MAF: minor allele frequency

Πίνακας 3. Συχνότητα των γονοτύπων και των αλληλόμορφων.

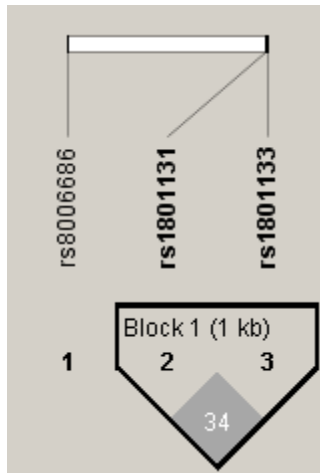
MTHFR		Μάρτυρες		ΠΓΑΓ		ΨΑΓ	
		Συχνότητα %	N	Συχνότητα %	No	Συχνότητα %	No.
rs1801131	Γονότυπος						
	TT	48,12%	64	50,00%	33	41,89%	31
	GT	42,11%	56	40,91%	27	43,24%	32
	GG	9,77%	13	9,09%	6	14,86%	11
	Total		13		66		74
	Αλλήλιο						
	T	69,17%	18	70,45%	93	63,51%	94
	G	30,83%	82	29,55%	39	36,49%	54
	Σύνολο		26		13		148
MTHFR		Μάρτυρες		ΠΓΑΓ		ΨΑΓ	
		Συχνότητα %	N	Συχνότητα %	No	Συχνότητα %	No.
rs1801133	Γονότυπος						
	GG	30,00%	39	34,38%	22	40,28%	29
	AG	53,85%	70	48,44%	31	45,83%	33
	AA	16,15%	21	17,19%	11	13,89%	10
	Σύνολο		13		64		72
	Αλλήλιο						
	G	56,92%	14	58,59%	75	63,19%	91
	A	43,08%	11	41,41%	53	36,81%	53
	Σύνολο		26		12		144
MTHFD1		Μάρτυρες		ΠΓΑΓ		ΨΑΓ	
		Συχνότητα %	N	Συχνότητα %	No	Συχνότητα %	No.
rs8006686	Γονότυπος						
	TT	62,60%	82	61,97%	44	56,94%	41
	CT	32,06%	42	30,99%	22	37,50%	27
	CC	5,34%	7	7,04%	5	5,56%	4
	Total		13		71		72
	Αλλήλιο						
	T	78,63%	20	77,46%	11	75,69%	109
	C	21,37%	56	22,54%	32	24,31%	35
	Σύνολο		26		14		144

Πίνακας 4. Αποτελέσματα συσχετίσεων

Μεταβλητή	Risk	Model	ΠΓΑΓ				ΨΑΓ			
			Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value	Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value
Ηλικία		Continuous	0.998	0.968	1.030	0.9232	1.063	1.022	1.105	0.0021
Επίπεδα Ομοκυστεΐνης		Continuous	1.006	0.957	1.057	0.8152	1.034	0.985	1.084	0.1764
MTHFR rs1801131	G	Additive	0.942	0.599	1.481	0.7950	1.278	0.841	1.942	0.2497
MTHFR rs1801131	G	Dominant	0.928	0.514	1.674	0.8027	1.287	0.725	2.283	0.3892
MTHFR rs1801131	G	Recessive	0.923	0.334	2.549	0.8771	1.612	0.683	3.805	0.2761
MTHFR rs1801133	A	Additive	0.929	0.596	1.448	0.7463	0.757	0.491	1.167	0.2078
MTHFR rs1801133	A	Dominant	0.818	0.432	1.548	0.5374	0.635	0.348	1.160	0.1400
MTHFR rs1801133	A	Recessive	1.077	0.484	2.397	0.8552	0.837	0.371	1.891	0.6691
MTHFD1 rs8006686	C	Additive	1.065	0.662	1.714	0.7941	1.177	0.730	1.897	0.5033
MTHFD1 rs8006686	C	Dominant	1.027	0.566	1.863	0.9305	1.265	0.705	2.272	0.4309
MTHFD1 rs8006686	C	Recessive	1.342	0.410	4.393	0.6268	1.042	0.295	3.687	0.9489
Φύλο	Θήλυ	Dichotomous	0.904	0.513	1.591	0.7256	0.634	0.358	1.122	0.1176

Συντομογραφίες: ΠΓΑΓ: πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ΨΑΓ: Ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, CI: confidence interval.

Σχήμα 3. *Linkage Disequilibrium* στους πολυμορφισμούς του γονιδίου *MTHFR*



Κεφάλαιο 5. Συζήτηση

Η σχέση ομοκυστεΐνης-γλαυκώματος παραμένει αδιευκρίνιστη, καθώς οι σχετικές μελέτες έχουν καταγράψει αλληλοαντικρουόμενα αποτελέσματα. Στην παρούσα έρευνα δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών 1298A>C (rs1801131) και 677C>T (rs1801133) του γονιδίου MTHFR όπως επίσης και του πολυμορφισμού σε ιντρόνιο του γονιδίου MTHFD1 (rs8006686) με το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας και το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα. Παράλληλα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος μεταξύ ασθενών και μαρτύρων. Τα αποτελέσματά μας συμπίπτουν με αυτά πρόσφατης μελέτης, προερχόμενης από το Πανεπιστήμιο της Άγκυρας, σε Τούρκους ασθενείς,⁹⁹ όπου δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση των επιπέδων ομοκυστεΐνης με το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο ή το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι και σε αυτή τη μελέτη όπως και στη δική μας, η μέση τιμή ομοκυστεΐνης ήταν σχετικά υψηλή σε σύγκριση με άλλες αντίστοιχες μελέτες (15,76 σε ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα και 17,43 στους μάρτυρες).

Στον αντίποδα, ένας αριθμός παλαιότερων και πιο πρόσφατων δημοσιεύσεων έχει αναφέρει ότι η ομοκυστεΐνη πλάσματος είναι αυξημένη σε ασθενείς με ψευδοαποφολιδωτική με ή χωρίς γλαυκωματικές αλλοιώσεις. Δύο ομάδες ερευνητών (Bleich και συν. και αργότερα οι Clement και συν.) κατέγραψαν αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα και στο υδατοειδές υγρό, τόσο σε πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας όσο και σε ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα.^{95,102,103,112} Άλλες μελέτες έχουν συσχετίσει την αυξημένη ομοκυστεΐνη με την ψευδοαποφολιδωτική, σε σύγκριση με μη-αποφολιδωτικούς

γλαυκωματικούς ασθενείς ή φυσιολογικούς μάρτυρες.^{95-98,100,105} Καμία άλλη ομάδα ερευνητών δεν επιβεβαίωσε, ωστόσο, τη συσχέτιση μεταξύ ομοκυστεΐνης και πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας.^{100,105,106,113}

Παρά τα διαφορετικά επιμέρους αποτελέσματα, πολύ πρόσφατα δύο μετα-αναλύσεις επιβεβαίωσαν την θετική συσχέτιση της υπερομοκυστεΐναιμίας τόσο με το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας όσο και με το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα.^{114,115} Η πρώτη συμπεριέλαβε αποτελέσματα 12 μελετών και συμπέρανε ότι η υπερομοκυστεΐναιμία συνδέεται με το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας. Στη δεύτερη αναλύθηκαν δεδομένα από 14 μελέτες με συνολικό αριθμό 485 ασθενών και 456 μαρτύρων και διαπιστώθηκε ότι η υπερομοκυστεΐναιμία συσχετίζεται με το ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα.

Εξ' άλλου, σε αντίθεση με βιβλιογραφικές αναφορές που έχουν στο παρελθόν συσχετίσει θετικά τον πολυμορφισμό 677C>T και συγκεκριμένα τον ομόζυγο γονότυπο TT με την υπερομοκυστεΐναιμία, η δική μας στατιστική ανάλυση δεν ανέδειξε συσχέτιση των τριών πολυμορφισμών με τα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος. Αυτό το εύρημα δεν είναι μοναδικό και έχει ανακοινωθεί από άλλους ερευνητές.¹¹² Φαίνεται ότι η επίδραση του γονοτύπου TT στα επίπεδα ομοκυστεΐνης είναι σύνθετη και εξαρτάται από την επίδραση και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων όπως η έλλειψη φυλλικού οξέος ή το κάπνισμα.^{123,124} Μία τέτοια πιθανή αλληλεπίδραση έχει προταθεί πρόσφατα σε μελέτη σε γλαυκωματικούς ασθενείς, όπου αυξημένες τιμές ομοκυστεΐνης συσχετίστηκαν με μειωμένα επίπεδα φυλλικού οξέος.¹⁰⁵

Πολλοί παράγοντες είναι γνωστό ότι μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα, εκτός των γενετικά κληρονομούμενων διαταραχών των μεταβολικών ενζύμων. Ανεπάρκεια βιταμινών του συμπλέγματος B (κυρίως B₆ και B₁₂),

φυλλικού οξέος, νεφρική ανεπάρκεια, ορμονικές διαταραχές όπως υποθυρεοειδισμός, συνήθειες σχετιζόμενες με τον τρόπο ζωής όπως η κατανάλωση καφεΐνης και το κάπνισμα, αλλά και η ηλικία είναι μερικοί από αυτούς. Επιπλέον, διαφορές στον τρόπο ζωής και στις διατροφικές συνήθειες, λόγω πολιτισμικών και κοινωνικών ιδιαιτεροτήτων, είναι πιθανό να οδηγούν σε ετερογενείς μετρήσεις σε ομάδες διαφορετικής εθνικής προέλευσης. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πιθανή επίπτωση αυτών των παραμέτρων στα αποτελέσματα των μετρήσεων, ελήφθη λεπτομερές ιατρικό ιστορικό από ασθενείς και μάρτυρες, ώστε να αποκλειστούν άτομα που υπόκειντο σε παράγοντες διαστρέβλωσης. Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα εκτίμησης της διατροφικής κατάστασης Subjective Global Nutritional Assessment (SGNA), ώστε μόνο άτομα με καλή διατροφική κατάσταση να περιληφθούν στην ανάλυση. Ωστόσο, δεν συγκεντρώθηκαν επιέρους στοιχεία για άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το κάπνισμα και η φυσική άσκηση, γεγονός που πρέπει να αναφερθεί ως ένας από τους περιορισμούς της μελέτης.

Ένας επιπλέον παράγοντας ασυμμετρίας των εργαστηριακών αποτελεσμάτων είναι η εργαστηριακή μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση. Βιβλιογραφικές αναφορές δείχνουν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα, τόσο μεταξύ διαφορετικών μεθόδων, όσο και μεταξύ διαφορετικών εργαστηρίων.^{125,126} Ακόμη και λεπτομέρειες στην τεχνική της αιμοληψίας, όπως η στάση του ασθενούς ή το είδος του αντιπηκτικού που περιέχεται στο φιαλίδιο μεταφοράς μπορεί να επηρεάσει την τελική μέτρηση.¹²⁶ Επομένως, η ασυμφωνία των δημοσιευμένων αποτελεσμάτων θα μπορούσε εν μέρει να αποδοθεί ενδεχομένως και σε αυτήν την παράμετρο.

Σε ό, τι αφορά το γενετικό σκέλος του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης, τα αποτελέσματα των σχετικών μελετών είναι περισσότερο συγκλίνοντα. Ως τώρα δεν έχει αναδειχθεί σημαντική συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών των γονιδίων που ενέχονται

στο μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης και γλαυκώματος, δεδομένο με το οποίο συμφωνούν και τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής.^{94,99,107,109} Είναι σκόπιμο στο σημείο αυτό να τονισθεί ότι οι περισσότερες δημοσιεύσεις έχουν περιοριστεί στην μελέτη του πολυμορφισμού C677T rs1801133 και μόνο οι και συν. συμπεριέλαβαν όλους και τους 17 γνωστούς πολυμορφισμούς όλων των γονιδίων της μεταβολικής οδού της ομοκυστεΐνης. Στις δύο μετα-αναλύσεις από τους Xu και συν. που προαναφέρθηκαν δεν διαπιστώθηκε επίσης συσχέτιση του γονοτύπου C677T με καμία από τις δύο υπό συζήτηση μορφές γλαυκώματος.

Ο σχεδιασμός της παρούσας μελέτης πληροί τις προϋποθέσεις ώστε να προσδίδει εγκυρότητα στα αποτελέσματά της. Περιελάμβανε αντίστοιχα πληθυσμιακά χαρακτηριστικά για τις ομάδες ασθενών και μαρτύρων, την ύπαρξη Hardy–Weinberg equilibrium στους γονοτύπους και κοινή εθνική προέλευση των ατόμων. Είναι σημαντικό στο σημείο αυτό να τονισθεί ότι το δείγμα αποτελεί αποκλειστικά από Καυκάσιους ασθενείς και μάρτυρες, αλλά επιπλέον αποκλειστικά από άτομα ελληνικής καταγωγής και ως επί το πλείστον με καταγωγή από τη γεωγραφική περιοχή της κεντρικής Ελλάδας.

Καλό είναι επίσης να γίνει μνεία στο γεγονός ότι το νοσοκομείο στο οποίο διεξήχθη η έρευνα και από το οποίο συγκεντρώθηκαν οι ασθενείς είναι ένα τριτοβάθμιο νοσοκομείο που καλύπτει υγειονομικά μια περιοχή με αστικό και αγροτικό πληθυσμό 1 εκατομμυρίου κατοίκων κατά προσέγγιση. Δεδομένου ότι πολλοί ασθενείς παραπέμπονται σε αυτό από άλλα νοσοκομεία ή ιδιώτες οφθαλμιάτρους της περιοχής, είναι λογικό να συμπεράνει κανείς ότι υπάρχει μια τάση συσσώρευσης περιστατικών μεγαλύτερης βαρύτητας, με πιθανό επακόλουθο την ύπαρξη σφάλματος τύπου διάκρισης επιλογής (selection bias).

Ωστόσο, όπως όλες οι μελέτες γενετικής συσχέτισης, η παρούσα υπόκειται σε ορισμένους γνωστούς περιορισμούς.¹²⁷ Ο σημαντικότερος περιορισμός αφορά τον αριθμό

ασθενών και μαρτύρων που απαιτείται για να έχει μια μελέτη συσχέτισης ισχύ να ανιχνεύσει στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις. Το θεωρητικά απαιτούμενο μέγεθος του υπό εξέταση δείγματος πρέπει να είναι πολύ υψηλότερο από ό, τι είναι εφικτό στα πλαίσια ενός νοσοκομείου ή οργανισμού. Για παράδειγμα, έχει υπολογιστεί ότι για έναν πολυμορφισμό που εντοπίζεται στο 10% του πληθυσμού, θα απαιτείτο δείγμα 10.000 ατόμων ώστε να ανιχνευθεί μέτρια γενετική συσχέτιση με ισχύ $>80\%$.^{127,128} Σειρές ασθενών αυτού του μεγέθους, με ικανή ισχύ ανίχνευσης στατιστικώς σημαντικών συσχετίσεων, μπορεί να συγκεντρωθούν μόνο στα πλαίσια πολυκεντρικών συνεργασιών και μελετών ευρύτερης γονιδιακής συσχέτισης (Genome-Wide Association studies), μέσω των οποίων τα ως τώρα ευρήματα θα επιβεβαιωθούν ή θα απορριφθούν. Αξίζει στο σημείο αυτό να αναφερθεί ότι ακόμη και οι δύο μετα-αναλύσεις που πρόσφατα δημοσιεύθηκαν επί του αντικείμενου περιλαμβάνουν σχετικά μικρούς αριθμούς ασθενών και μαρτύρων (<500), σε σύγκριση με τα στατιστικώς απαιτούμενα.^{114,115} Ωστόσο, ακόμα και οι μελέτες με μικρότερα δείγματα, όπως η συγκεκριμένη, μπορεί να αποτελέσουν υλικό για μελλοντικές μετα-αναλύσεις που δυνητικά θα φθάσουν σε υψηλότερα επίπεδα αναλυτικής ισχύος και υπό αυτήν την έννοια προσθέτουν στην επιστημονική έρευνα.

Κεφάλαιο 6. Συμπέρασμα

Με την εργασία αυτή επιχειρήθηκε να διερευνηθεί ο πιθανός ρόλος της ομοκουστεΐνης στην παθογένεση του απλού χρόνιου γλαυκώματος ανοικτής γωνίας και του ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος, που αποτελούν μακράν τους δύο συχνότερους τύπους γλαυκώματος στην Ελλάδα.

Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν και συνδυάστηκαν βιοχημικά και γενετικά δεδομένα από μια πολύ ομοιογενή από άποψη εθνικότητας σειρά ασθενών ενός τριτοβάθμιου νοσοκομείου της κεντρικής Ελλάδας.

Σύμφωνα με τα ευρηματά μας δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση των επιπέδων ομοκουστεΐνης πλάσματος, ούτε και των τριών γενετικών πολυμορφισμών της μεταβολικής οδού της ομοκουστεΐνης με κανέναν από τους δύο υπό εξέταση τύπους γλαυκώματος. Με βάση το σύνολο των μέχρι τώρα ευρημάτων για σχέση ομοκουστεΐνης-γλαυκώματος, συμπεραίνεται, ότι η επιβεβαίωση ή η απόρριψη στατιστικώς σημαντικών συσχετίσεων θα μπορούσε να προκύψει μόνον στα πλαίσια πολυκεντρικών συνεργασιών και μελετών ευρύτερης γονιδιακής συσχέτισης (Genome-Wide Association studies).

Βιβλιογραφία

[1] **American Academy of Ophthalmology.** “Preferred practice pattern: primary open-angle glaucoma”, San Francisco: American Academy of Ophthalmology, 2010.

[2] **Kozobolis V.P., Detorakis E.T., Tsilimbaris M., Siganos D.S. et al.** “Crete, Greece glaucoma study”, *J Glaucoma*, 2000:9(2):143-9.

[3] **World Health Organization.** “Visual impairment and blindness”, fact sheet Nr. 282, updated April 2011.

[4] **Forrester J.V., Dick A.D., McMenamin P.G., Lee W.R.** *The Eye. Basic sciences in practice.* Second edition. WB Saunders, 2002:p.192–194.

[5] **Grierson I., Lee W.R, Abraham S.** “Effects of pilocarpine on the morphology of the human outflow apparatus”, *Br J Ophthalmol*, 1978: 62(5):302-313.

[6] **European Glaucoma Society.** “Terminology and guidelines for glaucoma”, (3rd edition), 2008.

[7] **Sommer A., Tielsch J.M., Katz J. et al.** “Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey”, *Arch Ophthalmol*, 1991:109:1090-5.

[8] **Mitchell P., Smith W., Attebo K., Healey P.R.** “Prevalence of open-angle glaucoma in Australia. The Blue Mountains Eye Study”, *Ophthalmology*, 1996:103:1661-9.

[9] **Leske M.C., Connell A.M., Schachat A.P., Hyman L.** “The Barbados Eye Study. Prevalence of open angle glaucoma”, *Arch Ophthalmol*, 1994:112:821-9.

[10] **Leske M.C., Connell A.M., Wu S.Y. et al.** “Risk factors for open-angle glaucoma. The Barbados Eye Study”, *Arch Ophthalmol* , 1995:113:918-24.

[11] **Quigley H.A., West S.K., Rodriguez J. et al.** “The prevalence of glaucoma in a population-based study of Hispanic subjects: Proyecto VER”, *Arch Ophthalmol*, 2001:119:1819-26.

[12] **Leibowitz H.M., Krueger D.E., Maunder L.R. et al.** “The Framingham Eye Study monograph: An ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975”, *Surv Ophthalmol*, 1980:24:335-610.

[13] Klein B.E., Klein R., Sponsel W.E. et al. "Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study", *Ophthalmology*, 1992;99:1499-504.

[14] Weih L.M., Nanjan M., McCarty C.A., Taylor H.R. "Prevalence and predictors of open-angle glaucoma: results from the visual impairment project", *Ophthalmology*, 2001;108:1966-72.

[15] Sommer A., Tielsch J.M., Katz J. et al. "Racial differences in the cause-specific prevalence of blindness in east Baltimore", *N Engl J Med*, 1991;325:1412-7.

[16] Friedman D.S., Jampel H.D., Munoz B., West S.K. "The prevalence of open-angle glaucoma among blacks and whites 73 years and older: the Salisbury Eye Evaluation Glaucoma Study", *Arch Ophthalmol*, 2006;124:1625-30.

[17] Wolfs R.C., Klaver C.C., Ramrattan R.S. et al. "Genetic risk of primary open-angle glaucoma. Population-based familial aggregation study", *Arch Ophthalmol*, 1998;116:1640-5.

[18] Kim E., Varma R. "Glaucoma in Latinos/Hispanics", *Curr Opin Ophthalmol.*, 2010;21(2):100-5.

[19] Varma R., Ying-Lai M., Francis B.A., Nguyen B.B. et al. "Prevalence of open-angle glaucoma and ocular hypertension in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study", *Ophthalmology.*, 2004;111(8):1439-48.

[20] Tielsch J.M., Sommer A. et al. "Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey", *JAMA*, 1991; 17:266(3):369-74.

[21] Hahn S., Azen S., Ying-Lai M., Varma R. "Los Angeles Latino Eye Study Group. Central corneal thickness in Latinos", *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003;44:1508-12.

[22] Doughty M.J., Zaman M.L. "Human corneal thickness and its impact on intraocular pressure measures: a review and meta-analysis approach", *Surv Ophthalmol*, 2000;44:367-408

[23] Brandt J.D., Beiser J.A., Kass M.A., Gordon M.O. "Central corneal thickness in the Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS)", *Ophthalmology*, 2001;108:1779-88.

- [24] **Dueker D.K., Singh K., Lin S.C. et al.** "Corneal thickness measurement in the management of primary open-angle glaucoma: a report by the American Academy of Ophthalmology", *Ophthalmology*, 2007:114:1779-87.
- [25] **Tielsch J.M., Katz J., Sommer A. et al.** "Hypertension, perfusion pressure, and primary open-angle glaucoma. A population-based assessment", *Arch Ophthalmol*, 1995:113:216-21.
- [26] **Chopra V., Varma R., Francis B.A. et al.** "Los Angeles Latino Eye Study Group. Type 2 diabetes mellitus and the risk of open-angle glaucoma: the Los Angeles Latino Eye Study", *Ophthalmology*, 2008:115:227-32.
- [27] **Bonovas S., Peponis V., Filioussi K.** "Diabetes mellitus as a risk factor for primary open-angle glaucoma: a meta-analysis", *Diabet Med*, 2004:21:609-14.
- [28] **de Voogd S., Ikram M.K., Wolfs R.C. et al.** "Is diabetes mellitus a risk factor for open-angle glaucoma? The Rotterdam Study", *Ophthalmology*, 2006:113:1827-31.
- [29] **Mitchell P., Hourihan F., Sandbach J., Wang J.J.** "The relationship between glaucoma and myopia: the Blue Mountains Eye Study", *Ophthalmology*, 1999:106:2010-5.
- [30] **Grodum K., Heijl A., Bengtsson B.** "Refractive error and glaucoma", *Acta Ophthalmol Scand*, 2001:79:560-6.
- [31] **Xu L., Wang Y., Wang S., Jonas J.B.** "High myopia and glaucoma susceptibility the Beijing Eye Study", *Ophthalmology*, 2007:114:216-20.
- [32] **Kuzin A.A., Varma R., Reddy H.S., et al.** "Ocular biometry and open-angle glaucoma: The Los Angeles Latino Eye Study", *Ophthalmology*, 2010:117:1713-19.
- [33] **Monemi S., Spaeth G., DaSilva A., Popinchalk S., Ilitchev E. et al.** "Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1", *Hum Mol Genet.*, 2005:14(6):725-733.
- [34] **Fingert J.H., Heon E., Liebmann J.M. et al.** "Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations", *Hum Mol Genet.*, 1999:8:899-905.
- [35] **Rezaie T., Child A., Hitchings R., Brice G., Miller L. et al.** "Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin", *Science*, 2002: 99(23):1077-1079.

- [36] Thorleifsson G., Walters G.B., Hewitt A.W., Masson G., Helgason A. et al. (2010) "Common variants near CAV1 and CAV2 are associated with primary open-angle glaucoma", *Nat Genet*, 2010:42(10):906–909.
- [37] van Koolwijk L.M., Ramdas W.D., Ikram M.K., Jansonius N.M., Pasutto F. et al. (2012) "Common Genetic Determinants of Intraocular Pressure and Primary Open-Angle Glaucoma", *PLoS Genet*, 2012:8(5): e100261
- [38] Gupta N., Ang L. C., Noel de Tilly L., Bidaisee L. and Yucel Y. H. "Human glaucoma and neural degeneration in intracranial optic nerve, lateral geniculate nucleus, and visual cortex", *Br. J. Ophthalmol.*, 2006:90:674–678.
- [39] Gupta N., Greenberg G., de Tilly L. N., Gray B., Polemidiotis M. and Yucel Y. H. "Atrophy of the lateral geniculate nucleus in human glaucoma detected by magnetic resonance imaging", *Br. J. Ophthalmol.*, 2009:93:56–60.
- [40] Yan D.B., Coloma F.M., Metheetrairut A., Trope G.E., Heathcote J.G., Ethier C.R. "Deformation of the lamina cribrosa by elevated intraocular pressure", *Br.J.Ophthalmol.*, 1994:78:643–648.
- [41] Johnson E. C., Deppmeier L. M., Wentzien S. K., Hsu I. and Morrison J. C. "Chronology of optic nerve head and retinal responses to elevated intraocular pressure", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2000:41:431–442.
- [42] Quigley H.A., McKinnon S.J., Zack D.J. et al. "Retrograde axonal transport of brain-derived neurotrophic factor in retinal ganglion cells is blocked by acute IOP elevation in rats", *Invest Ophthalmol Vis Sc.*, 2000:41:3460-6.
- [43] Flammer J. "The vascular concept in glaucoma", *Surv. Ophthalmol.*, 1994:38 (Suppl.): S3 – 6.
- [44] Hayreh S.S. "Blood flow in the optic nerve head and factors that may influence it", *Progres Ret Eye Res*, 2001:20:595–624.
- [45] Harris A. "Vascular pathophysiology of glaucoma", *Ocular surgery news.*, 2002:8:12-15.
- [46] Flammer J. "The vascular concept of glaucoma", *Surv Ophthalmolo.*, 1994:204(5):295-297.
- [47] Flammer J., Orgül S., Costa V.P., Orzalesi N., Krieglstein G.K. et al. "The impact of ocular blood flow in glaucoma", *Prog Ret Eye Res*, 2002:21:359–393.

- [48] **Flammer J., Haefliger I. O., Orgul S. and Resink T.** "Vascular dysregulation: a principal risk factor for glaucomatous damage?", *J. Glaucoma*, 1999:8: 212–219.
- [49] **Kaiser H.J., Flammer J., Gasser P.** "Endothelin-1 plasma levels in normal-tension glaucoma: abnormal response to postural changes", *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, 1995:233(8):484-488.
- [50] **Yang J., Tezel G., Patil R. V., Romano C. and Wax M. B.** "Serum autoantibody against glutathione S-transferase in patients with glaucoma", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2001:42: 1273–1276.
- [51] **Kroemer G., Galluzzi L. and Brenner C.** "Mitochondrial membrane permeabilization in cell death", *Physiol Rev.*, 2007:87, 99–163.
- [52] **Tezel G., Edward D.P., Wax M.B.** "Serum autoantibodies to optic nerve head glycosaminoglycans in patients with glaucoma", *Arch Ophthalmol.*, 1999:117(7):917-24.
- [53] **Wax M.B., Tezel G., Edward P.D.** "Clinical and ocular histopathological findings in a patient with normal-pressure glaucoma", *Arch Ophthalmol.*, 1998: 116(8):993-1001.
- [54] **Tezel G., Seigel G.M., Wax M.B.** "Autoantibodies to small heat shock proteins in glaucoma", *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 1998:39(12):2277-87.
- [55] **Romano C., Barrett D.A., Li Z. et al.** "Anti-rhodopsin antibodies in sera from patients with normal-pressure glaucoma", *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 1995:36:1968-75.
- [56] **Tezel G., Yang X., Luo C., Peng Y., Sun S.L., Sun D.** "Mechanisms of immune system activation in glaucoma: oxidative stress-stimulated antigen presentation by the retina and optic nerve head glia", *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 2007:48(2):705-14.
- [57] **Tezel G., Yang X., Cai J.** "Proteomic identification of oxidatively modified retinal proteins in a chronic pressure-induced rat model of glaucoma", *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 2005:46(9):3177-87.
- [58] **Prince A.M., Streeten B.W., Ritch R. et al.** "Preclinical diagnosis of pseudoexfoliation syndrome", *Arch Ophthalmol.*, 1987:105:1076-82.
- [59] **Hammer T., Schlotzer-Schrehardt U., Naumann G.O.** "Unilateral or asymmetric pseudoexfoliation syndrome? An ultrastructural study", *Arch Ophthalmol.*, 2001:119:1023-31.

- [60] **Mitchel P., Wang J., Hourihan F.** "The relationship between glaucoma and pseudoexfoliation. The Blue Mountains Eye Study", *Arch Ophthalmol.*, 1999:117:1319–1324.
- [61] **Ritch R.** "Exfoliation syndrome: clinical findings and occurrence in patients with occludable angles", *Trans Am Ophthalmol Soc.*, 1994:92:845-944.
- [62] **Kozobolis V.P., Papatzanaki M., Vlachonikolis I.G., Pallikaris I.G., Tsambarlakis I.G.** "Epidemiology of pseudoexfoliation in the island of Crete (Greece)", *Acta Ophthalmol. Scand.*, 1997:75: 726–729.
- [63] **Kozobolis V.P., Detorakis E.T., Tsilimbaris M. et al.** "Crete, Greece glaucoma study", *J Glaucoma.*, 2000 :9(2):143-9.
- [64] **Anastasopoulos E., Topouzis F., Wilson M.R., Pappas T., Yu F. et al.** "Characteristics of pseudoexfoliation in the Thessaloniki Eye Study", *J Glaucoma*, 2011:20(3):160-6.
- [65] **Ritch R., Schlötzer-Schrehardt U.** "Exfoliation syndrome", *Surv. Ophthalmol.*, 2002:45(4):165–315.
- [66] **Konstas A.G., Mantziris D.A., Stewart W.C.** "Diurnal intraocular pressure in untreated exfoliation and primary open-angle glaucoma", *Arch Ophthalmol.*, 1997:115:2:182-5.
- [67] **Konstas A.G., Stewart W.C., Stroman G.A., Sine C.S.** "Clinical presentation and initial treatment patterns in patients with exfoliation glaucoma versus primary open-angle glaucoma", *Ophthalmic Surg Lasers.*, 1997:28(2):111-7.
- [68] **Vesti E., Kivelä T.** "Exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma", *Progr Ret Eye Res*, 2000:19:345–368.
- [69] **Amari F., Umihira J., Nohara M., Nagata S., Usuda N., Segawa K., Yoshuma N.** "Electron microscopic immunohistochemistry of ocular and extraocular pseudoexfoliative material", *Exp. Eye Res.*, 1997:65: 51 – 56.
- [70] **Konstas A.G., Marshall G.E., Cameron S.A., Lee W.R.** "Morphology of iris vasculopathy in exfoliation glaucoma", *Acta Ophthalmol (Copenh).*, 1993:71(6):751-9.
- [71] **Uusitalo M., Kivelä T., Tarkkanen A.** "Immunoreactivity of exfoliation material for the cell adhesion-related HNK-1 carbohydrate epitope", *Arch. Ophthalmol.*, 1993:111:1419–1423.

- [72] Kubota T., Schlötzer-Schrehardt U., Inomata H., Naumann G.O. "Immunoelectron microscopic localization of the HNK-1 carbohydrate epitope in the anterior segment of pseudoexfoliation and normal eyes", *Curr Eye Res*, 1997:16:231–8.
- [73] Konstas A.G., Marshall G.E., Cameron S.A., Lee W.R. "Morphology of iris vasculopathy in exfoliation glaucoma", *Acta Ophthalmol (Copenh)*, 1993:71(6):751-9.
- [74] Schlötzer-Schrehardt U.M., Koca M.R., Naumann G.O.H., Volkholz H. "Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder?", *Arch. Ophthalmol.*, 1992:110:1952–1956.
- [75] Tarkkanen A. "IS exfoliation syndrome a sign of systemic vascular disease?", *Acta Ophthalmol.*, 2008:86:832–836 .
- [76] Mitchell P., Wang J.J., Smith W. "Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk", *Am J Ophthalmol.*, 1997:124(5):685-7.
- [77] Schumacher S., Schlötzer-Schrehardt U., Martus P., Lang W., Naumann G.O.H. "Pseudoexfoliation syndrome and aneurysms of the abdominal aorta", *The Lancet*, 2001:357: 359–360.
- [78] Shrum K.R., Hattenhauer M.G., Hodge D. "Cardiovascular and cerebrovascular mortality associated with ocular pseudoexfoliation", *Am J Ophthalmol.*, 2000: 129(1):83-86.
- [79] Ritch R., Schlotzer-Schrehardt U., Konstas A.G. "Why is glaucoma associated with exfoliation syndrome?", *Prog Retin Eye Res.*, 2003:22(3):253-75.
- [80] Thorleifsson G., Magnusson K.P., Sulem P., Walters G.B. et al. "Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma", *Science*, 2007:317(5843):1397-400.
- [81] Liu X., Zhao Y., Gao J. et al. "Elastic fiber homeostasis requires lysyl-oxidase-like 1 protein", *Nat Genet.*, 2004: 36(2): 178-182.
- [82] Oleggini R., Gastaldo N., Di Donato A. "Regulation of elastin promoter by lysyl-oxidase and growth factors: cross-control of lysyl-oxidase on TGF- β 1 effects", *Matrix Biol.*, 2007:26(6):494-505.

[83] Gilad G. M., Kagan H. M., Gilad V. H. "Evidence for increased lysyl oxidase, the extracellular matrix-forming enzyme, in Alzheimer's disease". *Neurosci Lett.* 2005;376(3):210-214.

[84] Mc Quillan B.M., Beilby J.P., Nidorf M., Thompson P.L., Hung J. "Hyperhomocysteinemia but not the C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase is an independent risk determinant of carotid wall thickening. The Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Study", *Circulation*, 1999;99:2383–2388.

[85] Wald D., Law M., Morris J.K. "Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on casualty from meta-analysis", *British Medical Journal*, 2002;325:1202-1208.

[86] Ritch R., Prata T.S., Moraes C.G. et al. "Association of exfoliation syndrome and central retinal vein occlusion: an ultrastructural analysis", *Acta Ophthalmol.*, 2010;88(1):91-5.

[87] Pianka P., Almog Y., Man O., Goldstein M., Sela B., Loewenstein A. "Hyperhomocysteinemia in patients with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy, central retinal artery occlusion and central retinal vein occlusion", *Ophthalmology*, 2000;107:1588–1592.

[88] Weger M., Stanger O., Deutschmann H., Simon M., Renner W. et al. "Hyperhomocyst(e)inaemia, but not C677T mutation, as a risk factor for non-arteritic ischaemic neuropathy", *Br J Ophthalmol*, 2001;85:803–808.

[89] Cahllil M.T., Stinnett S.S., Fekrat S. "Meta-analysis of plasma homocysteine, serum folate, serum vitamin B₁₂, and thermolabile MTHFR genotype as risk factors for retinal vascular occlusive disease", *Am J Ophthalmol*, 2003;136:1136 – 1150.

[90] Moore P., El-sherbeny A., Roon P., Schoenlein P.V., Ganapathy V., Smith SB. "Apoptotic cell death in the mouse retinal ganglion cell layer is induced in vivo by the excitatory amino acid homocysteine", *Exp Eye Res.*, 2001;73(1):45-57.

[91] Brattstrom L., Lindgren A., Israelsson B., Anderson A., Hultberg B. "Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects", *J Intern Med.*, 1994;236:633-641.

[92] Frosst P., Blom H.J., Milos R., Goyette P., Sheppard C.A. et a. "A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase", *Nature Genetics*, 1995;10:111–113.

- [93] Geisel J., Hubner U., Bodis M., Schorr H., Knapp J.P., Obeid R., Herrmann W. "The role of genetic factors in the development of hyperhomocysteinemia". *Clin Chem Lab Med.*, 2003:Nov41(11): 1427–34.
- [94] Fan B.J., Chen T., Grosskreutz C., Pasquale L., Rhee D., DelBono E. et al. "Lack of association of polymorphisms in homocysteine metabolism genes with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma", *Molecular Vision*, 2008:14:2484-2491.
- [95] Bleich S., Jünemann A.G.M., von Ahsen N., Lausen B., Ritter K. et al. "Homocysteine and risk of open-angle glaucoma", *J Neural Transm*, 2002:109: 1499 – 1504.
- [96] Leibovitch I., Kurtz S., Shemesh G., Goldstein M., Sela B., Lazar M., Loewenstein A. "Hyperhomocysteinemia in pseudoexfoliation glaucoma", *Journal of Glaucoma*, 2003:12:36–39.
- [97] Vessani R., Ritch R., Liebmann J., Jofe M. "Plasma homocysteine is elevated in patients with exfoliation syndrome", *Am J Ophthalmol*, 2003:136:41–46.
- [98] Puustjärvi T., Blomster H., Kontkanen M., Punnonen K., Teräsvirta M. "Plasma and aqueous humour levels of homocysteine in exfoliation syndrome", *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2004: 242(9):749-54.
- [99] Turaçlı M.E., Tekeli O., Özdemir F., Akar N. "Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T and homocysteine levels in Turkish patients with pseudoexfoliation", *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2005:33:505–508.
- [100] Altıntaş Ö., Maral H., Yüksel N., Karabaş V., Dillioğlugil M.Ö., Çağlar Y. "Homocysteine and nitric oxide levels in plasma of patients with pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliation glaucoma and primary open-angle glaucoma", *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005:243:677-683.
- [101] Jünemann A.G.M., von Ahsen N., Reulbach U., Roedl J. et al. "C677T Variant in the Methyltetrahydrofolate Reductase gene is a genetic risk factor for primary open-angle glaucoma", *Am J Ophthalmol*, 2005:139(4):721–723.
- [102] Roedl J.B., Bleich S., Reulbach U., von Ahsen N., Schlötzer-Schrehardt U. et al. "Homocysteine levels in aqueous humor and plasma of patients with primary open-angle glaucoma", *J Neural Transm*, 2007:114:445-450.

- [103] Roedl J.B., Bleich S., Reulbach U., Rejdak R., Naumaann G.O.H. et al. "Vitamin deficiency and hyperhomocysteinemia in pseudoexfoliation glaucoma", *J Neural Transm*, 2007:114:571-575.
- [104] Roedl J.B., Bleich S., Reulbach U., Rejdak R., Kornhuber J., Kruse F.E. et al. "Homocysteine in tear fluid of patients with pseudoexfoliation glaucoma", *J glaucoma*, 2007:16:234-239.
- [105] Cumurcu T., Sahin S., Aydin E. "Serum homocysteine, vitamin B12 and folic acid levels in different types of glaucoma", *BMG Ophthalmology*, 2006:6:6.
- [106] Wang G., Medeiros F.A., Barshop B.A., Weinreb R.N. "Total plasma homocysteine and primary open-angle glaucoma", *American Journal of Ophthalmology*, 2004:137:401–406.
- [107] Mossbock G., Weger M., Faschinger C., Steinbrugger I., Temmel W. et al. "Methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) 677C>T polymorphism and open angle glaucoma", *Molecular vision*, 2006:12:356-9.
- [108] Woo SJ, Kim JY, Kim DM, Park SS, Ko HS, Yoo T. "Investigation of the association between 677C>T and 1298A>C 5,10-methylenetetra-hydrofolate reductase gene polymorphisms and normal-tension glaucoma", *Eye.*, 2009:23(1):17-24.
- [109] Shazia M., Raheel Q., Farah A., Muhammad I. K., Wajid A.K., Asifa A. "MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and homocysteine levels in primary open angle and primary closed angle glaucoma", *Molecular Vision*, 2009: 15:2268-2278.
- [110] Zetterberg M., Tasa G., Palmér M.S., Juronen E., Toover E., Blennow K., Zetterberg H. "Methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms in patients with primary open-angle glaucoma", *Ophthalmic Genet.*, 2007 Jun:28(2):47-50.
- [111] Mabuchi F., Tang S., Kashiwagi K., Yamagata Z., Iijima H., Tsukahara S. "Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms c.677C/T and c.1298A/C are not associated with open angle glaucoma", *Mol Vis.* 2006:12:735-9.
- [112] Clement C.I., Goldberg I., Healey P.R., Graham S.L. "Plasma Homocysteine, MTHFR Gene Mutation, and Open-angle Glaucoma", *J Glaucoma*, 2009:18:73–78.

- [113] Tranchina L., Centofani M., Oddone F., Tanga L., Roberti G., Liberatoscioli L. et al. "Levels of plasma homocysteine in pseudoexfoliation glaucoma", *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, 2011:249(3):443-8.
- [114] Xu F., Zhao X., Zeng S.M., Li L., Zhong H.B., Li M. "Homocysteine, B vitamins, methylenetetrahydrofolate reductase gene, and risk of primary open-angle glaucoma: a meta-analysis", *Ophthalmology.*, 2012:119(12):2493-9.
- [115] Xu F., Zhang L., Li M. "Plasma homocysteine, serum folic acid, serum vitamin B12, serum vitamin B6, MTHFR and risk of pseudoexfoliation glaucoma: a meta-analysis", *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, 2012:250(7):1067-74.
- [116] Westphal S., Dierkes J., Luley C. "Effects of fenofibrate and gemfibrozil on plasma homocysteine", *Lancet*, 2001:358:39-40.
- [117] van der Gaag M.S., Ubbink J.B., Sillanaukee P., Nikkari S., Hendriks H.F. "Effect of consumption of red wine, spirits, and beer on serum homocysteine", *Lancet*, 2000:355:1522.
- [118] de Bree A., Verschuren W.M.M., Blom H.J., Kromhout D. "Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample", *American Journal of Epidemiology*, 2001:154:150 – 154.
- [119] Sleisenger and Fordtran. *Gastrointestinal Disease. Pathophysiology / Diagnosis / Management* (fifth edition), 1993:Vol.1. Philadelphia: WB Saunders Co., p.2040 – 41.
- [120] Detsky A.S., McLaughlin J.R., Baker J.P., Johnston N., Whittaker S. et al. "What is subjective global assessment of nutritional status?", *J Parent Enteral Nutr*, 1987:11:8-13.
- [121] Frantzen F., Faaren A.L., Alfheim I., Nordhei A.K. "Enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum", *Clinical Chemistry*, 1998:44: 2 311-316.
- [122] Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. "A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells", *Nucleic Acids Res*, 1988:16:1215.
- [123] Russo G.T., Friso S., Jacques P.F. et al. "Age and gender affect the relation between methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype and fasting plasma homocysteine concentrations in the Framingham Offspring Study Cohort", *J Nutr*. 2003:133:3416-3421.

[124] Brown K.S., Kluijtmans L.A., Young I.S. et al. “The 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism interacts with smoking to increase homocysteine”, *Atherosclerosis*, 2004:174:315–322.

[125] Centers for Disease Control and Prevention. “Assessment of laboratory tests for plasma homocysteine – selected laboratories”, July-September 1998, *MMWR* 1999:48:1013-1015.

[126] Refsum H., Smith A.D., Ueland P.M. et al. “Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion”, *Clin Chem*, 2004:50:3–32.

[127] Cardon L.R., Bell J.I. “Association study designs for complex diseases”, *Nat Rev Genet*, 2001:2:91–9.

[128] Zintzaras E., Lau J. “Trends in meta-analysis of genetic association studies”, *J Hum Genet.*, 2008:53:1–9.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Πρωτόκολλο εξέτασης ασθενών

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ:

ΚΩΔΙΚΟΣ:

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

Επώνυμο:	Όνομα:
Όνομα Πατέρα:	Φύλο:
Ημερομηνία Γέννησης:	Φυλή:
Τόπος Γέννησης:	Τόπος Διαμονής:
Επάγγελμα:	Τηλέφωνο:

ΙΣΤΟΡΙΚΟ

A) ΓΕΝΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

	ΝΑΙ	ΟΧΙ
1. Σακχαρώδης Διαβήτης	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Νεφρική Ανεπάρκεια	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Νεοπλασίες	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Κακοήθης αναιμία / δυσαπορρόφηση B ₁₂	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Αρτηριακή Υπέρταση	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Καρδιαγγειακή νόσος	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Εγκεφαλική αγγειακή νόσος	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

B) ΛΗΨΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΤΟΥΣ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ

	ΝΑΙ	ΟΧΙ
1. Φαινυτοΐνη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Μεθοτρεξάτη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Φιμπράτες	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Καρβαμαζεπίνη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Τριμεθοπρίμη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Βιταμίνες (B ₁₂ , φυλλικό, B ₆ , C)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Γ) ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

	Φάρμακο	Δοσολογία	Έναρξη
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

Δ) ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

	Δ.Ο.	Α.Ο.
1. Επέμβαση καταρράκτη / ψευδοφακία	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Οφθαλμική φλεγμονή	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Εκφύλιση Ωχράς Κηλίδας	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Υψηλή μυωπία	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Οικογενειακό ιστορικό γλαυκώματος		

Δ) ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

1. Λήψη αλκοόλ	ΧΑΜΗΛΗ	ΜΕΤΡΙΑ	ΥΨΗΛΗ
2. Κάπνισμα	Τσιγάρα / ημέρα:		
3. Κατανάλωση καφέ	ΧΑΜΗΛΗ	ΜΕΤΡΙΑ	ΥΨΗΛΗ
2. Subjective Global Assessment Score*	A	B	C

A) ΟΠΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

$V_{\Delta.O.}$	$V_{A.O.}$
Ph:	Ph:

B) ΚΕΡΑΤΟΕΙΔΗΣ

	Δ.Ο.	A.O.
1. Ψευδοαποφολιδωτικό υλικό στο ενδοθήλιο	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2. Χρωστική στο ενδοθήλιο	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3. Παχυμετρία (μέσος όρος 3 μετρήσεων) Επαφής Μη επαφής		
4. Ενδοθηλιοσκόπηση Αριθμός κυττάρων Μέγεθος Πολυμεγεθισμός Κενοτόπια		

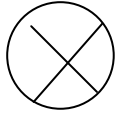
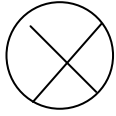
Γ) ΠΡΟΣΘΙΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ

	Δ.Ο.	A.O.
1. Βάθος γωνίας ⁺		
2. Κύτταρα		

Δ) ΙΡΙΔΑ

	Δ.Ο.	A.O.
1. Ατροφία κορικού χείλους	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Ατροφία περιφερική /transillumination	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Ψευδοαποφολίδωση κορικού χείλους	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Νεοαγγείωση ίριδας	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Ε) ΓΩΝΙΟΣΚΟΠΗΣΗ

Δ.Ο.	Sampaolesi line: Ψευδοαποφολιδωτικό υλικό: 1. εύρος+ 2. αγγεία 3. χρωστική		A.O.	Sampaolesi line: Ψευδοαποφολιδωτικό υλικό: 1. εύρος 2. αγγεία 3. χρωστική	
1. εύρος 2. αγγεία 3. χρωστική		1. εύρος 2. αγγεία 3. χρωστική	1. εύρος 2. αγγεία 3. χρωστική		1. εύρος 2. αγγεία 3. χρωστική
	1. εύρος 2. αγγεία 3. χρωστική			1. εύρος 2. αγγεία 3. χρωστική	

ΣΤ) ΦΑΚΟΣ

1. Ψευδοαποφολιδωτικό υλικό	Δ.Ο. <input type="checkbox"/>	A.O. <input type="checkbox"/>
2. Μυδρίαση		

Ζ) ΕΝΔΟΦΘΑΛΜΙΑ ΠΙΕΣΗ / ΩΡΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ:

T	T	T
---	---	---

Ε) ΒΥΘΟΣΚΟΠΗΣΗ

Θηλή	Δ.Ο.	A.O.
C / D οριζόντιο: κάθετο: notch: αιμορραγίες ρινική παρεκτόπιση αγγείων		
Αλλοιώσεις ωχράς κηλίδας		
Μυωπικές αλλοιώσεις		

ΣΤ) ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΠΤΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ (HUMPHREY S 24 – 2)

	Δ.Ο.	Α.Ο.
1. Ρινικό Βήμα	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Τοξοειδές σκότωμα	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Διεύρυνση τυφλής κηλίδας	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Άλλες αλλοιώσεις		
5. MD		
6. PSD		

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

- **ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ / ΩΡΑ / ΑΓΩΓΗ:**

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΟΠΟΥ ΚΑΤΑΤΑΣΣΕΤΑΙ

	Δ.Ο.	Α.Ο.
α) Χρόνιο γλαύκωμα ανοικτής γωνίας	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
β) Ψευδοαποφολίδωση	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
γ) Ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
δ) Φυσιολογικός μάρτυρας	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

+Εκτίμηση του εύρους της γωνίας του προσθίου θαλάμου με εξέταση στη σχισμοειδή λυχνία κατά van Herick & co. Βαθμολόγηση του εύρους της γωνίας με γωνιοσκόπηση με το σύστημα Shaffer.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

Κλίμακα εκτίμησης μεταβολικής κατάστασης

*SUBJECTIVE GLOBAL NUTRITIONAL ASSESSMENT

1. Weight change:

Loss in the past 6 months:

nil or <5 per cent

5 to 10 per cent

>10 per cent

Change in past two weeks:

increase

stable

decrease

2. Diet intake:

No change or suboptimal intake

Liquid diet

Hypocaloric fluids or starvation

3. Gastrointestinal symptoms for >2 weeks:

Nil

Anorexia and nausea

Vomiting

Diarrhea

4. Functional capacity:

Normal

Suboptimal work

Ambulatory

Bedridden

5. Stress:

Nil

Minimal

High

6. Physical signs:

Loss of subcutaneous fat over:

triceps

chest

Muscle wasting of:

deltoids

temporals

quadriceps

Fluid retention

edema

ascites

Mucosal lesions

glossitis

skin rash suggestive of deficiency

SCORING

- No or minimal restriction of food intake and/or absorption with minimal change in function or improving function and body weight: **scored A**
- Clear evidence of food restriction with functional changes, but little evidence of any changes in body mass: **scored B**
- Both changes in intake and body mass with poor function: **scored C**

(Πηγή: Sleisenger and Fordtran. Gastrointestinal Disease. Pathophysiology/Diagnosis/Management, fifth edition, Vol. 1. Philadelphia: WB Saunders Co., 1993, p.2040 – 41)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

Αποτελέσματα ταυτοποίησης γονοτύπου για τους τρεις πολυμορφισμούς

1) rs1801131

Block Type 96alun
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801131_GLAU1.edc
 Experiment 2011-10-17 16:29:46 PM MDT
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs1801131 UNKNOWN	0.1580772	0.5643919	2817278.3	99.905807	TT
A2		rs1801131 UNKNOWN	0.1703091	0.5516208	2578128	99.898895	TT
A3		rs1801131 UNKNOWN	0.3288076	0.4462305	2674019	99.900337	GT
A4		rs1801131 UNKNOWN	0.1521455	0.5422457	2590505.3	99.901459	TT
A5		rs1801131 UNKNOWN	0.1049972	0.5505137	2631547.3	95.891106	TT
A6		rs1801131 UNKNOWN	0.1549596	0.5460404	2697770.8	99.945206	TT
A7		rs1801131 UNKNOWN	0.3224474	0.4236405	2695289.3	99.97493	GT
A8							
A9		rs1801131 UNKNOWN	0.3204843	0.4306141	2656130.3	99.937897	GT
A10		rs1801131 UNKNOWN	0.1616373	0.5610819	2673454	99.951874	TT
A11		rs1801131 UNKNOWN	0.1543871	0.5459855	2535405	99.935707	TT
A12		rs1801131 UNKNOWN	0.1461098	0.5236216	2569692.3	99.752129	TT
B1		rs1801131 UNKNOWN	0.3167352	0.429033	2969180.8	99.894218	GT
B2		rs1801131 UNKNOWN	0.3192918	0.4287215	2817332.5	99.936417	GT
B3		rs1801131 UNKNOWN	0.2787402	0.3570071	2821521	99.245125	GT
B4		rs1801131 UNKNOWN	0.3204823	0.404048	2728221.5	99.767838	GT
B5		rs1801131 UNKNOWN	0.14485	0.4750332	2834377.8	99.481773	TT
B6		rs1801131 UNKNOWN	0.1348987	0.4285231	2679389	98.457001	TT
B7		rs1801131 UNKNOWN	0.3421458	0.443861	2819171.5	99.988983	GT
B8		rs1801131 UNKNOWN	0.161877	0.5534543	2749784.8	99.980759	TT
B9		rs1801131 UNKNOWN	0.1589756	0.5412533	2809025.8	99.995941	TT
B10		rs1801131 UNKNOWN	0.3502165	0.4727378	2769004.5	99.83989	GT
B11		rs1801131 UNKNOWN	0.1734229	0.5867171	2713607	99.721375	TT
B12		rs1801131 UNKNOWN	0.1663759	0.5505586	2722349.3	99.961792	TT
C1		rs1801131 UNKNOWN	0.3630051	0.5078509	3087961.3	99.332924	GT
C2		rs1801131 UNKNOWN	0.19844	0.6010735	2930855.3	98.710945	TT
C3		rs1801131 UNKNOWN	0.1905353	0.5991676	2991265.8	99.122749	TT
C4		rs1801131 UNKNOWN	0.3836432	0.5057834	2913684.8	99.55925	GT
C5		rs1801131 UNKNOWN	0.3685915	0.4892248	2805747.8	99.74955	GT
C6		rs1801131 UNKNOWN	0.1883905	0.5893173	2837853	99.255104	TT
C7		rs1801131 UNKNOWN	0.3874823	0.4964483	2895031.3	99.590813	GT
C8		rs1801131 UNKNOWN	0.4515271	0.1777113	2853543.5	99.989143	GG
C9		rs1801131 UNKNOWN	0.3908392	0.5110713	2771046	99.470955	GT
C10		rs1801131 UNKNOWN	0.1796844	0.605029	2807160.5	99.443886	TT
C11		rs1801131 UNKNOWN	0.1958188	0.6075768	2735825.8	98.82962	TT
C12		rs1801131 UNKNOWN	0.351699	0.477696	2409412	99.782959	GT
D1		rs1801131 UNKNOWN	0.3815645	0.5142348	2997445.8	99.437309	GT
D2		rs1801131 UNKNOWN	0.2815503	0.5947629	3042087	80.392723	0
D3		rs1801131 UNKNOWN	0.1998132	0.5990491	3077077	98.632469	TT
D4		rs1801131 UNKNOWN	0.3970425	0.5202771	2894845.3	99.334816	GT
D5		rs1801131 UNKNOWN	0.4409344	0.1694783	2953736.5	99.962784	GG
D6		rs1801131 UNKNOWN	0.4653361	0.2675502	2885488	89.970467	0
D7		rs1801131 UNKNOWN	0.3822412	0.498291	2835305.8	99.633522	GT
D8		rs1801131 UNKNOWN	0.3993345	0.5166867	2820656.5	99.347946	GT
D9		rs1801131 UNKNOWN	0.1943663	0.6074257	2869453.8	98.902306	TT

D10	rs1801131	UNKNOWN	0.3875627	0.5271417	2820814.3	99.226097	GT	
D11	rs1801131	UNKNOWN	0.4601075	0.1896352	2856734.5	99.881432	GG	
D12	rs1801131	UNKNOWN	0.3764142	0.5029359	2798259.5	99.595604	GT	
E1	rs1801131	UNKNOWN	0.4429307	0.1938818	3174402.5	99.844101	GG	
E2	rs1801131	UNKNOWN	0.4561783	0.1881582	3001527.5	99.915413	GG	
E3	rs1801131	UNKNOWN	0.3954468	0.5105908	3109979.5	99.43351	GT	
E4	rs1801131	UNKNOWN	0.1577276	0.5114422	3053847.3	99.921326	TT	
E5	rs1801131	UNKNOWN	0.3396325	0.4350779	3055620.3	99.960266	GT	
E6	rs1801131	UNKNOWN	0.16606	0.5444037	2730257.5	99.965637	TT	
E7	rs1801131	UNKNOWN	0.1593167	0.5162801	2753502.3	99.942421	TT	
E8	rs1801131	UNKNOWN	0.3434489	0.4200597	2849464.3	99.611992	GT	
E9	rs1801131	UNKNOWN	0.1546675	0.5020672	2878495.8	99.859055	TT	
E10	rs1801131	UNKNOWN	0.1527944	0.5005727	2883663.8	99.836662	TT	
E11	rs1801131	UNKNOWN	0.2921536	0.3783897	2949383	99.61158	GT	
E12	rs1801131	UNKNOWN	0.3288077	0.168614	2784774.3	97.778862	GG	
F1	rs1801131	UNKNOWN	0.2790311	0.385561	3087745.5	99.443726	GT	
F2	rs1801131	UNKNOWN	0.1447899	0.4600044	2969223	99.310333	TT	
F3	rs1801131	UNKNOWN	0.3116328	0.4187613	2939898	99.898819	GT	
F4	rs1801131	UNKNOWN	0.3013068	0.3905741	2895188.8	99.752823	GT	
F5	rs1801131	UNKNOWN	0.3345868	0.4123242	2924044.8	99.649696	GT	
F6	rs1801131	UNKNOWN	0.3150345	0.3689355	2872371.3	98.458771	GT	
F7	rs1801131	UNKNOWN	0.3158803	0.4003674	2881765	99.768166	GT	
F8	rs1801131	UNKNOWN	0.1648206	0.5506667	2734981.8	99.976357	TT	
F9	rs1801131	UNKNOWN	0.1661735	0.5538188	2726185.5	99.960175	TT	
F10	rs1801131	UNKNOWN	0.1277103	0.3666008	2886832.3	96.655777	TT	
F11	rs1801131	UNKNOWN	0.3374417	0.4394943	2837051.5	99.997177	GT	
F12	rs1801131	UNKNOWN	0.11507	0.2192384	2785852.8	16.346416		0
G1	rs1801131	UNKNOWN	0.1556584	0.5391367	2999185.3	99.969971	TT	
G2	rs1801131	UNKNOWN	0.3915063	0.1734436	2804244	99.541779	GG	
G3	rs1801131	UNKNOWN	0.2590045	0.3504088	2889962	99.109116	GT	
G4	rs1801131	UNKNOWN	0.2523697	0.3403065	2934800.5	98.936691	GT	
G5	rs1801131	UNKNOWN	0.1541379	0.5148861	2939273.3	99.923447	TT	
G6	rs1801131	UNKNOWN	0.4120562	0.1589704	2870575	99.623085	GG	
G7	rs1801131	UNKNOWN	0.1564472	0.5344059	2922393.5	99.981728	TT	
G8	rs1801131	UNKNOWN	0.3099019	0.3985199	2700230	99.809494	GT	
G9	rs1801131	UNKNOWN	0.3184547	0.4109011	2804620.5	99.905441	GT	
G10	rs1801131	UNKNOWN	0.1550039	0.5269997	2762079	99.96257	TT	
G11	rs1801131	UNKNOWN	0.1582135	0.5370834	2775979.8	99.994286	TT	
G12	rs1801131	UNKNOWN	0.3270169	0.4269504	2822106.5	99.985077	GT	
H1	rs1801131	UNKNOWN	0.1090792	0.1655116	2769393.8	13.369685		0
H2	rs1801131	UNKNOWN	0.1597035	0.5343546	2815110	99.99733	TT	
H3	rs1801131	UNKNOWN	0.1637694	0.542336	2913172.5	99.987862	TT	
H4	rs1801131	UNKNOWN	0.3089148	0.3904089	2840381	99.659508	GT	
H5	rs1801131	UNKNOWN	0.3276353	0.4245368	2931039	99.971474	GT	
H6	rs1801131	UNKNOWN	0.1542704	0.5130658	2639960.8	99.917503	TT	
H7	rs1801131	UNKNOWN	0.2992465	0.4205146	2943121.3	99.535767	GT	
H8	rs1801131	UNKNOWN	0.2904038	0.4002442	2651418	99.609245	GT	
H9	rs1801131	UNKNOWN	0.1556198	0.5367659	2863733.3	99.971947	TT	
H10	rs1801131	UNKNOWN	0.325584	0.4227641	2758138	99.969002	GT	
H11	rs1801131	UNKNOWN	0.104511	0.173555	2683970.5	8.2157879		0
H12	rs1801131	UNKNOWN	0.1098376	0.1620595	2792220.3	2.3708804		0

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801131_GLAU2.edc
 Experiment 2011-10-17 16:41:01 PM MDT
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1	rs1801131	UNKNOWN	0.1588075	0.5523214	2925618.3	99.970261	TT
A2	rs1801131	UNKNOWN	0.2970903	0.4263546	2742775.5	98.154533	GT
A3	rs1801131	UNKNOWN	0.4175073	0.1805816	2772874	99.972183	GG
A4	rs1801131	UNKNOWN	0.1532444	0.5381452	2694556.5	99.798843	TT
A5	rs1801131	UNKNOWN	0.3965838	0.215151	2650469.3	98.320824	GG
A6	rs1801131	UNKNOWN	0.154668	0.5459688	2667010.8	99.885399	TT
A7	rs1801131	UNKNOWN	0.1450207	0.5238185	2625104.5	99.247696	TT
A8							
A9	rs1801131	UNKNOWN	0.1605152	0.5445022	2594271.8	99.9729	TT
A10	rs1801131	UNKNOWN	0.3480021	0.455002	2677527.8	99.787262	GT
A11	rs1801131	UNKNOWN	0.1576516	0.5552791	2642662.8	99.943832	TT
A12	rs1801131	UNKNOWN	0.3224987	0.4306228	2725686.3	99.742027	GT
B1	rs1801131	UNKNOWN	0.424936	0.1934626	2978115	99.894562	GG
B2	rs1801131	UNKNOWN	0.3502209	0.4637409	2865843.5	99.565163	GT
B3	rs1801131	UNKNOWN	0.1792247	0.581683	2847862.5	99.35421	TT
B4	rs1801131	UNKNOWN	0.3424822	0.4400396	2800158.3	99.970436	GT
B5	rs1801131	UNKNOWN	0.4177272	0.1767841	2843955.3	99.958611	GG
B6	rs1801131	UNKNOWN	0.3301319	0.4215663	2833601	99.762749	GT
B7	rs1801131	UNKNOWN	0.1361627	0.4704536	2812667.3	96.485229	TT
B8	rs1801131	UNKNOWN	0.3085133	0.4043986	2764847.5	98.623184	GT
B9	rs1801131	UNKNOWN	0.1603162	0.5447984	2685718.8	99.973045	TT
B10	rs1801131	UNKNOWN	0.3321699	0.3986032	2860252.3	98.851807	GT
B11	rs1801131	UNKNOWN	0.3322567	0.4482776	2785722	99.909554	GT
B12	rs1801131	UNKNOWN	0.1556962	0.5386112	2735316.3	99.864128	TT
C1	rs1801131	UNKNOWN	0.1645973	0.5719046	3157340	99.827896	TT
C2	rs1801131	UNKNOWN	0.1171729	0.1662581	3006462.8	0.9349177	
C3	rs1801131	UNKNOWN	0.1665439	0.5674143	2988013.3	99.887535	TT
C4	rs1801131	UNKNOWN	0.3416217	0.4367564	2897079.3	99.966583	GT
C5	rs1801131	UNKNOWN	0.1610663	0.543603	2631449	99.970833	TT
C6	rs1801131	UNKNOWN	0.1600208	0.5340406	2786078	99.868904	TT
C7	rs1801131	UNKNOWN	0.4248218	0.1760053	2894166.8	99.966782	GG
C8	rs1801131	UNKNOWN	0.3422969	0.4340465	2862770.5	99.936424	GT
C9	rs1801131	UNKNOWN	0.3365224	0.4333609	2751760.5	99.970993	GT
C10	rs1801131	UNKNOWN	0.4316139	0.1787512	2796562	99.867996	GG
C11	rs1801131	UNKNOWN	0.3421129	0.4590673	2799179.8	99.775963	GT
C12	rs1801131	UNKNOWN	0.3559554	0.4816752	2751733.3	98.794136	GT
D1	rs1801131	UNKNOWN	0.3480442	0.461967	3086368.3	99.649025	GT
D2	rs1801131	UNKNOWN	0.3452327	0.4571238	3020148.3	99.792244	GT
D3	rs1801131	UNKNOWN	0.1730568	0.5659486	3096338.3	99.799065	TT
D4	rs1801131	UNKNOWN	0.1704113	0.5582635	2930742.8	99.912529	TT
D5	rs1801131	UNKNOWN	0.340548	0.4458768	2955086.5	99.973747	GT
D6	rs1801131	UNKNOWN	0.3425468	0.4491268	2892984.5	99.934196	GT
D7	rs1801131	UNKNOWN	0.1650253	0.5550734	2849798.3	99.990662	TT
D8	rs1801131	UNKNOWN	0.4367394	0.1731583	2851691.5	99.657402	GG
D9	rs1801131	UNKNOWN	0.3429515	0.4473373	2830155.3	99.9459	GT

D10	rs1801131	UNKNOWN	0.163747	0.5812714	2831781.3	99.631813	TT
D11	rs1801131	UNKNOWN	0.1714825	0.5664247	2867070.3	99.830826	TT
D12	rs1801131	UNKNOWN	0.3481227	0.4596171	2627491.3	99.700775	GT
E1	rs1801131	UNKNOWN	0.3316638	0.4660205	3225943	99.478561	GT
E2	rs1801131	UNKNOWN	0.1781132	0.5554286	2981638	99.672882	TT
E3	rs1801131	UNKNOWN	0.1757356	0.5600373	3126685	99.758896	TT
E4	rs1801131	UNKNOWN	0.1735381	0.5642148	3078715	99.801979	TT
E5	rs1801131	UNKNOWN	0.3428175	0.4272163	3042217	99.82666	GT
E6	rs1801131	UNKNOWN	0.1721684	0.5617493	2747528.5	99.855438	TT
E7	rs1801131	UNKNOWN	0.1697351	0.5530698	2757746.5	99.93531	TT
E8	rs1801131	UNKNOWN	0.3345665	0.4252623	2877068.5	99.858894	GT
E9	rs1801131	UNKNOWN	0.357263	0.4449724	2833107	99.584457	GT
E10	rs1801131	UNKNOWN	0.3508138	0.4437828	2827040.8	99.808571	GT
E11	rs1801131	UNKNOWN	0.1734544	0.5749598	2912680.3	99.666023	TT
E12	rs1801131	UNKNOWN	0.1746826	0.5741395	2695742	99.647896	TT
F1	rs1801131	UNKNOWN	0.1729115	0.581143	3118259.5	99.553719	TT
F2	rs1801131	UNKNOWN	0.3511742	0.4335948	2946858	99.72702	GT
F3	rs1801131	UNKNOWN	0.3613994	0.4621449	2956792.8	99.235657	GT
F4	rs1801131	UNKNOWN	0.4468599	0.1777206	2929421.3	99.153534	GG
F5	rs1801131	UNKNOWN	0.1653035	0.5428082	2921135.8	99.956192	TT
F6	rs1801131	UNKNOWN	0.1086212	0.1418376	2736287.3	0.255254	
F7	rs1801131	UNKNOWN	0.3459545	0.4149589	2863663.8	99.398293	GT
F8	rs1801131	UNKNOWN	0.1638155	0.547546	2757286.8	99.992081	TT
F9	rs1801131	UNKNOWN	0.1719726	0.5639306	2714647.3	99.843834	TT
F10	rs1801131	UNKNOWN	0.3216141	0.4108833	2871172	99.329231	GT
F11	rs1801131	UNKNOWN	0.1668172	0.5622401	2881749.5	99.939644	TT
F12	rs1801131	UNKNOWN	0.3284108	0.4532893	2766406.8	99.747025	GT
G1	rs1801131	UNKNOWN	0.3263299	0.4388843	3017217.8	99.862877	GT
G2	rs1801131	UNKNOWN	0.3367773	0.4585761	2887858	99.775368	GT
G3	rs1801131	UNKNOWN	0.3220312	0.4466653	3010791	99.654053	GT
G4	rs1801131	UNKNOWN	0.1631545	0.547915	2933431	99.994583	TT
G5	rs1801131	UNKNOWN	0.3386231	0.4217395	3035290	99.759087	GT
G6	rs1801131	UNKNOWN	0.3343872	0.4149567	2876881.3	99.586525	GT
G7	rs1801131	UNKNOWN	0.4250726	0.175874	2909703	99.963745	GG
G8	rs1801131	UNKNOWN	0.1525944	0.5546253	2885753.3	99.819099	TT
G9	rs1801131	UNKNOWN	0.1494793	0.5468418	2731595.8	99.712433	TT
G10	rs1801131	UNKNOWN	0.1687365	0.5641046	2733344	99.901787	TT
G11	rs1801131	UNKNOWN	0.4054817	0.1685152	2768877.5	99.506149	GG
G12	rs1801131	UNKNOWN	0.4126586	0.1800343	2772067.8	99.880638	GG
H1	rs1801131	UNKNOWN	0.1380451	0.486967	2809148	97.530991	TT
H2	rs1801131	UNKNOWN	0.1660674	0.5516849	2813830.3	99.986961	TT
H3	rs1801131	UNKNOWN	0.1677709	0.5498527	2931994.5	99.964157	TT
H4	rs1801131	UNKNOWN	0.3202856	0.4361221	2862520.5	99.67572	GT
H5	rs1801131	UNKNOWN	0.1595827	0.5381296	2975335.3	99.915817	TT
H6	rs1801131	UNKNOWN	0.1550088	0.5210946	2862280.8	99.562279	TT
H7	rs1801131	UNKNOWN	0.1815644	0.5978897	2950302	98.804771	TT
H8	rs1801131	UNKNOWN	0.1522846	0.5132832	2866467	99.290924	TT
H9	rs1801131	UNKNOWN	0.1601226	0.5513055	2840716.3	99.986206	TT
H10	rs1801131	UNKNOWN	0.3241211	0.4272421	2729060.3	99.757599	GT
H11	rs1801131	UNKNOWN	0.1032362	0.1675195	2642347	2.2639265	
H12	rs1801131	UNKNOWN	0.1085374	0.157093	2725922.5	0.2189982	

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801131_GLAU3.ed
 Experiment 2011-10-17 16:47:25 PM MDT
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay	Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs1801131	UNKNOWN	0.164392	0.5605751	2904368.8	99.962799	TT
A2		rs1801131	UNKNOWN	0.4187377	0.1828116	2758900.8	99.762344	GG
A3		rs1801131	UNKNOWN	0.1652391	0.5561801	2779727	99.989525	TT
A4		rs1801131	UNKNOWN	0.3304927	0.444449	2660536.5	99.90062	GT
A5		rs1801131	UNKNOWN	0.1169128	0.5596448	2681441.5	96.013618	TT
A6		rs1801131	UNKNOWN	0.1509438	0.5232503	2712539.8	98.443733	TT
A7		rs1801131	UNKNOWN	0.3130358	0.4270761	2549507.5	99.541023	GT
A8								
A9		rs1801131	UNKNOWN	0.159115	0.5621056	2697164	99.850304	TT
A10		rs1801131	UNKNOWN	0.3327515	0.4404615	2661608.5	99.963226	GT
A11		rs1801131	UNKNOWN	0.1705684	0.5725616	2692097.3	99.717186	TT
A12		rs1801131	UNKNOWN	0.1562876	0.5318324	2533533.3	99.188545	TT
B1		rs1801131	UNKNOWN	0.1658399	0.5568306	2977800.8	99.993385	TT
B2		rs1801131	UNKNOWN	0.3352764	0.4227023	2710124.5	99.837837	GT
B3		rs1801131	UNKNOWN	0.160287	0.5261638	2715692.5	99.012207	TT
B4		rs1801131	UNKNOWN	0.1696078	0.5651498	2845406.5	99.912933	TT
B5		rs1801131	UNKNOWN	0.1170039	0.1612675	2879315	3.3248365	
B6		rs1801131	UNKNOWN	0.1601796	0.5495774	2864143.5	99.86261	TT
B7		rs1801131	UNKNOWN	0.159319	0.5491868	2841061	99.834854	TT
B8		rs1801131	UNKNOWN	0.4291856	0.1740986	2779746.5	100	GG
B9		rs1801131	UNKNOWN	0.1684069	0.5585821	2831838.3	99.993294	TT
B10		rs1801131	UNKNOWN	0.1691284	0.5634708	2871356.8	99.94294	TT
B11		rs1801131	UNKNOWN	0.3506714	0.4601794	2690358	99.876701	GT
B12		rs1801131	UNKNOWN	0.1658787	0.5487686	2778742.5	99.93985	TT
C1		rs1801131	UNKNOWN	0.1581218	0.5516365	3181022.5	99.829369	TT
C2		rs1801131	UNKNOWN	0.1740703	0.562233	3030959.8	99.900688	TT
C3		rs1801131	UNKNOWN	0.1615554	0.5546603	3021030	99.935806	TT
C4		rs1801131	UNKNOWN	0.3401058	0.4328499	2953462.3	99.948677	GT
C5		rs1801131	UNKNOWN	0.3385836	0.4322561	2866697.3	99.953178	GT
C6		rs1801131	UNKNOWN	0.3335369	0.4318632	2888282.8	99.958519	GT
C7		rs1801131	UNKNOWN	0.1631838	0.5471068	2887659.3	99.883331	TT
C8		rs1801131	UNKNOWN	0.4332096	0.1731081	2847265.3	99.970993	GG
C9		rs1801131	UNKNOWN	0.4246935	0.17376	2833113	99.964363	GG
C10		rs1801131	UNKNOWN	0.3361099	0.4598948	2786470.8	99.771584	GT
C11		rs1801131	UNKNOWN	0.1834335	0.5733473	2728403.3	99.323517	TT
C12		rs1801131	UNKNOWN	0.3537263	0.4721936	2712433	99.681694	GT
D1		rs1801131	UNKNOWN	0.1676515	0.5536156	3057103	99.99379	TT
D2		rs1801131	UNKNOWN	0.3479522	0.4617117	3082834.8	99.864159	GT
D3		rs1801131	UNKNOWN	0.3455472	0.4379875	3103676	99.94236	GT
D4		rs1801131	UNKNOWN	0.1757594	0.565481	2941192	99.812317	TT
D5		rs1801131	UNKNOWN	0.1729404	0.5626649	2987116.8	99.915176	TT
D6		rs1801131	UNKNOWN	0.4301423	0.1738643	2917034	99.99836	GG
D7		rs1801131	UNKNOWN	0.1643518	0.5522513	2865109.3	99.965538	TT
D8		rs1801131	UNKNOWN	0.1720367	0.5540475	2869583.3	99.968781	TT
D9		rs1801131	UNKNOWN	0.1708166	0.5668199	2902196.5	99.870407	TT

D10	rs1801131	UNKNOWN	0.1560214	0.5567162	2827169.5	99.782402	TT
D11	rs1801131	UNKNOWN	0.1785821	0.5740876	2862582.5	99.49324	TT
D12	rs1801131	UNKNOWN	0.1747381	0.5672052	2836959.5	99.800293	TT
E1	rs1801131	UNKNOWN	0.1765269	0.5721503	3183743.5	99.621567	TT
E2	rs1801131	UNKNOWN	0.3561854	0.4595596	3005320.8	99.826935	GT
E3	rs1801131	UNKNOWN	0.1727857	0.547084	3090061.8	99.88282	TT
E4	rs1801131	UNKNOWN	0.34355	0.4399542	3112059.5	99.978294	GT
E5	rs1801131	UNKNOWN	0.340756	0.4289418	3107606	99.889587	GT
E6	rs1801131	UNKNOWN	0.1754117	0.5686405	2794990.8	99.750832	TT
E7	rs1801131	UNKNOWN	0.3538095	0.4474785	2818472	99.875145	GT
E8	rs1801131	UNKNOWN	0.3592763	0.4464721	2884402.3	99.736473	GT
E9	rs1801131	UNKNOWN	0.3348617	0.4491782	2789138	99.923782	GT
E10	rs1801131	UNKNOWN	0.3550745	0.4501451	2883006	99.861031	GT
E11	rs1801131	UNKNOWN	0.3568638	0.4692983	2820591.5	99.714935	GT
E12	rs1801131	UNKNOWN	0.1673021	0.5591908	2680464.5	99.990189	TT
F1	rs1801131	UNKNOWN	0.4271924	0.1858505	3068562.3	99.907036	GG
F2	rs1801131	UNKNOWN	0.3453944	0.4478775	2939282.3	99.980347	GT
F3	rs1801131	UNKNOWN	0.3471463	0.4358757	2881863	99.894409	GT
F4	rs1801131	UNKNOWN	0.337741	0.4462487	2919728.5	99.98053	GT
F5	rs1801131	UNKNOWN	0.3617714	0.4308819	2937505.3	99.342003	GT
F6	rs1801131	UNKNOWN	0.1719321	0.5518185	2878656	99.956467	TT
F7	rs1801131	UNKNOWN	0.3410327	0.4377771	2866159.3	99.983475	GT
F8	rs1801131	UNKNOWN	0.1672019	0.5494787	2749433.8	99.955605	TT
F9	rs1801131	UNKNOWN	0.1693785	0.5517932	2730265.8	99.978188	TT
F10	rs1801131	UNKNOWN	0.3401871	0.4475612	2884370.8	99.985954	GT
F11	rs1801131	UNKNOWN	0.3577365	0.4625447	2889792.3	99.782791	GT
F12	rs1801131	UNKNOWN	0.342394	0.4561544	2867674.8	99.919037	GT
G1	rs1801131	UNKNOWN	0.1669832	0.5592469	2924887.5	99.989227	TT
G2	rs1801131	UNKNOWN	0.1684309	0.547217	2884173	99.921333	TT
G3	rs1801131	UNKNOWN	0.3375625	0.4326723	2960273	99.962212	GT
G4	rs1801131	UNKNOWN	0.3213682	0.4242803	2929488	99.787254	GT
G5	rs1801131	UNKNOWN	0.3063028	0.37124	3030485	97.992355	GT
G6	rs1801131	UNKNOWN	0.1603856	0.5216181	2854823.3	98.725677	TT
G7	rs1801131	UNKNOWN	0.1613554	0.5368236	2927768	99.558517	TT
G8	rs1801131	UNKNOWN	0.3263533	0.4139186	2696164	99.698517	GT
G9	rs1801131	UNKNOWN	0.1598995	0.5618423	2742185.5	99.873055	TT
G10	rs1801131	UNKNOWN	0.3107646	0.4227908	2744649.8	99.476234	GT
G11	rs1801131	UNKNOWN	0.3486924	0.4578789	2832992.3	99.908501	GT
G12	rs1801131	UNKNOWN	0.322534	0.4390535	2745180.8	99.76136	GT
H1	rs1801131	UNKNOWN	0.3486092	0.4799268	2773921.5	99.461807	GT
H2	rs1801131	UNKNOWN	0.1826274	0.5734952	2823210	99.355682	TT
H3	rs1801131	UNKNOWN	0.1630845	0.5318578	2928585.8	99.376587	TT
H4	rs1801131	UNKNOWN	0.1753995	0.5697365	2819379.5	99.72226	TT
H5	rs1801131	UNKNOWN	0.1146833	0.1630078	2963546.8	0	
H6	rs1801131	UNKNOWN	0.35604	0.4600985	2900994	99.825577	GT
H7	rs1801131	UNKNOWN	0.3698366	0.5083817	2958061.5	98.505417	GT
H8	rs1801131	UNKNOWN	0.4349912	0.1790494	2789795.3	99.924629	GG
H9	rs1801131	UNKNOWN	0.1946182	0.5943397	2861401.8	97.458893	TT
H10	rs1801131	UNKNOWN	0.2673585	0.3572899	2733445.3	96.408531	GT
H11	rs1801131	UNKNOWN	0.1053826	0.1690958	2663763.5	0.7667237	
H12	rs1801131	UNKNOWN	0.1101477	0.1587975	2758913	0.0083776	

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801131_GLAU4.eda
 Experiment 2011-10-17 16:54:20 PM MDT
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay	Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs1801131	UNKNOWN	0.1481686	0.5397685	2832179	99.909004	TT
A2		rs1801131	UNKNOWN	0.3283681	0.4208083	2737020.3	99.977585	GT
A3		rs1801131	UNKNOWN	0.1578142	0.5411597	2755068.3	99.994713	TT
A4								
A5								
A6								
A7								
A8								
A9								
A10								
A11								
A12								
B1		rs1801131	UNKNOWN	0.302496	0.4205621	2968374.3	99.500671	GT
B2		rs1801131	UNKNOWN	0.1506578	0.5241861	2822886.8	99.905762	TT
B3		rs1801131	UNKNOWN	0.1643266	0.5571906	2871170.5	99.854698	TT
B4								
B5								
B6								
B7								
B8								
B9								
B10								
B11								
B12								
C1		rs1801131	UNKNOWN	0.3043945	0.4073034	3130854.8	99.717278	GT
C2		rs1801131	UNKNOWN	0.4113719	0.1778568	2989602	99.968521	GG
C3		rs1801131	UNKNOWN	0.1567609	0.5482632	3057918.8	99.984123	TT
C4								
C5								
C6								
C7								
C8								
C9								
C10								
C11								
C12								
D1		rs1801131	UNKNOWN	0.148012	0.5000814	3057384.5	99.541977	TT
D2		rs1801131	UNKNOWN	0.3356184	0.3967113	3090864	99.393204	GT
D3		rs1801131	UNKNOWN	0.1602875	0.5394838	3124338.3	99.969788	TT
D4								
D5								
D6								
D7								
D8								
D9								

D10							
D11							
D12							
E1	rs1801131	UNKNOWN	0.4135357	0.1845164	3160654.3	99.930267	GG
E2	rs1801131	UNKNOWN	0.3575721	0.4704458	3014492.8	98.476425	GT
E3	rs1801131	UNKNOWN	0.146165	0.4640163	3153028	98.484894	TT
E4							
E5							
E6							
E7							
E8							
E9							
E10							
E11							
E12							
F1	rs1801131	UNKNOWN	0.3916909	0.184299	3031746.5	99.95562	GG
F2	rs1801131	UNKNOWN	0.3201922	0.4222263	2968995.8	99.970802	GT
F3	rs1801131	UNKNOWN	0.3286824	0.4246232	2966058	99.967384	GT
F4							
F5							
F6							
F7							
F8							
F9							
F10							
F11							
F12							
G1	rs1801131	UNKNOWN	0.1604745	0.5621445	2916384.3	99.866364	TT
G2	rs1801131	UNKNOWN	0.3754133	0.1746916	2916879	99.975235	GG
G3	rs1801131	UNKNOWN	0.3237998	0.4150362	3034604	99.993683	GT
G4							
G5							
G6							
G7							
G8							
G9							
G10							
G11							
G12							
H1	rs1801131	UNKNOWN	0.2794004	0.1694915	2763635	69.258156	
H2	rs1801131	UNKNOWN	0.114206	0.1625234	2809569.3	0.0085552	
H3	rs1801131	UNKNOWN	0.1163716	0.165132	2963230.5	11.781651	
H4							
H5							
H6							
H7							
H8							
H9							
H10							
H11							
H12							

2) rs1801133

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801133_GLAU1.edc
 Experiment 2011-10-17 16:01:21 PM MDT
 Instrument sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay Task	Allele1 Δ Rn	Allele2 Δ Rn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1	rs1801133	UNKNOWN	0.4026893	0.5478998	2478496.3	99.436798	GA
A2	rs1801133	UNKNOWN	0.4235938	0.5703965	2559047.5	99.649849	GA
A3	rs1801133	UNKNOWN	0.4259845	0.5803763	2663513.5	99.70192	GA
A4	rs1801133	UNKNOWN	0.4088189	0.5739611	2679907.8	99.659149	GA
A5	rs1801133	UNKNOWN	0.2230434	0.6299039	2661284.8	96.452812	AA
A6	rs1801133	UNKNOWN	0.2898898	0.617146	2712085.5	100	AA
A7	rs1801133	UNKNOWN	0.4085339	0.5727631	2716889.5	99.654335	GA
A8							
A9	rs1801133	UNKNOWN	0.463487	0.2883483	2712996.5	99.714729	GG
A10	rs1801133	UNKNOWN	0.4602447	0.3103606	2654054.8	99.70916	GG
A11	rs1801133	UNKNOWN	0.2973361	0.6142468	2594081	100	AA
A12	rs1801133	UNKNOWN	0.4033931	0.5617315	2724048	99.569443	GA
B1	rs1801133	UNKNOWN	0.4089997	0.5649591	2967623	99.621971	GA
B2	rs1801133	UNKNOWN	0.4183961	0.577598	2864966.3	99.705704	GA
B3	rs1801133	UNKNOWN	0.3413244	0.5138382	2818947.3	97.436722	GA
B4	rs1801133	UNKNOWN	0.4601685	0.2769873	2771018.3	99.682312	GG
B5	rs1801133	UNKNOWN	0.4112038	0.5538191	2667105.3	99.519531	GA
B6	rs1801133	UNKNOWN	0.185236	0.5514352	2873189.3	93.314812	0
B7	rs1801133	UNKNOWN	0.4728085	0.2870934	2842409	99.692078	GG
B8	rs1801133	UNKNOWN	0.3035228	0.6099091	2707376.8	100	AA
B9	rs1801133	UNKNOWN	0.4205514	0.5750377	2833050	99.693069	GA
B10	rs1801133	UNKNOWN	0.4484484	0.6264022	2871269.3	99.441368	GA
B11	rs1801133	UNKNOWN	0.3885874	0.6488839	2808469.5	100	0
B12	rs1801133	UNKNOWN	0.4644994	0.3169065	2754812.3	99.68914	GG
C1	rs1801133	UNKNOWN	0.4407213	0.6005926	2941596.5	99.638939	GA
C2	rs1801133	UNKNOWN	0.3904316	0.6356805	2934301.3	100	0
C3	rs1801133	UNKNOWN	0.4686296	0.6258284	3008643	99.132301	GA
C4	rs1801133	UNKNOWN	0.469319	0.6137174	2919716.8	99.137161	GA
C5	rs1801133	UNKNOWN	0.4782406	0.3321363	2629804.3	99.595932	GG
C6	rs1801133	UNKNOWN	0.4655083	0.6145685	2861623.5	99.229416	GA
C7	rs1801133	UNKNOWN	0.4954596	0.3472202	2884576.5	99.417107	GG
C8	rs1801133	UNKNOWN	0.4908945	0.3386378	2826254	99.504593	GG
C9	rs1801133	UNKNOWN	0.4734694	0.6199825	2795826.8	99.029228	GA
C10	rs1801133	UNKNOWN	0.3739354	0.6473182	2804760	76.305855	0
C11	rs1801133	UNKNOWN	0.3902889	0.6568171	2781245.5	100	0
C12	rs1801133	UNKNOWN	0.4692352	0.6361867	2730417.5	99.052986	GA
D1	rs1801133	UNKNOWN	0.4644505	0.6142186	3014283.5	99.253395	GA
D2	rs1801133	UNKNOWN	0.4772114	0.6250481	3059229.5	98.919823	GA
D3	rs1801133	UNKNOWN	0.3920938	0.6493564	3102826.3	100	0
D4	rs1801133	UNKNOWN	0.5005834	0.3823514	2912306.3	99.016151	GG
D5	rs1801133	UNKNOWN	0.4874244	0.2859753	2967356.5	99.620735	GG
D6	rs1801133	UNKNOWN	0.4869466	0.4488077	2898822.8	81.86158	0
D7	rs1801133	UNKNOWN	0.4669418	0.6186952	2851430	99.192276	GA
D8	rs1801133	UNKNOWN	0.4821719	0.6206684	2827815	98.775116	GA
D9	rs1801133	UNKNOWN	0.4807011	0.6297838	2856384.5	98.807816	GA

D10	rs1801133	UNKNOWN	0.4922944	0.3992594	2801437.8	98.803375	GG	
D11	rs1801133	UNKNOWN	0.5030724	0.4166033	2857496	98.462227	GG	
D12	rs1801133	UNKNOWN	0.4494361	0.5844496	2607844.5	99.441681	GA	
E1	rs1801133	UNKNOWN	0.4844706	0.4073955	3150023.5	98.658752	GG	
E2	rs1801133	UNKNOWN	0.4948354	0.4025605	2954655	98.741356	GG	
E3	rs1801133	UNKNOWN	0.4782187	0.6218002	3136843	98.895554	GA	
E4	rs1801133	UNKNOWN	0.4067056	0.5327601	3039504.3	99.171814	GA	
E5	rs1801133	UNKNOWN	0.4356887	0.5886487	3086195.8	99.668518	GA	
E6	rs1801133	UNKNOWN	0.4260868	0.5735489	2757280.3	99.660057	GA	
E7	rs1801133	UNKNOWN	0.3948875	0.5547733	2747666.3	99.441086	GA	
E8	rs1801133	UNKNOWN	0.4294207	0.5749475	2808002	99.645866	GA	
E9	rs1801133	UNKNOWN	0.3832027	0.5507653	2818277.5	99.221306	GA	
E10	rs1801133	UNKNOWN	0.3844813	0.5390409	2853922	99.162033	GA	
E11	rs1801133	UNKNOWN	0.4383974	0.2548239	2895625.8	99.51326	GG	
E12	rs1801133	UNKNOWN	0.333798	0.1867302	2683733.5	97.010582	GG	
F1	rs1801133	UNKNOWN	0.4287775	0.2538148	3072536.5	99.464851	GG	
F2	rs1801133	UNKNOWN	0.4119352	0.2273224	2948111	99.040764	GG	
F3	rs1801133	UNKNOWN	0.4193874	0.5659762	2934225.5	99.630653	GA	
F4	rs1801133	UNKNOWN	0.4459979	0.2443043	2896634	99.425026	GG	
F5	rs1801133	UNKNOWN	0.4270628	0.5637316	2890754.3	99.552124	GA	
F6	rs1801133	UNKNOWN	0.3745252	0.5446774	2867330.8	98.981644	GA	
F7	rs1801133	UNKNOWN	0.4110156	0.5622011	2878744.5	99.607178	GA	
F8	rs1801133	UNKNOWN	0.4384762	0.5805615	2709125	99.591003	GA	
F9	rs1801133	UNKNOWN	0.3192131	0.6225472	2707016.5	100	AA	
F10	rs1801133	UNKNOWN	0.1494731	0.4904252	2890620	87.430412		0
F11	rs1801133	UNKNOWN	0.4423311	0.6107944	2926715.3	99.599548	GA	
F12	rs1801133	UNKNOWN	0.1462792	0.1294088	2695166.3	15.004306		0
G1	rs1801133	UNKNOWN	0.4061444	0.5885504	3037070	99.607704	GA	
G2	rs1801133	UNKNOWN	0.4427706	0.2740003	2886840.3	99.651489	GG	
G3	rs1801133	UNKNOWN	0.4044215	0.2124238	3196760.5	98.718575	GG	
G4	rs1801133	UNKNOWN	0.3783852	0.2002737	2923118	98.157974	GG	
G5	rs1801133	UNKNOWN	0.400472	0.538184	2799221.8	99.288124	GA	
G6	rs1801133	UNKNOWN	0.4571807	0.2390262	2842413	99.365463	GG	
G7	rs1801133	UNKNOWN	0.4095861	0.5626367	2915663.8	99.607613	GA	
G8	rs1801133	UNKNOWN	0.4113522	0.5649824	2891304	99.629379	GA	
G9	rs1801133	UNKNOWN	0.4544975	0.2870598	2806119.8	99.713776	GG	
G10	rs1801133	UNKNOWN	0.4537964	0.280255	2782391.3	99.695107	GG	
G11	rs1801133	UNKNOWN	0.414355	0.5796201	2850419.3	99.700546	GA	
G12	rs1801133	UNKNOWN	0.4661907	0.3214005	2896623.8	99.670372	GG	
H1	rs1801133	UNKNOWN	0.0716383	0.1180305	2583245.8	3.6048021		0
H2	rs1801133	UNKNOWN	0.3006157	0.6050777	2769856.8	100	AA	
H3	rs1801133	UNKNOWN	0.4625809	0.2975699	2846432.3	99.725021	GG	
H4	rs1801133	UNKNOWN	0.4482889	0.2655974	2847951	99.617424	GG	
H5	rs1801133	UNKNOWN	0.4551432	0.2854762	2719999.3	99.710823	GG	
H6	rs1801133	UNKNOWN	0.2812999	0.604142	2833652.3	100	AA	
H7	rs1801133	UNKNOWN	0.4466	0.2788863	2908296	99.680161	GG	
H8	rs1801133	UNKNOWN	0.3919787	0.5577458	2830175	99.415024	GA	
H9	rs1801133	UNKNOWN	0.4131447	0.5743577	2806661.3	99.683563	GA	
H10	rs1801133	UNKNOWN	0.4197981	0.5851984	2765484	99.722015	GA	
H11	rs1801133	UNKNOWN	0.0656637	0.1254411	2641222	0.2175319		0
H12	rs1801133	UNKNOWN	0.0736279	0.1129752	2791860.5	6.5473223		0

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801133_GLAU2.ed
 Experiment 2011-10-17 16:08:10 PM MDT
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1	rs1801133	UNKNOWN	0.454549	0.3178187	2845095.3	99.635056	GG
A2	rs1801133	UNKNOWN	0.3892027	0.5658864	2753170.5	97.810455	GA
A3	rs1801133	UNKNOWN	0.4523535	0.2933765	2603855.5	99.68663	GG
A4	rs1801133	UNKNOWN	0.4080561	0.5697538	2699461	99.609962	GA
A5	rs1801133	UNKNOWN	0.4347842	0.298794	2699274	98.644867	GG
A6	rs1801133	UNKNOWN	0.4201722	0.5708705	2706916.5	99.910095	GA
A7	rs1801133	UNKNOWN	0.2548692	0.6045627	2707444	97.784927	AA
A8	rs1801133	UNKNOWN	0.4034818	0.7339266	2664849.5	100	
A9	rs1801133	UNKNOWN	0.3091788	0.6222	2697259.3	99.904861	AA
A10	rs1801133	UNKNOWN	0.4696343	0.3325663	2655537.3	99.350861	GG
A11	rs1801133	UNKNOWN	0.4236315	0.5945446	2563258	99.698753	GA
A12	rs1801133	UNKNOWN	0.4137509	0.5829681	2720227.3	99.585739	GA
B1	rs1801133	UNKNOWN	0.4737101	0.3533404	2898209.8	98.317818	GG
B2	rs1801133	UNKNOWN	0.4388176	0.6042899	2889068.5	99.752029	GA
B3	rs1801133	UNKNOWN	0.3455988	0.6344447	2849165	99.815796	AA
B4	rs1801133	UNKNOWN	0.4721269	0.2964705	2799374	99.972885	GG
B5	rs1801133	UNKNOWN	0.4640305	0.2643916	2863449.8	99.437202	GG
B6	rs1801133	UNKNOWN	0.4206626	0.5719669	2848043.5	99.925751	GA
B7	rs1801133	UNKNOWN	0.4566265	0.2548209	2849133.5	98.861053	GG
B8	rs1801133	UNKNOWN	0.404627	0.5590757	2800308	99.52549	GA
B9	rs1801133	UNKNOWN	0.3256345	0.6377823	2854182.5	99.995285	AA
B10	rs1801133	UNKNOWN	0.4123398	0.5735213	2848638	99.762436	GA
B11	rs1801133	UNKNOWN	0.4287259	0.5884511	2780654.5	99.982796	GA
B12	rs1801133	UNKNOWN	0.4120666	0.5754169	2715988.8	99.713722	GA
C1	rs1801133	UNKNOWN	0.4277205	0.6032074	3041737.3	99.505707	GA
C2	rs1801133	UNKNOWN	0.0787479	0.1152524	3012926.5	1.5754318	
C3	rs1801133	UNKNOWN	0.4359426	0.5944651	3029931.5	99.909546	GA
C4	rs1801133	UNKNOWN	0.4712416	0.2996858	2932052	99.975182	GG
C5	rs1801133	UNKNOWN	0.4407359	0.5977945	2820570.3	99.803032	GA
C6	rs1801133	UNKNOWN	0.4132707	0.5591744	2832042.8	99.665474	GA
C7	rs1801133	UNKNOWN	0.4690299	0.2695065	2863671.3	99.640541	GG
C8	rs1801133	UNKNOWN	0.4295262	0.5808331	2859662	99.94648	GA
C9	rs1801133	UNKNOWN	0.4346818	0.5856717	2791676.8	99.883934	GA
C10	rs1801133	UNKNOWN	0.4711207	0.3257839	2744465.8	99.546089	GG
C11	rs1801133	UNKNOWN	0.4759398	0.3109884	2752129.5	99.779472	GG
C12	rs1801133	UNKNOWN	0.4509445	0.6285106	2663676.8	98.864052	GA
D1	rs1801133	UNKNOWN	0.4448959	0.6035058	3005677.5	99.668251	GA
D2	rs1801133	UNKNOWN	0.4384751	0.6049221	3055645.8	99.735825	GA
D3	rs1801133	UNKNOWN	0.3250324	0.6319406	3075404.5	99.999962	AA
D4	rs1801133	UNKNOWN	0.4356749	0.5871132	2901142.8	99.874512	GA
D5	rs1801133	UNKNOWN	0.4771346	0.2869493	2952485	99.85778	GG
D6	rs1801133	UNKNOWN	0.4382674	0.5794815	2908155.8	99.506645	GA
D7	rs1801133	UNKNOWN	0.3006465	0.6306325	2860990.5	99.72187	AA
D8	rs1801133	UNKNOWN	0.4822944	0.2838898	2876392.3	99.687256	GG
D9	rs1801133	UNKNOWN	0.4810797	0.2968974	2868290.3	99.763275	GG

D10	rs1801133	UNKNOWN	0.438252	0.6094739	2767891.8	99.586128	GA	
D11	rs1801133	UNKNOWN	0.3347547	0.6288112	2850515.8	99.943527	AA	
D12	rs1801133	UNKNOWN	0.4334359	0.5850254	2572871.8	99.912178	GA	
E1	rs1801133	UNKNOWN	0.4327854	0.5961165	3136897.5	99.902664	GA	
E2	rs1801133	UNKNOWN	0.4291304	0.5906424	2896593.3	99.961449	GA	
E3	rs1801133	UNKNOWN	0.4460322	0.5854945	3072284	99.198929	GA	
E4	rs1801133	UNKNOWN	0.4439748	0.5890879	3073254.3	99.505867	GA	
E5	rs1801133	UNKNOWN	0.4362255	0.5732005	3077391.5	99.323677	GA	
E6	rs1801133	UNKNOWN	0.4398265	0.5808723	2742480.3	99.462509	GA	
E7	rs1801133	UNKNOWN	0.4307403	0.5807395	2744724.5	99.913773	GA	
E8	rs1801133	UNKNOWN	0.4201807	0.5675066	2816628	99.833359	GA	
E9	rs1801133	UNKNOWN	0.4453914	0.5986426	2846193.8	99.635277	GA	
E10	rs1801133	UNKNOWN	0.4766761	0.306647	2833080.5	99.821373	GG	
E11	rs1801133	UNKNOWN	0.4440489	0.6053182	2876636.3	99.675865	GA	
E12	rs1801133	UNKNOWN	0.3492916	0.6181553	2531844.8	99.593933	AA	
F1	rs1801133	UNKNOWN	0.3443853	0.6331449	3060254.5	99.830971	AA	
F2	rs1801133	UNKNOWN	0.472812	0.319976	2917693	99.669762	GG	
F3	rs1801133	UNKNOWN	0.4535708	0.6000235	2951270.5	99.148331	GA	
F4	rs1801133	UNKNOWN	0.4864674	0.3276412	2896857	98.929558	GG	
F5	rs1801133	UNKNOWN	0.4288591	0.5722682	2934193.8	99.727837	GA	
F6	rs1801133	UNKNOWN	0.4252907	0.5665959	2872939.8	99.641312	GA	
F7	rs1801133	UNKNOWN	0.4692683	0.2617184	2817538.3	99.40538	GG	
F8	rs1801133	UNKNOWN	0.428543	0.5754201	2756141.5	99.850327	GA	
F9	rs1801133	UNKNOWN	0.3235768	0.620393	2711232	99.977722	AA	
F10	rs1801133	UNKNOWN	0.4486021	0.2739484	2850323.5	99.175873	GG	
F11	rs1801133	UNKNOWN	0.4751736	0.3115554	2845236	99.788925	GG	
F12	rs1801133	UNKNOWN	0.4259163	0.5952846	2754298.8	99.770409	GA	
G1	rs1801133	UNKNOWN	0.4290384	0.5982752	2892733.8	99.774574	GA	
G2	rs1801133	UNKNOWN	0.4713051	0.3337496	2893362.5	99.280571	GG	
G3	rs1801133	UNKNOWN	0.4233825	0.5763898	2980853.8	99.970993	GA	
G4	rs1801133	UNKNOWN	0.4250024	0.5703924	2910916	99.80645	GA	
G5	rs1801133	UNKNOWN	0.4673298	0.276291	3000534.8	99.791702	GG	
G6	rs1801133	UNKNOWN	0.4694344	0.2522951	2860404	99.041786	GG	
G7	rs1801133	UNKNOWN	0.4673783	0.2806902	2947512.3	99.871597	GG	
G8	rs1801133	UNKNOWN	0.2924394	0.6151873	2885298	99.572746	AA	
G9	rs1801133	UNKNOWN	0.4125917	0.5852132	2784130.5	99.40361	GA	
G10	rs1801133	UNKNOWN	0.3265876	0.6048626	2703943.3	99.845139	AA	
G11	rs1801133	UNKNOWN	0.4529448	0.2734167	2784115.8	99.372086	GG	
G12	rs1801133	UNKNOWN	0.4658093	0.3177529	2842919	99.789803	GG	
H1	rs1801133	UNKNOWN	0.3613163	0.5320292	2733847.8	95.037308	GA	
H2	rs1801133	UNKNOWN	0.4630877	0.3241108	2784841.3	99.639687	GG	
H3	rs1801133	UNKNOWN	0.3207975	0.618965	2916834	99.974625	AA	
H4	rs1801133	UNKNOWN	0.4214513	0.564873	2827869.5	99.712898	GA	
H5	rs1801133	UNKNOWN	0.4192077	0.5719965	2954592.5	99.927612	GA	
H6	rs1801133	UNKNOWN	0.4050289	0.5454227	2853270	99.175636	GA	
H7	rs1801133	UNKNOWN	0.4535433	0.6252981	2972306.8	99.003113	GA	
H8	rs1801133	UNKNOWN	0.3856124	0.5478755	2852076	98.216492	GA	
H9	rs1801133	UNKNOWN	0.4628037	0.2885235	2829616.5	99.928024	GG	
H10	rs1801133	UNKNOWN	0.4570064	0.2765772	2745201.3	99.602821	GG	
H11	rs1801133	UNKNOWN	0.0658789	0.1255139	2664695.8	2.0324881		0
H12	rs1801133	UNKNOWN	0.0709684	0.1125044	2560865.8	0.0115628		0

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801133_GLAU3.ed
 Experiment 2011-10-17 16:16:18 PM MDT
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay	Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs1801133	UNKNOWN	0.4307036	0.5911496	2964258.5	99.361404	GA
A2		rs1801133	UNKNOWN	0.4680607	0.3502393	2759951.5	99.269478	GG
A3		rs1801133	UNKNOWN	0.4311639	0.5911237	2762747.5	99.366066	GA
A4		rs1801133	UNKNOWN	0.4692341	0.3179381	2702744.8	99.328407	GG
A5		rs1801133	UNKNOWN	0.3815425	0.5942563	2686457.5	83.749168	
A6		rs1801133	UNKNOWN	0.4511449	0.2627421	2732514.3	97.620049	GG
A7		rs1801133	UNKNOWN	0.4197182	0.5800111	2728861.3	98.997452	GA
A8								
A9		rs1801133	UNKNOWN	0.4349249	0.601869	2752733.5	99.328392	GA
A10		rs1801133	UNKNOWN	0.4280434	0.5962868	2718373	99.274406	GA
A11		rs1801133	UNKNOWN	0.3468806	0.6348846	2634830.3	99.25396	AA
A12		rs1801133	UNKNOWN	0.3298095	0.6343804	2794072	99.364082	AA
B1		rs1801133	UNKNOWN	0.4235584	0.5931745	3017827.5	99.147423	GA
B2		rs1801133	UNKNOWN	0.467744	0.3344498	2886266	99.365372	GG
B3		rs1801133	UNKNOWN	0.31377	0.6289713	2906666.5	99.121407	AA
B4		rs1801133	UNKNOWN	0.4787017	0.3282631	2843870.8	99.371857	GG
B5		rs1801133	UNKNOWN	0.4730996	0.3075586	2901303	99.240181	GG
B6		rs1801133	UNKNOWN	0.4213566	0.5765597	2730741	98.991508	GA
B7		rs1801133	UNKNOWN	0.4189096	0.5861198	2884564	98.981331	GA
B8		rs1801133	UNKNOWN	0.4747173	0.2971073	2783482.8	99.07798	GG
B9		rs1801133	UNKNOWN	0.3324158	0.6381627	2907058	99.354202	AA
B10		rs1801133	UNKNOWN	0.4454427	0.6139047	2905939.5	99.020889	GA
B11		rs1801133	UNKNOWN	0.4502336	0.6307112	2832300.8	98.198807	GA
B12		rs1801133	UNKNOWN	0.4314826	0.5875857	2795652.8	99.340096	GA
C1		rs1801133	UNKNOWN	0.4199143	0.5901961	3094274.5	99.001366	GA
C2		rs1801133	UNKNOWN	0.3380425	0.6282445	2964241	99.366898	AA
C3		rs1801133	UNKNOWN	0.4222503	0.5849988	2945145.5	99.135574	GA
C4		rs1801133	UNKNOWN	0.4651662	0.3144927	2900447.5	99.261734	GG
C5		rs1801133	UNKNOWN	0.4275025	0.5961629	2885933.5	99.258926	GA
C6		rs1801133	UNKNOWN	0.4244986	0.5824252	2917864	99.181572	GA
C7		rs1801133	UNKNOWN	0.3025557	0.6228455	2937620.8	98.746468	AA
C8		rs1801133	UNKNOWN	0.4782735	0.3028453	2899908.3	99.17363	GG
C9		rs1801133	UNKNOWN	0.4729458	0.302494	2868769.5	99.166542	GG
C10		rs1801133	UNKNOWN	0.4290769	0.6106668	2837733	98.876801	GA
C11		rs1801133	UNKNOWN	0.3667767	0.6465858	2836827.3	98.506241	AA
C12		rs1801133	UNKNOWN	0.4891125	0.3625011	2764772	98.906746	GG
D1		rs1801133	UNKNOWN	0.4717496	0.3445584	3031899	99.332321	GG
D2		rs1801133	UNKNOWN	0.4476143	0.6106136	3105826	99.052589	GA
D3		rs1801133	UNKNOWN	0.438479	0.5982355	3151771.8	99.364388	GA
D4		rs1801133	UNKNOWN	0.4905609	0.3377286	3005112.3	99.184067	GG
D5		rs1801133	UNKNOWN	0.3268098	0.6337724	3017723.8	99.34343	AA
D6		rs1801133	UNKNOWN	0.4833767	0.307149	2964422.3	99.200371	GG
D7		rs1801133	UNKNOWN	0.4319742	0.5872934	2871994	99.336693	GA
D8		rs1801133	UNKNOWN	0.3246734	0.6322081	2889565.5	99.326584	AA
D9		rs1801133	UNKNOWN	0.4503456	0.6070259	2947979.3	98.997322	GA

D10	rs1801133	UNKNOWN	0.4722747	0.328452	2871528.5	99.386154	GG	
D11	rs1801133	UNKNOWN	0.4477364	0.6074523	2963024	99.096153	GA	
D12	rs1801133	UNKNOWN	0.4790376	0.3604679	2851396	99.102592	GG	
E1	rs1801133	UNKNOWN	0.3583162	0.6288853	3159302	98.585411	AA	
E2	rs1801133	UNKNOWN	0.4859498	0.3581902	2953049.8	99.046501	GG	
E3	rs1801133	UNKNOWN	0.340253	0.6236157	3148926.3	99.322319	AA	
E4	rs1801133	UNKNOWN	0.4432278	0.5908012	3128326.5	99.168762	GA	
E5	rs1801133	UNKNOWN	0.4326591	0.5779156	3115834.5	99.081627	GA	
E6	rs1801133	UNKNOWN	0.3342726	0.6285523	2807122.5	99.385468	AA	
E7	rs1801133	UNKNOWN	0.4879371	0.3049441	2815089	99.117401	GG	
E8	rs1801133	UNKNOWN	0.4519747	0.5967703	2882267	98.833359	GA	
E9	rs1801133	UNKNOWN	0.438179	0.5959098	2923404.5	99.368164	GA	
E10	rs1801133	UNKNOWN	0.4513785	0.6128668	2962422.3	98.879913	GA	
E11	rs1801133	UNKNOWN	0.4594344	0.6236629	2977479.5	98.212479	GA	
E12	rs1801133	UNKNOWN	0.327521	0.6299567	2760483.8	99.363388	AA	
F1	rs1801133	UNKNOWN	0.4756958	0.3570867	3063610	99.181274	GG	
F2	rs1801133	UNKNOWN	0.4401849	0.5965294	2962271	99.337807	GA	
F3	rs1801133	UNKNOWN	0.4806631	0.3459458	3007019.5	99.278885	GG	
F4	rs1801133	UNKNOWN	0.4395577	0.5897045	2962325.3	99.270927	GA	
F5	rs1801133	UNKNOWN	0.4472064	0.5861406	2950569.5	98.813583	GA	
F6	rs1801133	UNKNOWN	0.4475295	0.5903744	2893332	98.944496	GA	
F7	rs1801133	UNKNOWN	0.443515	0.5772933	2906661.8	98.60955	GA	
F8	rs1801133	UNKNOWN	0.4396143	0.587459	2814541.8	99.217873	GA	
F9	rs1801133	UNKNOWN	0.3282749	0.6254902	2822913	99.371376	AA	
F10	rs1801133	UNKNOWN	0.4707404	0.3417091	2959341.5	99.350426	GG	
F11	rs1801133	UNKNOWN	0.4532703	0.6159247	2968934.5	98.736397	GA	
F12	rs1801133	UNKNOWN	0.4459305	0.6158337	2828897.8	98.952911	GA	
G1	rs1801133	UNKNOWN	0.4317985	0.5915433	2961782.3	99.372665	GA	
G2	rs1801133	UNKNOWN	0.3440218	0.6195307	2882506.3	99.18898	AA	
G3	rs1801133	UNKNOWN	0.4320197	0.5851504	2990264.3	99.300606	GA	
G4	rs1801133	UNKNOWN	0.4248106	0.5813977	2946747.3	99.172447	GA	
G5	rs1801133	UNKNOWN	0.4680656	0.2983048	2971009.3	99.061081	GG	
G6	rs1801133	UNKNOWN	0.426243	0.5575605	2883294.3	97.991821	GA	
G7	rs1801133	UNKNOWN	0.4450678	0.2839979	2969118.3	98.155174	GG	
G8	rs1801133	UNKNOWN	0.4179297	0.5750612	2925405.3	98.84317	GA	
G9	rs1801133	UNKNOWN	0.3337488	0.6262168	2815980.3	99.383614	AA	
G10	rs1801133	UNKNOWN	0.4582938	0.293089	2823441.8	98.795929	GG	
G11	rs1801133	UNKNOWN	0.4774659	0.3452767	2904878.8	99.311157	GG	
G12	rs1801133	UNKNOWN	0.4351567	0.6068597	2947948.3	99.218208	GA	
H1	rs1801133	UNKNOWN	0.4664509	0.4031786	2775387.3	97.955948	GG	
H2	rs1801133	UNKNOWN	0.4763619	0.3842642	2790116.8	98.570549	GG	
H3	rs1801133	UNKNOWN	0.4662525	0.3228137	2896142.8	99.33474	GG	
H4	rs1801133	UNKNOWN	0.4814287	0.3769767	2854550	98.717346	GG	
H5	rs1801133	UNKNOWN	0.2631923	0.5727138	3003450.5	95.62822	AA	
H6	rs1801133	UNKNOWN	0.4794391	0.3397883	2905807.8	99.33683	GG	
H7	rs1801133	UNKNOWN	0.4850451	0.4005668	2967881.3	97.891624	GG	
H8	rs1801133	UNKNOWN	0.4794774	0.3664685	2872663	98.985641	GG	
H9	rs1801133	UNKNOWN	0.3930038	0.6391662	2883211.3	0	0	
H10	rs1801133	UNKNOWN	0.4275399	0.2452644	2777026.5	95.642761	GG	
H11	rs1801133	UNKNOWN	0.0670919	0.1239828	2694324.3	0.1559514	0	
H12	rs1801133	UNKNOWN	0.0744624	0.1158534	2795045.8	2.2313313	0	

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs1801133_GALU4.eds
 Experiment 2011-10-17 16:22:49 PM MDT
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay	Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs1801133	UNKNOWN	0.2701715	0.6004157	2886586.3	99.999969	AA
A2		rs1801133	UNKNOWN	0.4370424	0.2649828	2695251	99.167793	GG
A3		rs1801133	UNKNOWN	0.4169497	0.5827271	2717459	99.904243	GA
A4								
A5								
A6								
A7								
A8								
A9								
A10								
A11								
A12								
B1		rs1801133	UNKNOWN	0.4061782	0.5728384	2980678.3	99.984535	GA
B2		rs1801133	UNKNOWN	0.3904902	0.5571357	2872773.8	99.6912	GA
B3		rs1801133	UNKNOWN	0.4303126	0.5842847	2838641.5	99.484032	GA
B4								
B5								
B6								
B7								
B8								
B9								
B10								
B11								
B12								
C1		rs1801133	UNKNOWN	0.3632869	0.5465432	3130181	97.628242	GA
C2		rs1801133	UNKNOWN	0.459061	0.2783056	2948985.3	99.906677	GG
C3		rs1801133	UNKNOWN	0.4163999	0.582466	2981384.8	99.912033	GA
C4								
C5								
C6								
C7								
C8								
C9								
C10								
C11								
C12								
D1		rs1801133	UNKNOWN	0.2692341	0.5971308	3006011.3	99.998619	AA
D2		rs1801133	UNKNOWN	0.4061629	0.5680327	3060701.8	99.995834	GA
D3		rs1801133	UNKNOWN	0.2870991	0.6328032	3094605	99.824097	AA
D4								
D5								
D6								
D7								
D8								
D9								

D10								
D11								
D12								
E1	rs1801133	UNKNOWN	0.4601518	0.3106203	3181241.8	99.562088	GG	
E2	rs1801133	UNKNOWN	0.0783184	0.1149553	3004162.5	2.264344		0
E3	rs1801133	UNKNOWN	0.215336	0.5670805	3094304	99.102341	AA	
E4								
E5								
E6								
E7								
E8								
E9								
E10								
E11								
E12								
F1	rs1801133	UNKNOWN	0.4717226	0.3179725	3090556.8	99.063507	GG	
F2	rs1801133	UNKNOWN	0.4131874	0.5613689	2911722.3	99.784859	GA	
F3	rs1801133	UNKNOWN	0.4755012	0.3078158	2958333.5	99.317085	GG	
F4								
F5								
F6								
F7								
F8								
F9								
F10								
F11								
F12								
G1	rs1801133	UNKNOWN	0.3351107	0.6240946	2999308.8	98.61116	AA	
G2	rs1801133	UNKNOWN	0.4556573	0.2875206	2874076.5	99.998894	GG	
G3	rs1801133	UNKNOWN	0.4561509	0.2826702	2973980.5	99.975754	GG	
G4								
G5								
G6								
G7								
G8								
G9								
G10								
G11								
G12								
H1	rs1801133	UNKNOWN	0.4517559	0.3157913	2796477	99.275688	GG	
H2	rs1801133	UNKNOWN	0.0755393	0.1107831	2809792	3.163E-07		0
H3	rs1801133	UNKNOWN	0.0778856	0.1165064	2934839	5.1526003		0
H4								
H5								
H6								
H7								
H8								
H9								
H10								
H11								
H12								

3) rs8006686

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs8006686_GLAU1.edc
 Experiment 2012-01-10 13:20:26 PM MST
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay Task	Allele1	ΔRn	Allele2	ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1	rs8006686	UNKNOWN	0.3788945	0.4381059	2736946.5	99.98159	CT		
A2	rs8006686	UNKNOWN	0.2044858	0.5485753	2596180.3	99.92981	TT		
A3	rs8006686	UNKNOWN	0.2075182	0.5501663	2666085.3	99.963882	TT		
A4	rs8006686	UNKNOWN	0.2011897	0.5362459	2602350.3	99.930504	TT		
A5	rs8006686	UNKNOWN	0.1576099	0.5335894	2562412.5	97.239845	TT		
A6	rs8006686	UNKNOWN	0.2114439	0.5478604	2655541.3	99.997787	TT		
A7	rs8006686	UNKNOWN	0.4262173	0.2238844	2630936	99.980331	CC		
A8	rs8006686	UNKNOWN	0.3831652	0.4513965	2595595	99.96859	CT		
A9	rs8006686	UNKNOWN	0.2049124	0.530911	2594180.3	99.972626	TT		
A10	rs8006686	UNKNOWN	0.3849269	0.4480836	2573996.5	99.969765	CT		
A11	rs8006686	UNKNOWN	0.3693703	0.449009	2612675	99.937027	CT		
A12	rs8006686	UNKNOWN	0.4166259	0.2292145	2638275.8	99.857597	CC		
B1	rs8006686	UNKNOWN	0.2007926	0.5414945	2742779.5	99.90184	TT		
B2	rs8006686	UNKNOWN	0.2041812	0.5371292	2767509.8	99.967087	TT		
B3	rs8006686	UNKNOWN	0.3119922	0.3922547	2809341.5	99.716415	CT		
B4	rs8006686	UNKNOWN	0.2111177	0.5841393	2726451.3	99.699829	TT		
B5	rs8006686	UNKNOWN	0.3743057	0.4260126	2763243	99.969635	CT		
B6	rs8006686	UNKNOWN	0.1860514	0.3662679	2815900.5	94.407578	0		
B7	rs8006686	UNKNOWN	0.2072214	0.520171	2763005.3	99.921608	TT		
B8	rs8006686	UNKNOWN	0.4349535	0.222033	2653928.3	99.985107	CC		
B9	rs8006686	UNKNOWN	0.2124589	0.5488924	2699990	99.998413	TT		
B10	rs8006686	UNKNOWN	0.2180514	0.5654651	2622456	99.958694	TT		
B11	rs8006686	UNKNOWN	0.407875	0.4941612	2447075.8	99.795723	CT		
B12	rs8006686	UNKNOWN	0.2074274	0.5564797	2874865.5	99.92659	TT		
C1	rs8006686	UNKNOWN	0.1971717	0.5588132	2932419.8	99.636971	TT		
C2	rs8006686	UNKNOWN	0.4170828	0.5143701	2795077.3	99.653107	CT		
C3	rs8006686	UNKNOWN	0.4371497	0.2212161	2871060.8	99.976852	CC		
C4	rs8006686	UNKNOWN	0.2306627	0.5889574	2817663.3	99.783745	TT		
C5	rs8006686	UNKNOWN	0.2257628	0.590521	2743501.8	99.791817	TT		
C6	rs8006686	UNKNOWN	0.2210826	0.5590972	2786391.5	99.96006	TT		
C7	rs8006686	UNKNOWN	0.2400815	0.6046553	2818094.5	99.563858	TT		
C8	rs8006686	UNKNOWN	0.220342	0.5590457	2726691.3	99.965988	TT		
C9	rs8006686	UNKNOWN	0.2387879	0.6053286	2668563.5	99.577438	TT		
C10	rs8006686	UNKNOWN	0.2201152	0.6051285	2668519	99.549904	TT		
C11	rs8006686	UNKNOWN	0.2307008	0.5950106	2649293	99.739143	TT		
C12	rs8006686	UNKNOWN	0.4119695	0.5147128	2631437.5	99.619553	CT		
D1	rs8006686	UNKNOWN	0.4100568	0.5070319	2941673.5	99.69191	CT		
D2	rs8006686	UNKNOWN	0.4166752	0.5143456	2870892.3	99.651474	CT		
D3	rs8006686	UNKNOWN	0.2382777	0.5867804	3028268.3	99.675217	TT		
D4	rs8006686	UNKNOWN	0.4310233	0.5159069	2847041.8	99.661797	CT		
D5	rs8006686	UNKNOWN	0.3903406	0.3965242	2901127.8	99.319748	CT		
D6	rs8006686	UNKNOWN	0.4113137	0.454387	2737694.8	99.789162	CT		
D7	rs8006686	UNKNOWN	0.2342689	0.6054345	2806670.8	99.620552	TT		
D8	rs8006686	UNKNOWN	0.2290332	0.5651951	2753097	99.856514	TT		
D9	rs8006686	UNKNOWN	0.4248035	0.4983581	2735919.5	99.759872	CT		

D10	rs8006686	UNKNOWN	0.4097081	0.5073228	2841731.5	99.68689	CT	
D11	rs8006686	UNKNOWN	0.2453527	0.6128573	2696377.3	99.410049	TT	
D12	rs8006686	UNKNOWN	0.2315145	0.5965852	2708869	99.721046	TT	
E1	rs8006686	UNKNOWN	0.2335653	0.6009614	2982317.3	99.668732	TT	
E2	rs8006686	UNKNOWN	0.2419855	0.6028937	2744779.8	99.541748	TT	
E3	rs8006686	UNKNOWN	0.400924	0.4737474	3084887.8	99.897881	CT	
E4	rs8006686	UNKNOWN	0.4265613	0.2155457	2973494.5	99.997643	CC	
E5	rs8006686	UNKNOWN	0.2190797	0.5502823	2948337	99.968803	TT	
E6	rs8006686	UNKNOWN	0.2183999	0.5528261	2758372.3	99.978996	TT	
E7	rs8006686	UNKNOWN	0.3478706	0.4133182	2820611.3	99.982819	CT	
E8	rs8006686	UNKNOWN	0.2137696	0.534541	2766676.3	99.960236	TT	
E9	rs8006686	UNKNOWN	0.3525522	0.4094592	2782974	99.991592	CT	
E10	rs8006686	UNKNOWN	0.3820404	0.3765078	2957028.8	99.01223	CT	
E11	rs8006686	UNKNOWN	0.2035729	0.5117837	2917731	99.875526	TT	
E12	rs8006686	UNKNOWN	0.3238977	0.2305281	2620155.5	100		0
F1	rs8006686	UNKNOWN	0.3561222	0.3746318	3006355.5	99.589691	CT	
F2	rs8006686	UNKNOWN	0.3989012	0.2028548	2897821.5	99.858513	CC	
F3	rs8006686	UNKNOWN	0.3825397	0.4304896	3034853	99.934639	CT	
F4	rs8006686	UNKNOWN	0.2042862	0.4783748	2812665.5	99.287811	TT	
F5	rs8006686	UNKNOWN	0.2080824	0.5260572	2875437.5	99.955383	TT	
F6	rs8006686	UNKNOWN	0.3345872	0.3526824	2835567.5	99.530289	CT	
F7	rs8006686	UNKNOWN	0.2036632	0.4912629	2805353.3	99.593109	TT	
F8	rs8006686	UNKNOWN	0.2195192	0.5618582	2768119.3	99.967262	TT	
F9	rs8006686	UNKNOWN	0.370606	0.4141252	2667296.5	99.926682	CT	
F10	rs8006686	UNKNOWN	0.2338479	0.2475806	3008892.8	100		0
F11	rs8006686	UNKNOWN	0.2136308	0.5650306	3126526.3	99.941803	TT	
F12	rs8006686	UNKNOWN	0.2011399	0.5153806	2853220.8	99.905411	TT	
G1	rs8006686	UNKNOWN	0.3575486	0.3921422	2884207.3	99.845192	CT	
G2	rs8006686	UNKNOWN	0.1993208	0.508229	2779737.8	99.856377	TT	
G3	rs8006686	UNKNOWN	0.1973123	0.4881901	2959691.8	99.638626	TT	
G4	rs8006686	UNKNOWN	0.1951114	0.4457262	2799377.8	98.599426	TT	
G5	rs8006686	UNKNOWN	0.3750838	0.4224757	2956285	99.946632	CT	
G6	rs8006686	UNKNOWN	0.1966682	0.4470898	2860768	98.583542	TT	
G7	rs8006686	UNKNOWN	0.225334	0.6710438	2849154.3	98.018738	TT	
G8	rs8006686	UNKNOWN	0.2116862	0.4864129	2749040.8	99.230812	TT	
G9	rs8006686	UNKNOWN	0.1955022	0.5274	2788274.5	99.850548	TT	
G10	rs8006686	UNKNOWN	0.1971435	0.498435	2940048.3	99.770439	TT	
G11	rs8006686	UNKNOWN	0.2198604	0.5999795	2795555.3	99.628998	TT	
G12	rs8006686	UNKNOWN	0.2084434	0.5819364	3011099.3	99.666	TT	
H1	rs8006686	UNKNOWN	0.1629526	0.2317784	2596929.8	100		0
H2	rs8006686	UNKNOWN	0.1999868	0.5274402	2667909.8	99.928032	TT	
H3	rs8006686	UNKNOWN	0.3627608	0.383477	2805849.3	99.637505	CT	
H4	rs8006686	UNKNOWN	0.1935674	0.5013605	2700856.8	99.782097	TT	
H5	rs8006686	UNKNOWN	0.4201898	0.2698562	2848049	98.560081	CC	
H6	rs8006686	UNKNOWN	0.1911188	0.4347014	2796268.3	98.343445	TT	
H7	rs8006686	UNKNOWN	0.1901684	0.4525554	2857458.3	98.985497	TT	
H8	rs8006686	UNKNOWN	0.2019624	0.5918933	2797238	99.257439	TT	
H9	rs8006686	UNKNOWN	0.312215	0.4219159	2738214	99.20076	CT	
H10	rs8006686	UNKNOWN	0.2002707	0.5250581	2627622.3	99.930618	TT	
H11	rs8006686	UNKNOWN	0.1994335	0.6224818	2679231.5	98.337975	TT	
H12	rs8006686	UNKNOWN	0.1646143	0.2279535	2687448.3	100		0

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs8006686_GLAU2.edc
 Experiment 2012-01-10 13:31:48 PM MST
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay	Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs8006686	UNKNOWN	0.3863567	0.4587269	2834845.8	99.797661	CT
A2		rs8006686	UNKNOWN	0.2025546	0.5469906	2606385.3	99.601662	TT
A3		rs8006686	UNKNOWN	0.3950434	0.4437238	2662842.8	99.734589	CT
A4		rs8006686	UNKNOWN	0.2030326	0.5278658	2594248.8	99.442528	TT
A5		rs8006686	UNKNOWN	0.3606505	0.4342838	2574495	97.399246	CT
A6		rs8006686	UNKNOWN	0.3928257	0.4469925	2636553.8	99.80352	CT
A7		rs8006686	UNKNOWN	0.2066507	0.5446919	2616631.3	99.7453	TT
A8		rs8006686	UNKNOWN	0.3782503	0.4411434	2641162.8	99.142601	CT
A9		rs8006686	UNKNOWN	0.2177062	0.5723746	2620876.8	99.999451	TT
A10		rs8006686	UNKNOWN	0.2157402	0.5816175	2603834.3	99.965958	TT
A11		rs8006686	UNKNOWN	0.2156806	0.5665109	2628208.5	99.993698	TT
A12		rs8006686	UNKNOWN	0.2163649	0.5584247	2657062.3	99.970718	TT
B1		rs8006686	UNKNOWN	0.2181232	0.5751707	2848175.3	99.996094	TT
B2		rs8006686	UNKNOWN	0.3609747	0.5286972	2752988	100	CT
B3		rs8006686	UNKNOWN	0.2183654	0.5720955	2772341.3	99.998512	TT
B4		rs8006686	UNKNOWN	0.1712106	0.2034185	2688636.5	0.1632899	0
B5		rs8006686	UNKNOWN	0.3948403	0.4546418	2738062.5	99.952927	CT
B6		rs8006686	UNKNOWN	0.3993751	0.4545065	2687253.3	99.949219	CT
B7		rs8006686	UNKNOWN	0.3793864	0.4374395	2807485.3	99.086075	CT
B8		rs8006686	UNKNOWN	0.4339551	0.2215559	2676706	99.912384	CC
B9		rs8006686	UNKNOWN	0.4018065	0.4601031	2681640.5	99.965271	CT
B10		rs8006686	UNKNOWN	0.2109005	0.5494265	2661801.5	99.877724	TT
B11		rs8006686	UNKNOWN	0.2183273	0.5730959	2568559.8	99.998138	TT
B12		rs8006686	UNKNOWN	0.3956872	0.4790434	2536480.5	99.749252	CT
C1		rs8006686	UNKNOWN	0.3886387	0.4788343	3021618.8	99.605469	CT
C2		rs8006686	UNKNOWN	0.171233	0.2102715	2838171.3	2.207655	0
C3		rs8006686	UNKNOWN	0.3961115	0.4642361	2860823.8	99.991135	CT
C4		rs8006686	UNKNOWN	0.217478	0.5411173	2821909.5	99.813148	TT
C5		rs8006686	UNKNOWN	0.2180551	0.5766774	2721952.8	99.993225	TT
C6		rs8006686	UNKNOWN	0.3963445	0.4453923	2764896.5	99.783936	CT
C7		rs8006686	UNKNOWN	0.221559	0.5702217	2805431.3	99.971001	TT
C8		rs8006686	UNKNOWN	0.224356	0.5626461	2758459	99.88623	TT
C9		rs8006686	UNKNOWN	0.2202308	0.5677381	2706148.3	99.982101	TT
C10		rs8006686	UNKNOWN	0.2072797	0.5852796	2658369.5	99.754791	TT
C11		rs8006686	UNKNOWN	0.2248125	0.5808046	2678435.8	99.916039	TT
C12		rs8006686	UNKNOWN	0.4111046	0.4847968	2600002	99.329102	CT
D1		rs8006686	UNKNOWN	0.4039024	0.4721137	2886007	99.856628	CT
D2		rs8006686	UNKNOWN	0.3995605	0.4749124	2919385.5	99.857864	CT
D3		rs8006686	UNKNOWN	0.4004986	0.4580393	2939337.3	99.971642	CT
D4		rs8006686	UNKNOWN	0.403282	0.4536518	2836854.3	99.88282	CT
D5		rs8006686	UNKNOWN	0.2243928	0.5651696	2895675.3	99.899467	TT
D6		rs8006686	UNKNOWN	0.2226893	0.5622612	2813566.8	99.922745	TT
D7		rs8006686	UNKNOWN	0.2255256	0.587466	2775909.3	99.881851	TT
D8		rs8006686	UNKNOWN	0.4433278	0.2131323	2717985	99.92231	CC
D9		rs8006686	UNKNOWN	0.4099833	0.4629336	2752086	99.746933	CT

D10	rs8006686	UNKNOWN	0.2143422	0.6041474	2857678	99.732796	TT	
D11	rs8006686	UNKNOWN	0.2235698	0.5872652	2681825.8	99.915512	TT	
D12	rs8006686	UNKNOWN	0.227629	0.5813329	2669757.8	99.84761	TT	
E1	rs8006686	UNKNOWN	0.3932789	0.4678984	3087093.3	99.934982	CT	
E2	rs8006686	UNKNOWN	0.2227248	0.5713477	2788307	99.954948	TT	
E3	rs8006686	UNKNOWN	0.4065753	0.4575264	2953050	99.843498	CT	
E4	rs8006686	UNKNOWN	0.4152654	0.4688585	2991255.8	99.469131	CT	
E5	rs8006686	UNKNOWN	0.4415998	0.2181055	2911777.3	99.986382	CC	
E6	rs8006686	UNKNOWN	0.2294419	0.5824823	2739734.8	99.791229	TT	
E7	rs8006686	UNKNOWN	0.2303554	0.5870144	2853826.5	99.754158	TT	
E8	rs8006686	UNKNOWN	0.2249258	0.5584924	2865291.8	99.840233	TT	
E9	rs8006686	UNKNOWN	0.2272779	0.5756598	2859291.5	99.855659	TT	
E10	rs8006686	UNKNOWN	0.2227497	0.5881518	3009842.3	99.921104	TT	
E11	rs8006686	UNKNOWN	0.4459465	0.228731	2868024.3	99.927071	CC	
E12	rs8006686	UNKNOWN	0.2236456	0.5978707	2544550.8	99.83873	TT	
F1	rs8006686	UNKNOWN	0.4024856	0.4909797	3008769.5	99.313148	CT	
F2	rs8006686	UNKNOWN	0.2185644	0.5598252	2912921.5	99.968391	TT	
F3	rs8006686	UNKNOWN	0.2248848	0.5703588	3072045.3	99.908104	TT	
F4	rs8006686	UNKNOWN	0.2307269	0.5589622	2848139.5	99.617744	TT	
F5	rs8006686	UNKNOWN	0.396405	0.4554862	2800306.8	99.968666	CT	
F6	rs8006686	UNKNOWN	0.2231572	0.5426578	2858988.3	99.711014	TT	
F7	rs8006686	UNKNOWN	0.2260002	0.5674425	2771896.3	99.867172	TT	
F8	rs8006686	UNKNOWN	0.219987	0.5575653	2795718.3	99.940269	TT	
F9	rs8006686	UNKNOWN	0.405692	0.4629195	2693750.8	99.889534	CT	
F10	rs8006686	UNKNOWN	0.2104783	0.5617994	3051127.5	99.921783	TT	
F11	rs8006686	UNKNOWN	0.4476687	0.2370876	3007188	99.730408	CC	
F12	rs8006686	UNKNOWN	0.2207032	0.5883423	2943898	99.936447	TT	
G1	rs8006686	UNKNOWN	0.3869869	0.4861604	2879164	99.292717	CT	
G2	rs8006686	UNKNOWN	0.4018177	0.4619928	2783025.8	99.968567	CT	
G3	rs8006686	UNKNOWN	0.2144781	0.5490339	2915785.3	99.908264	TT	
G4	rs8006686	UNKNOWN	0.2131595	0.5178776	2803848.5	99.459137	TT	
G5	rs8006686	UNKNOWN	0.3958372	0.4565245	2880840.5	99.976242	CT	
G6	rs8006686	UNKNOWN	0.3970469	0.4471601	2818504.3	99.828148	CT	
G7	rs8006686	UNKNOWN	0.2373682	0.7420843	2816948.8	94.495651		0
G8	rs8006686	UNKNOWN	0.4080442	0.4374642	2723799	99.287781	CT	
G9	rs8006686	UNKNOWN	0.1985787	0.5343739	2769804.8	99.289284	TT	
G10	rs8006686	UNKNOWN	0.2258785	0.5718224	2943365.3	99.886848	TT	
G11	rs8006686	UNKNOWN	0.3850615	0.5196972	2721455.3	97.297249	CT	
G12	rs8006686	UNKNOWN	0.4021248	0.484506	2968226	99.57238	CT	
H1	rs8006686	UNKNOWN	0.1868081	0.5126746	2683487.5	97.988678	TT	
H2	rs8006686	UNKNOWN	0.2105897	0.5533735	2694695.3	99.895653	TT	
H3	rs8006686	UNKNOWN	0.4270756	0.2316169	2751808	99.581398	CC	
H4	rs8006686	UNKNOWN	0.2040777	0.5472987	2692698.5	99.670357	TT	
H5	rs8006686	UNKNOWN	0.2210474	0.5956354	2835657.3	99.878487	TT	
H6	rs8006686	UNKNOWN	0.2016003	0.4886961	2776180.5	98.586349	TT	
H7	rs8006686	UNKNOWN	0.4081492	0.4880754	2825759.5	99.314728	CT	
H8	rs8006686	UNKNOWN	0.2217388	0.6545461	2999670	98.654572	TT	
H9	rs8006686	UNKNOWN	0.2104847	0.5601931	2735843	99.918716	TT	
H10	rs8006686	UNKNOWN	0.2090135	0.5601011	2628790	99.884644	TT	
H11	rs8006686	UNKNOWN	0.2011028	0.6419374	2655562.5	98.416725	TT	
H12	rs8006686	UNKNOWN	0.1647881	0.2258347	2736793.8	9.0363598		0

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs8006686_GLAU3.ed
 Experiment 2012-01-10 13:38:34 PM MST
 Instrument `sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay	Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs8006686	UNKNOWN	0.2120308	0.5726057	2854551	99.873947	TT
A2		rs8006686	UNKNOWN	0.2152056	0.5684812	2609335.8	99.948227	TT
A3		rs8006686	UNKNOWN	0.2178262	0.5635703	2665596.5	99.960289	TT
A4		rs8006686	UNKNOWN	0.2136714	0.5659298	2561755	99.91053	TT
A5		rs8006686	UNKNOWN	0.3580272	0.4683371	2595498.8	97.847038	CT
A6		rs8006686	UNKNOWN	0.383107	0.4494599	2618856	99.619041	CT
A7		rs8006686	UNKNOWN	0.2108486	0.5603984	2556846.5	99.804359	TT
A8		rs8006686	UNKNOWN	0.207684	0.562757	2594283	99.701736	TT
A9		rs8006686	UNKNOWN	0.221987	0.5750628	2587549	99.995628	TT
A10		rs8006686	UNKNOWN	0.2128953	0.5708728	2579448.8	99.899765	TT
A11		rs8006686	UNKNOWN	0.215291	0.575351	2600116.5	99.944389	TT
A12		rs8006686	UNKNOWN	0.4348517	0.2222548	2695211	99.846611	CC
B1		rs8006686	UNKNOWN	0.3843997	0.4537264	2887641.5	99.721107	CT
B2		rs8006686	UNKNOWN	0.2125357	0.562735	2658684	99.867996	TT
B3		rs8006686	UNKNOWN	0.3973617	0.4443209	2767733	99.631691	CT
B4		rs8006686	UNKNOWN	0.22266	0.5712308	2723463.3	99.992233	TT
B5		rs8006686	UNKNOWN	0.2184423	0.5611088	2748039	99.945236	TT
B6		rs8006686	UNKNOWN	0.2173112	0.5744572	2788243.3	99.977737	TT
B7		rs8006686	UNKNOWN	0.2187432	0.5625709	2753354.3	99.958382	TT
B8		rs8006686	UNKNOWN	0.2186831	0.5601731	2636091.3	99.937668	TT
B9		rs8006686	UNKNOWN	0.2223798	0.5700696	2724457.8	99.991653	TT
B10		rs8006686	UNKNOWN	0.3916223	0.467782	2620205	99.939049	CT
B11		rs8006686	UNKNOWN	0.2247766	0.5815488	2563322	99.95018	TT
B12		rs8006686	UNKNOWN	0.3859628	0.4658509	2714204.3	99.812737	CT
C1		rs8006686	UNKNOWN	0.202841	0.5656812	2917349.3	99.462532	TT
C2		rs8006686	UNKNOWN	0.2413983	0.5649922	2824139.5	99.224579	TT
C3		rs8006686	UNKNOWN	0.2141586	0.5669782	2862770.8	99.924484	TT
C4		rs8006686	UNKNOWN	0.2146667	0.564987	2825337.3	99.927055	TT
C5		rs8006686	UNKNOWN	0.4057982	0.4513228	2759175	99.711205	CT
C6		rs8006686	UNKNOWN	0.2224149	0.5611642	2790412	99.936127	TT
C7		rs8006686	UNKNOWN	0.2227102	0.568361	2825212.8	99.983719	TT
C8		rs8006686	UNKNOWN	0.2241882	0.5679922	2788147	99.966667	TT
C9		rs8006686	UNKNOWN	0.3967832	0.4514125	2749087	99.832779	CT
C10		rs8006686	UNKNOWN	0.4333916	0.2239014	2633903.5	99.811623	CC
C11		rs8006686	UNKNOWN	0.4131195	0.4904158	2604091	99.502602	CT
C12		rs8006686	UNKNOWN	0.4112883	0.4844575	2639818.5	99.682617	CT
D1		rs8006686	UNKNOWN	0.2212925	0.5685877	2870327.8	99.992355	TT
D2		rs8006686	UNKNOWN	0.4053262	0.4778585	2877997.8	99.890839	CT
D3		rs8006686	UNKNOWN	0.2228281	0.5749542	2950185	99.991661	TT
D4		rs8006686	UNKNOWN	0.2278929	0.576528	2872488.8	99.917664	TT
D5		rs8006686	UNKNOWN	0.2224558	0.5302313	2934417.5	99.225449	TT
D6		rs8006686	UNKNOWN	0.4097361	0.4604477	2860774	99.792442	CT
D7		rs8006686	UNKNOWN	0.2224837	0.5805229	2851003.8	99.972839	TT
D8		rs8006686	UNKNOWN	0.2248151	0.5537702	2812789	99.801125	TT
D9		rs8006686	UNKNOWN	0.2246367	0.580034	2725389.8	99.960167	TT

D10	rs8006686	UNKNOWN	0.3902968	0.476345	2844043.8	99.817886	CT	
D11	rs8006686	UNKNOWN	0.4473765	0.2234224	2725599.3	99.999931	CC	
D12	rs8006686	UNKNOWN	0.2320544	0.5866784	2694487.3	99.759346	TT	
E1	rs8006686	UNKNOWN	0.3897358	0.469707	3024836	99.888863	CT	
E2	rs8006686	UNKNOWN	0.2279952	0.5801229	2731729.3	99.906288	TT	
E3	rs8006686	UNKNOWN	0.2249046	0.5662942	2939328.3	99.946716	TT	
E4	rs8006686	UNKNOWN	0.2256165	0.566676	3008194.3	99.937042	TT	
E5	rs8006686	UNKNOWN	0.2276565	0.5699121	2982421.5	99.911919	TT	
E6	rs8006686	UNKNOWN	0.4183847	0.4833307	2747514.3	99.479523	CT	
E7	rs8006686	UNKNOWN	0.4180034	0.4760499	2856426.3	99.570206	CT	
E8	rs8006686	UNKNOWN	0.2315041	0.5751675	2899789.8	99.816277	TT	
E9	rs8006686	UNKNOWN	0.4099765	0.4593338	2842517.3	99.768944	CT	
E10	rs8006686	UNKNOWN	0.2264627	0.5921056	2980882	99.821617	TT	
E11	rs8006686	UNKNOWN	0.2271038	0.5904693	2824653.5	99.834862	TT	
E12	rs8006686	UNKNOWN	0.2191446	0.5875708	2506704.8	99.899254	TT	
F1	rs8006686	UNKNOWN	0.2172301	0.5812802	2976996.8	99.941933	TT	
F2	rs8006686	UNKNOWN	0.2214023	0.5612354	2801384.3	99.944443	TT	
F3	rs8006686	UNKNOWN	0.4037486	0.4613188	3076084.8	99.932549	CT	
F4	rs8006686	UNKNOWN	0.2265509	0.5475718	2865142.8	99.633476	TT	
F5	rs8006686	UNKNOWN	0.4061967	0.4607925	2863545.5	99.883598	CT	
F6	rs8006686	UNKNOWN	0.2286515	0.5670484	2841613.5	99.869461	TT	
F7	rs8006686	UNKNOWN	0.2279594	0.5672458	2777549.5	99.889442	TT	
F8	rs8006686	UNKNOWN	0.2225196	0.5687256	2759134.3	99.986557	TT	
F9	rs8006686	UNKNOWN	0.2255485	0.5613168	2701106.3	99.891869	TT	
F10	rs8006686	UNKNOWN	0.2164493	0.5750672	3030673.3	99.964668	TT	
F11	rs8006686	UNKNOWN	0.2257955	0.5992506	3074451.8	99.704918	TT	
F12	rs8006686	UNKNOWN	0.2248071	0.5891049	2921324.3	99.879639	TT	
G1	rs8006686	UNKNOWN	0.3748725	0.4469016	2775181	99.256882	CT	
G2	rs8006686	UNKNOWN	0.2192788	0.5651092	2777713.5	99.976952	TT	
G3	rs8006686	UNKNOWN	0.2220799	0.5611875	2947235.3	99.939278	TT	
G4	rs8006686	UNKNOWN	0.2173852	0.5500816	2799130.3	99.796768	TT	
G5	rs8006686	UNKNOWN	0.2225667	0.5598538	2880338.5	99.920914	TT	
G6	rs8006686	UNKNOWN	0.3923547	0.4435641	2793943.8	99.61692	CT	
G7	rs8006686	UNKNOWN	0.2379037	0.7334596	2819337.8	90.266396		0
G8	rs8006686	UNKNOWN	0.4027471	0.4484456	2676034.3	99.693718	CT	
G9	rs8006686	UNKNOWN	0.2056734	0.547008	2738433	99.435745	TT	
G10	rs8006686	UNKNOWN	0.3909242	0.4328526	2922073.8	99.175949	CT	
G11	rs8006686	UNKNOWN	0.4426618	0.3336687	2755591.3	82.047737		0
G12	rs8006686	UNKNOWN	0.3960939	0.4848831	2878185.8	99.746201	CT	
H1	rs8006686	UNKNOWN	0.2216726	0.6010556	2666255.3	99.677917	TT	
H2	rs8006686	UNKNOWN	0.3993191	0.4889153	2664372	99.668579	CT	
H3	rs8006686	UNKNOWN	0.2207702	0.5595617	2776389.8	99.930695	TT	
H4	rs8006686	UNKNOWN	0.4035851	0.4890898	2698404.3	99.673302	CT	
H5	rs8006686	UNKNOWN	0.223455	0.6032564	2856894.3	99.628357	TT	
H6	rs8006686	UNKNOWN	0.2213297	0.5595524	2770742.5	99.927734	TT	
H7	rs8006686	UNKNOWN	0.2240437	0.5736758	2857446.3	99.982216	TT	
H8	rs8006686	UNKNOWN	0.4009845	0.5736789	3012795.3	87.524849		0
H9	rs8006686	UNKNOWN	0.4158284	0.5148788	2728471.3	98.430611	CT	
H10	rs8006686	UNKNOWN	0.198156	0.5245788	2651697	98.409645	TT	
H11	rs8006686	UNKNOWN	0.1971727	0.6073255	2636588.5	98.52916	TT	
H12	rs8006686	UNKNOWN	0.1695748	0.2275608	2782444	0.2759354		0

Block Type 96alum
 Chemistry TAQMAN
 Experiment C:\Applied Biosystems\7500\experiments\GLAU\rs8006686_GLAU4.ed
 Experiment 2012-01-09 17:29:35 PM MST
 Instrument 'sds7500
 Passive Re ROX

Well	Sample Name	SNP Assay Task	Allele1 ΔRn	Allele2 ΔRn	Pass.Ref	Quality(%)	Call
A1		rs8006686 UNKNOWN	0.3645131	0.4374377	2779781.3	99.340416	CT
A2		rs8006686 UNKNOWN	0.1983713	0.5386221	2636399.8	99.746025	TT
A3		rs8006686 UNKNOWN	0.2067344	0.5605046	2661652.5	99.825989	TT
A4		rs8006686 UNKNOWN	0.1564627	0.1940105	2560206.8	6.928E-14	0
A5							
A6							
A7							
A8							
A9							
A10							
A11							
A12							
B1		rs8006686 UNKNOWN	0.2034603	0.5460965	2772068.3	99.978844	TT
B2		rs8006686 UNKNOWN	0.3742923	0.4444122	2803703.5	99.921509	CT
B3		rs8006686 UNKNOWN	0.1967962	0.512487	2669582.8	98.054916	TT
B4							
B5							
B6							
B7							
B8							
B9							
B10							
B11							
B12							
C1		rs8006686 UNKNOWN	0.1930699	0.5448826	2935200	99.682823	TT
C2		rs8006686 UNKNOWN	0.3876662	0.4501998	2879021.5	99.680382	CT
C3		rs8006686 UNKNOWN	0.2063861	0.5545599	2901535.5	99.959351	TT
C4							
C5							
C6							
C7							
C8							
C9							
C10							
C11							
C12							
D1		rs8006686 UNKNOWN	0.2046098	0.5374634	2937365.3	99.81813	TT
D2		rs8006686 UNKNOWN	0.2120098	0.558085	2847392.3	99.807693	TT
D3		rs8006686 UNKNOWN	0.2124446	0.5525138	2946814.3	99.893883	TT
D4							
D5							
D6							
D7							
D8							
D9							

D10									
D11									
D12									
E1	rs8006686	UNKNOWN	0.2109461	0.5617619	3019949.3	99.724838	TT		
E2	rs8006686	UNKNOWN	0.4115057	0.4792952	2746759	95.359512	CT		
E3	rs8006686	UNKNOWN	0.3839704	0.3715247	2987740.8		100	CT	
E4									
E5									
E6									
E7									
E8									
E9									
E10									
E11									
E12									
F1	rs8006686	UNKNOWN	0.204519	0.5589102	2952677.5	99.875984	TT		
F2	rs8006686	UNKNOWN	0.3920786	0.4351212	2907401.3	98.855377	CT		
F3	rs8006686	UNKNOWN	0.2131934	0.5494889	2976334.8	99.893066	TT		
F4									
F5									
F6									
F7									
F8									
F9									
F10									
F11									
F12									
G1	rs8006686	UNKNOWN	0.3738389	0.451255	2873295.8	99.679489	CT		
G2	rs8006686	UNKNOWN	0.212371	0.5558855	2766219.8	99.846512	TT		
G3	rs8006686	UNKNOWN	0.2087388	0.5399466	2885022.8	99.87677	TT		
G4									
G5									
G6									
G7									
G8									
G9									
G10									
G11									
G12									
H1	rs8006686	UNKNOWN	0.2000695	0.5643699	2642354.8	99.663734	TT		
H2	rs8006686	UNKNOWN	0.1661417	0.2129018	2699948	0		0	
H3	rs8006686	UNKNOWN	0.1721124	0.2164909	2745176	0.9563677			0
H4									
H5									
H6									
H7									
H8									
H9									
H10									
H11									
H12									

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

Αντίγραφο της δημοσίευσης στο περιοδικό Clinical Ophthalmology (authors' proof)

Plasma homocysteine and genetic variants of homocysteine metabolism enzymes in patients from central Greece with primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma

Fani Zacharaki¹
Georgios M Hadjigeorgiou²
Georgios G Koliakos³
Margaux A Morrison⁴
Aspasia Tsezou⁵
Dimitrios Z Chatzoulis¹
Pavlina Almpnidou¹
Konstantina Topouridou³
Constantinos H Karabatsas¹
Maria Pefkianaki¹
Margaret M DeAngelis⁴
Evangelia E Tsironi¹

¹Department of Ophthalmology,
²Department of Neurology, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Larissa, ³Department of Biochemistry, Medical School, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece; ⁴Department of Ophthalmology and Visual Sciences, John A Moran Eye Center, University of Utah, Salt Lake City, UT, USA; ⁵Department of Biology, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece

Background: The purpose of this study was to investigate plasma homocysteine levels and polymorphisms in genes encoding enzymes in the metabolic pathway of homocysteine in association with primary open-angle glaucoma (POAG) and pseudoexfoliation glaucoma (PXFG).

Methods: A total of 156 glaucoma patients (76 with POAG and 80 with PXFG) and 135 controls matched for age and sex were enrolled in this study. Plasma homocysteine levels were measured using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay kit. DNA was extracted from peripheral blood leukocytes and real-time polymerase chain reaction was performed for genotyping of the samples. Patients were genotyped using predesigned TaqMan® single nucleotide polymorphism genotyping assays for two exon variations (rs1801131, rs1801133) in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) gene and one intron variation (rs8006686) in the methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (*MTHFD1*) gene.

Results: Homocysteine levels were slightly higher in the patient group (POAG and PXFG) compared with controls, but the difference did not reach statistical significance. The minor alleles of the *MTHFR* single nucleotide polymorphisms showed a protective effect for POAG and showed an increased risk for PXFG, but none of these associations reached statistical significance ($P > 0.05$). The minor allele of *MTHFD1* rs8006686 showed a trend for increased risk of both POAG and PXFG ($P > 0.05$). No statistically significant interaction was seen between the genetic variants and homocysteine levels ($P > 0.05$).

Conclusion: Our results show that neither the examined single nucleotide polymorphisms from genes involved in the pathway of homocysteine metabolism nor the measured homocysteine levels were associated with POAG or PXFG in our study cohort.

Keywords: homocysteine, glaucoma, polymorphisms

Introduction

The open angle glaucomas are chronic and progressive optic neuropathies, which have in common characteristic morphological changes at the optic nerve head and retinal nerve fiber layer in the absence of other ocular disease or congenital anomalies. Progressive retinal ganglion cell death and visual field loss are associated with these findings.¹ Primary open-angle glaucoma (POAG) is the most common type of glaucoma. Intraocular pressure and other currently unknown factors contribute to the optic nerve damage. There is increasing evidence that anatomic or functional abnormalities of the optic nerve head vessels compromising the microcirculation and perfusion might play a role in the pathogenesis of the disease.²⁻⁴

Correspondence: Fani Zacharaki
Frimley Park Hospital, Portsmouth Road,
GU16 7UJ, Camberley, Surrey, UK
Tel +44 75 4949 5990
Email fani_zacharaki@hotmail.com

Pseudoexfoliation is an age-related ocular clinical entity, and is strongly associated with development of glaucoma (pseudoexfoliation glaucoma [PXFG]).⁵ It is characterized by accumulation of fibrinous, flake-shaped material in ocular tissues, especially in the anterior chamber of the eye. Higher intraocular pressure and the presence of disc hemorrhages were reported to be independent risk factors for progression of PXFG.⁶ With the use of electron microscopy methods, several investigators have detected exfoliation material in the extraocular tissue as well, suggesting that exfoliation might be the ocular manifestation of a systemic disorder.^{7,8} A number of systemic vascular disorders, including stroke, acute myocardial infarction, and aneurysms of the abdominal aorta were found to be associated with ocular exfoliation.^{9,10}

Hyperhomocysteinemia is a known risk factor for vascular disease, including brain and heart infarction,^{11,12} as well as retinal vascular occlusions.^{13–15} Based on the hypothesis that vascular dysfunction is one of the factors involved in the pathogenesis of glaucoma,^{2–4,16} homocysteine was studied in several POAG and PXFG cohorts. Increased serum and tear homocysteine levels were found to be present in patients with POAG.^{17,18} Elevated plasma homocysteine levels have also been found in patients with PXFG,^{19,20} and these findings were recently confirmed by two published meta-analyses.^{21,22} The genetic component of circulating homocysteine involves single nucleotide polymorphisms on five genes, ie, methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*), methionine synthase, methionine synthase reductase, methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (*MTHFD1*), and cystathionine β -synthase, encoding enzymes within the pathway of homocysteine metabolism on chromosomes 1, 5, 14, and 21. Some of these single nucleotide polymorphisms have been studied in connection with glaucoma, but none has been shown to have a statistically significant correlation.^{23–26} Two of the genetic variants (rs1801133 and rs1801131) are located in two exons of the *MTHFR* gene on chromosome 1. rs1801133 is a C>T missense variation, leading to increased thermostability and reduced activity of the *MTHFR* enzyme and rs1801131 is an A>C missense variation on the same gene.²⁷ rs8006686 is an intron T>C polymorphism of the *MTHFD1* enzyme gene on chromosome 14. In a study by Fan et al the rs8006686 polymorphism showed a marginally significant association with PXFG, but this finding was not stable after correction for multiple comparisons.²³

Materials and methods

This was a prospective, case-control association study that assessed plasma homocysteine levels and genetic variants

of homocysteine metabolism enzymes in a cohort of Greek patients with either POAG or PXFG as compared with controls. In order to determine the impact of homocysteine on the pathogenesis of glaucoma, three single nucleotide polymorphisms from two genes involved in the pathway of homocysteine metabolism were genotyped and homocysteine levels were measured.

In total, 156 patients (76 with POAG and 80 with PXFG) from the glaucoma clinic at the University Hospital of Larissa, Greece, were enrolled in the study. The control group consisted of 135 individuals from the cataract clinic of the same hospital. All subjects were unrelated. The study was approved by the local ethics committee and carried out in accordance with the Declaration of Helsinki. All subjects were of Greek nationality and from the same geographic region (central Greece), and had signed their informed consent before entering the study.

All patients underwent a complete ophthalmological examination, including anterior and posterior segment evaluation. The corneal endothelium, iris, iris margins, and the anterior lens surface were evaluated for exfoliative material before and after dilation. Intraocular pressure was measured using a Goldmann applanation tonometer (Haag-Streit, Koeniz-Berne, Switzerland). Gonioscopy was performed to evaluate the depth of the anterior chamber angle and the presence of pseudoexfoliative material and/or hyperpigmentation. Dilated funduscopic examination was performed to evaluate the optic nerve for typical glaucomatous changes. Visual field examination was performed using the 24-2 setting of the Humphrey Field Analyzer automated perimeter and the Swedish Interactive Threshold Algorithm.

Inclusion criteria for POAG patients were intraocular pressure over 22 mmHg on at least two measurements, an open anterior chamber angle determined with gonioscopy, and visual field and optic nerve changes consistent with glaucoma. Presence of exfoliation material in the anterior chamber established the diagnosis of PXFG. Control subjects had no evidence of exfoliative material at the anterior lens capsule or pupillary margin, and had intraocular pressure of less than 22 mmHg. Control subjects had normal visual fields, an open anterior chamber angle, no evidence of glaucomatous changes in the optic disc, and no history of glaucoma or ocular hypertension in first-degree relatives. Subjects with pseudoexfoliation syndrome (with or without ocular hypertension) or ocular hypertension were excluded from the study. The nutritional status of both patients and controls was assessed using the Subjective Global Nutritional

Assessment test, according to Detsky et al.²⁸ Only subjects classified as “well nourished” were included.

Individuals with systemic conditions known to influence homocysteine levels or using medications or nutritional supplements that interfere with homocysteine metabolism, such as renal disease, B₁₂ malabsorption, high alcohol intake, methotrexate, phenytoin, carbamazepine, or fibrate therapy were excluded.^{29–31} Individuals with a history of bilateral cataract extraction, previous intraocular inflammation, or major ocular disease were also excluded.

Fasting plasma homocysteine levels were determined using a commercially available homocysteine enzyme immunoassay kit (Axis®; Axis-Shield, Dundee, UK), following the manufacturer’s instructions. Homocysteine levels were measured in µmol/L.

Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes using a commercially available DNA extraction kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) according to the manufacturer’s standard protocol. Genotyping was performed using real-time polymerase chain reaction predesigned TaqMan® single nucleotide polymorphism genotyping assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Patients were genotyped for three single nucleotide polymorphisms, ie, two exon *MTHFR* variations, 1298A>C (rs1801131) and C677T, (rs1801133), and one intron *MTHFD1* variation (rs8006686).

Deviation from Hardy–Weinberg equilibrium was tested on each single nucleotide polymorphism using the chi-squared test in the unaffected population. Single nucleotide polymorphisms were tested for association using the minor allele, as defined by the allele occurring less frequently in the control subjects. Allelic and covariate associations with glaucoma were performed in SAS (version 9.1; Cary, NC, USA) using logistic regression. Age and homocysteine levels were tested for association with glaucoma as continuous variables while sex was tested as dichotomous. Separate analyses were performed assuming additive, dominant, and recessive genetic models for allelic association. Tests for interaction

between the genetic variants and homocysteine levels were performed by adding an interaction term to the logistic regression model including both variables. Linkage disequilibrium (r^2) between single nucleotide polymorphisms on the same chromosome was determined using the Haploview program (<http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview/>).

Results

Data were available for 291 subjects. Of these, 76 had POAG and 80 had PXFG, and 135 were controls. Subject characteristics are shown in Table 1 and the genotype and allele frequencies in Table 2. All patients were Caucasian. The average age, proportion of males, and homocysteine levels were similar between the groups (Table 1) and showed no statistically significant differences (Table 3). Homocysteine levels were higher in patients as compared with controls, but were not significantly different, although there was a larger difference in homocysteine levels between PXFG and controls (1.1 µmol/L) than between POAG and controls (0.2 µmol/L). Increasing age was associated with an increased risk of PXFG ($P=0.0021$, Table 2). The two single nucleotide polymorphisms in the *MTHFR* gene (rs1801133 and rs1801131) and the one single nucleotide polymorphism in the *MTHFD1* gene (rs8006686) were in Hardy–Weinberg equilibrium (data not shown). The single nucleotide polymorphisms in the *MTHFR* gene were not in high linkage disequilibrium among the controls ($r^2=0.34$, Figure 1), and had identical linkage disequilibrium in each glaucoma subtype (data not shown). The minor alleles of the *MTHFR* single nucleotide polymorphisms were in a protective direction for POAG, whereas they showed an increased risk for PXFG, but none of these associations reached statistical significance ($P>0.05$, Table 2). The minor allele of *MTHFD1*, rs8006686, showed a trend of increased risk for both POAG and PXFG, but this was not statistically significant ($P>0.05$, Table 2). No statistically significant interaction was seen between the genetic variants and homocysteine levels ($P>0.05$, data not shown).

Table 1 Subject characteristics

Characteristic	Controls (n=135)	POAG (n=76)	PXFG (n=80)
Male (% total)	73 (54.1%)	43 (56.6%)	52 (65.0%)
Mean ± SD age, years	71.3±8.6	71.2±9.8	75.0±6.6
Mean ± SD homocysteine level	16.3±5.7	16.5±6.1	17.4±6.3
MTHFR rs1801131 MAF	G =30.8%	G =29.5%	G =36.5%
MTHFR rs1801133 MAF	A =43.1%	A =41.4%	A =36.8%
MTHFD1 rs8006686 MAF	C =21.4%	C =22.5%	C =24.3%

Abbreviations: POAG, primary open angle glaucoma; PXFG, pseudoexfoliation glaucoma; SD, standard deviation; MAF, minor allele frequency; MTHFR, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; MTHFD1, methylenetetrahydrofolate dehydrogenase.

Table 2 Genotype and allele frequencies

	Normal		POAG		PXFG	
	Frequency	n	Frequency	n	Frequency	n
MTHFR						
rs1801131						
Genotype						
TT	48.12%	64	50.00%	33	41.89%	31
GT	42.11%	56	40.91%	27	43.24%	32
GG	9.77%	13	9.09%	6	14.86%	11
Total		133		66		74
Allele						
T	69.17%	184	70.45%	93	63.51%	94
G	30.83%	82	29.55%	39	36.49%	54
Total		266		132		148
MTHFR						
rs1801133						
Genotype						
GG	30.00%	39	34.38%	22	40.28%	29
AG	53.85%	70	48.44%	31	45.83%	33
AA	16.15%	21	17.19%	11	13.89%	10
Total		130		64		72
Allele						
G	56.92%	148	58.59%	75	63.19%	91
A	43.08%	112	41.41%	53	36.81%	53
Total		260		128		144
MTHFD1						
rs8006686						
Genotype						
TT	62.60%	82	61.97%	44	56.94%	41
CT	32.06%	42	30.99%	22	37.50%	27
CC	5.34%	7	7.04%	5	5.56%	4
Total		131		71		72
Allele						
T	78.63%	206	77.46%	110	75.69%	109
C	21.37%	56	22.54%	32	24.31%	35
Total		262		142		144

Abbreviations: POAG, primary open angle glaucoma; PXFG, pseudoexfoliation glaucoma; MTHFR, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; MTHFD1, methylenetetrahydrofolate dehydrogenase.

Table 3 Association results

Variable	Risk	Model	POAG				PXFG			
			OR	95% CI low	95% CI high	P-value	OR	95% CI low	95% CI high	P-value
Age		Continuous	0.998	0.968	1.030	0.9232	1.063	1.022	1.105	0.0021
Homocysteine levels		Continuous	1.006	0.957	1.057	0.8152	1.034	0.985	1.084	0.1764
MTHFR rs1801131	G	Additive	0.942	0.599	1.481	0.7950	1.278	0.841	1.942	0.2497
MTHFR rs1801131	G	Dominant	0.928	0.514	1.674	0.8027	1.287	0.725	2.283	0.3892
MTHFR rs1801131	G	Recessive	0.923	0.334	2.549	0.8771	1.612	0.683	3.805	0.2761
MTHFR rs1801133	A	Additive	0.929	0.596	1.448	0.7463	0.757	0.491	1.167	0.2078
MTHFR rs1801133	A	Dominant	0.818	0.432	1.548	0.5374	0.635	0.348	1.160	0.1400
MTHFR rs1801133	A	Recessive	1.077	0.484	2.397	0.8552	0.837	0.371	1.891	0.6691
MTHFD1 rs8006686	C	Additive	1.065	0.662	1.714	0.7941	1.177	0.730	1.897	0.5033
MTHFD1 rs8006686	C	Dominant	1.027	0.566	1.863	0.9305	1.265	0.705	2.272	0.4309
MTHFD1 rs8006686	C	Recessive	1.342	0.410	4.393	0.6268	1.042	0.295	3.687	0.9489
Sex	Female	Dichotomous	0.904	0.513	1.591	0.7256	0.634	0.358	1.122	0.1176

Abbreviations: CI, confidence interval; OR, odds ratio; POAG, primary open angle glaucoma; PXFG, pseudoexfoliation glaucoma; MTHFR, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; MTHFD1, methylenetetrahydrofolate dehydrogenase.

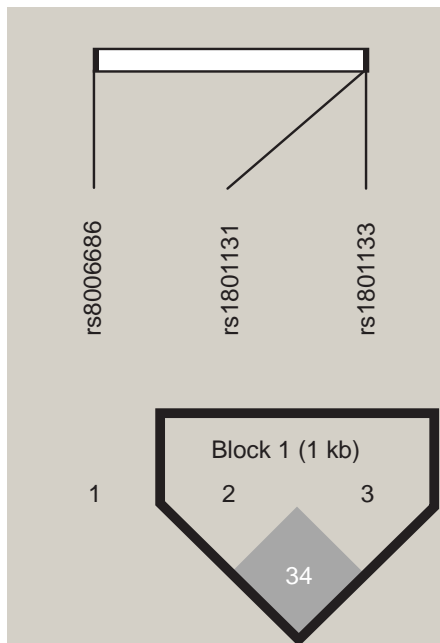


Figure 1 Linkage disequilibrium within **MTHFR** single nucleotide polymorphisms. **Abbreviation:** MTHFR, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase.

Discussion

The association between plasma homocysteine levels and glaucoma remains inconsistent. In the present study, we did not find an association between single nucleotide polymorphisms 1298A>C (rs1801131) and C677T (rs1801133) in the *MTHFR* gene and one intron variation (rs8006686) in the *MTHFD1* gene and POAG or PXFG. In addition, no significant difference in plasma homocysteine levels was observed between patients and controls. In accordance with our results, Turaçlı et al found no significant association between homocysteine levels and pseudoexfoliation syndrome (PXFS) and PXFG in a cohort of Turkish patients.²⁶ Interestingly, a recent study in a Pakistani population reported elevated homocysteine levels and a higher prevalence of the rs1801133 and rs1801131 polymorphisms in patients with primary angle-closure glaucoma, but not in those with POAG.²⁵ On the other hand, a number of previous studies have reported that plasma homocysteine was elevated in patients with pseudoexfoliation with or without glaucoma. Bleich et al were unique in reporting elevated homocysteine levels in plasma and aqueous humor for both POAG and PXFG patients when compared with controls.^{17,18,32} Similarly, plasma homocysteine levels were associated with PXFG and PXFS in a number of studies when compared with groups of patients with nonexfoliation or normal controls.^{19,33–36} The association between homocysteine levels and PXFG was confirmed by a very recent

meta-analysis that included data from 14 studies (485 cases and 456 controls).²² Several other groups of investigators did not confirm the association between homocysteine and POAG.^{20,35,37,38} However, a meta-analysis by Xu et al reviewed the results of 12 studies investigating the relationship between homocysteine levels and POAG and concluded that POAG is associated with higher homocysteine levels.²¹

Regarding the genetic aspect of homocysteine metabolism, no study has found a significant association between single nucleotide polymorphisms in homocysteine metabolism genes and open-angle glaucoma,^{23–26} which is consistent with our results. However, it should be noted that most of the studies tested the rs1801133 polymorphism and only Fan et al included all 17 single nucleotide polymorphisms of the homocysteine metabolism genes.²³

In addition to inherited disorders of the homocysteine metabolism enzymes, several known conditions can result in elevated homocysteine levels, including vitamin B₆ and B₁₂ or folic acid deficiency, renal disease, hypothyroidism, advanced age, and smoking. Different dietary habits or lifestyle due to cultural particularities might result in heterogeneous results among distinct ethnic groups. A detailed medical history was taken for both patients and controls, and the Subjective Global Nutritional Assessment test was used to minimize the potential impact of these factors on measured homocysteine values. However, no data were available for smoking status, weight, and physical activity levels, and this was one of the limitations of the study. Additionally, it would be reasonable to assume that variation in the laboratory methods used to determine plasma homocysteine levels might partly explain the inconsistent findings.³⁸

Our study has all the limitations that apply to genetic association studies.^{39,40} The sample sizes required to predict association need to be far beyond what is currently available, and any single institution or entity alone would probably not be able to provide a reasonable number of patients. Collaborative studies with large cohorts of patients would be required to provide more power to detect significant relationships. Alternatively, consortia performing gene candidate or genome-wide association studies will be able to replicate the validity of the present findings.

Nevertheless, the present study fulfills the minimum requirements for an association study to be informative. These include controls matched for age and sex, a good scientific rationale, presence of Hardy–Weinberg equilibrium in genotypes, and a similar ethnic background.³⁹ In our case, the study population constitutes a very homogeneous Caucasian cohort, as all subjects originate from the central

part of our country. In addition, because our hospital is the only tertiary institution covering a rural and urban region with nearly one million inhabitants, and more severe patients are usually referred to us, we cannot exclude the possibility of selection bias.

Conclusion

Neither single nucleotide polymorphisms in the genes involved in the pathway of homocysteine metabolism nor measured homocysteine levels were shown to be associated with either POAG or PFXG in this study cohort.

Acknowledgments

This work was supported by an unrestricted grant from Research to Prevent Blindness, Inc, New York, NY, USA, to the Department of Ophthalmology and Visual Sciences, University of Utah, UT, USA, and a grant (code 2989) from the Research Committee, University of Thessaly, Greece.

Disclosure

The authors declare that they have no commercial interest in the subject of this paper or in entities discussed therein to disclose. These data have not been presented previously. **The authors report no conflict of interest in this work.**

References

- European Glaucoma Society. Terminology and Guidelines for Glaucoma. 3rd ed. 2008. Available from: http://www.eugs.org/eng/EGS_guidelines.asp. Accessed May 27, 2014.
- Flammer J. The vascular concept in glaucoma. *Surv Ophthalmol*. 1994; 38 Suppl:S3–S6.
- Flammer J, Orgül S, Costa VP, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2002;21:359–393.
- Hayreh SS. Blood flow in the optic nerve head and factors that may influence it. *Prog Retin Eye Res*. 2001;20:595–624.
- Mitchell P, Wang J, Hourihan F. The relationship between glaucoma and pseudoexfoliation. The Blue Mountains Eye Study. *Arch Ophthalmol*. 1999;117:1319–1324.
- Holló G, Quaranta L, Cvenkel B, et al. Risk factors associated with progression in exfoliative glaucoma patients. *Ophthalmic Res*. 2012;47: 208–213.
- Amari F, Umihira J, Nohara M, et al. Electron microscopic immunohistochemistry of ocular and extraocular pseudoexfoliative material. *Exp Eye Res*. 1997;65:51–56.
- Schlötzer-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GO, Volkholz H. Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder? *Arch Ophthalmol*. 1992;110:1952–1956.
- Mitchell P, Wang JJ, Smith W. Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. *Am J Ophthalmol*. 1997;124: 685–687.
- Shrum KR, Hattenhauer MG, Hodge D. Cardiovascular and cerebrovascular mortality associated with ocular pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol*. 2000;129:83–86.
- McQuillan BM, Beilby JP, Nidorf M, Thompson PL, Hung J. Hyperhomocysteinemia but not the C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase is an independent risk determinant of carotid wall thickening. The Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Study. *Circulation*. 1999;99:2383–2388.
- Wald D, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from meta-analysis. *BMJ*. 2002;325:1202–1208.
- Pianka P, Almog Y, Man O, Goldstein M, Sela B, Loewenstein A. Hyperhomocysteinemia in patients with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy, central retinal artery occlusion and central retinal vein occlusion. *Ophthalmology*. 2000;107:1588–1592.
- Weger M, Stanger O, Deutschmann H, et al. Hyperhomocyst(e)inaemia, but not C677T mutation, as a risk factor for non-arteritic ischaemic neuropathy. *Br J Ophthalmol*. 2001;85:803–808.
- Cahlil MT, Stinnett SS, Fekrat S. Meta-analysis of plasma homocysteine, serum folate, serum vitamin B₁₂, and thermolabile MTHFR genotype as risk factors for retinal vascular occlusive disease. *Am J Ophthalmol*. 2003;136:1136–1150.
- Flammer J, Haefliger IO, Orgul S, Resnik T. Vascular dysregulation: a principal risk factor for glaucomatous damage? *J Glaucoma*. 1999;8: 212–219.
- Bleich S, Jünemann A, von Ahsen N, et al. Homocysteine and risk of open-angle glaucoma. *J Neural Transm*. 2002;109:1499–1504.
- Roedl JB, Bleich S, Reulbach U, et al. Homocysteine levels in aqueous humor and plasma of patients with primary open-angle glaucoma. *J Neural Transm*. 2007;114:445–450.
- Leibovitch I, Kurtz S, Shemesh G, et al. Hyperhomocysteinemia in pseudoexfoliation glaucoma. *J Glaucoma*. 2003;12:36–39.
- Tranchina L, Centofanti M, Oddone F, et al. Levels of plasma homocysteine in pseudoexfoliation glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011;249:443–448.
- Xu F, Zhao X, Zeng SM, Li L, Zhong HB, Li M. Homocysteine, B vitamins, methylene tetrahydrofolate reductase gene, and risk of primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. *Ophthalmology*. 2012;119: 2493–2499.
- Xu F, Zhang L, Li M. Plasma homocysteine, serum folic acid, serum vitamin B12, serum vitamin B6, MTHFR and risk of pseudoexfoliation glaucoma: a meta-analysis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2012;250:1067–1074.
- Fan BJ, Chen T, Grosskreutz C, et al. Lack of association of polymorphisms in homocysteine metabolism genes with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma. *Mol Vis*. 2008;14:2484–2491.
- Mossböck G, Weger M, Faschinger C, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T polymorphism and open angle glaucoma. *Mol Vis*. 2006;12:356–359.
- Shazia M, Raheel Q, Farah A, Muhammad IK, Wajid AK, Asifa A. MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and homocysteine levels in primary open angle and primary closed angle glaucoma. *Mol Vis*. 2009;15:2268–2278.
- Turaçlı ME, Tekeli O, Özdemir F, Akar N. Methylene tetrahydrofolate reductase 677 C-T and homocysteine levels in Turkish patients with pseudoexfoliation. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2005;33: 505–508.
- Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995;10:111–113.
- Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, et al. What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1987; 11:8–13.
- Westphal S, Dierkes J, Luley C. Effects of fenofibrate and gemfibrozil on plasma homocysteine. *Lancet*. 2001;358:39–40.
- de Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, Kromhout D. Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Epidemiol*. 2001;154:150–154.
- Brattstrom L, Lindgren A, Israelsson B, Anderson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med*. 1994;236:633–641.
- Roedl JB, Bleich S, Reulbach U, et al. Vitamin deficiency and hyperhomocysteinemia in pseudoexfoliation glaucoma. *J Neural Transm*. 2007;114:571–575.
- Vessani R, Ritch R, Liebmann J, Jofe M. Plasma homocysteine is elevated in patients with exfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2003; 136:41–46.

34. Puustjärvi T, Blomster H, Kontkanen M, Punnonen K, Teräsvirta M. Plasma and aqueous humour levels of homocysteine in exfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2004;242:749–754.
35. Altıntaş Ö, Maral H, Yüksel N, Karabaş V, Dillioğlugil MÖ, Çağlar Y. Homocysteine and nitric oxide levels in plasma of patients with pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliation glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243:677–683.
36. Cumurcu T, Sahin S, Aydin E. Serum homocysteine, vitamin B12 and folic acid levels in different types of glaucoma. *BMC Ophthalmol*. 2006;6:6.
37. Wang G, Medeiros FA, Barshop BA, Weinreb RN. Total plasma homocysteine and primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2004;137:401–406.
38. Centers for Disease Control and Prevention. Assessment of laboratory tests for plasma homocysteine – selected laboratories, July–September 1998. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1999;48:1013–1015.
39. Cardon LR, Bell JL. Association study designs for complex diseases. *Nat Rev Genet*. 2001;2:91–99.
40. Zintzaras E, Lau J. Trends in meta-analysis of genetic association studies. *J Hum Genet*. 2008;53:1–9.

Clinical Ophthalmology

Publish your work in this journal

Clinical Ophthalmology is an international, peer-reviewed journal covering all subspecialties within ophthalmology. Key topics include: Optometry; Visual science; Pharmacology and drug therapy in eye diseases; Basic Sciences; Primary and Secondary eye care; Patient Safety and Quality of Care Improvements. This journal is indexed on

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/clinical-ophthalmology-journal>

Dovepress

PubMed Central and CAS, and is the official journal of The Society of Clinical Ophthalmology (SCO). The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.