



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
Διευθυντής: Καθηγητής Ευάγγελος Μαρίνος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
«Γενετική ανάλυση του πρωτοπαθούς γλαυκώματος
ανοικτής γωνίας στον Ελληνικό πληθυσμό»

ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ Κ. ΛΑΒΑΡΗΣ
ΙΑΤΡΟΣ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα.
(νόμος 5343/1932, άρθρο 202, παράγραφος 2)

ΟΡΚΟΣ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ



Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσιν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε.

Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρήζωσι μαθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἱητρικῷ, ἄλλω δὲ οὐδενί.

Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξιν.

Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν.

Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε.

Ἐς οἰκίας δὲ ὁκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίας, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων.

Ἄ ὃ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπηίης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἡγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα.

Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιεόντι, καὶ μὴ συγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιόρκοῦντι, τάναντία τουτέων.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ: «Γενετική ανάλυση του πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας στον Ελληνικό πληθυσμό.»

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 26.11.2014

Ημερομηνία καταθέσεως διδακτορικής διατριβής: 08.12.2017

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου

Αθηνών: Καθηγητής Πέτρος Π. Σφηκάκης

Διευθυντής Εργαστηρίου Βιολογίας: Καθηγητής Ευάγγελος Μαρίνος

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

- ΜΑΡΙΑ ΓΑΖΟΥΛΗ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών (Επιβλέπουσα της διατριβής)
- ΜΑΡΙΑ-ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ Μ. ΜΟΣΧΟΥ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΠΡΟΥΖΑΣ, Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

- ΚΟΥΤΣΑΝΔΡΕΑ ΧΡΥΣΑΝΘΗ, Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- ΚΥΡΙΑΚΟΠΟΥΛΟΥ-ΛΥΜΠΕΡΗ ΜΑΡΙΑ, Καθηγήτρια Πειραματικής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- ΓΑΖΟΥΛΗ ΜΑΡΙΑ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- ΜΟΣΧΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ-ΜΑΡΙΑ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- ΜΠΡΟΥΖΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- ΜΑΡΙΝΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ, Καθηγητής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- ΧΑΤΖΗΣΤΕΦΑΝΟΥ ΚΛΕΙΩ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

- Ημερομηνία γέννησης: 29.07.1986 , Αθήνα.
- 2004: Απόφοιτος Ενιαίου Γυμνασίου-Λυκείου "Μ.Λαμπήρη" με γενικό μέσο όρο 19.3/20.
- Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Εισαγωγή τον Σεπτέμβριο του 2004 μέσω Πανελληνίων Εξετάσεων, αποφοίτηση τον Μάρτιο του 2011 με βαθμό πτυχίου 'Λίαν καλώς' και γενικό μέσο όρο 7.15.
- Γνώσεις ξένων γλωσσών: Αγγλικά (Cambridge University Advanced certificate in English-C1), Γερμανικά (Goethe Institut Mittelstufenprufung-B2).
- Στρατιωτική θητεία: Στρατός ξηράς, Υγειονομικό σώμα- Ιατρός μονάδος, 27/10/2011 έως 27/6/2012.
- Από 4/7/2011-21/10/2011 και από 28/6/2012-10/9/2012 εργασία ως βοηθός σε ιδιωτικό οφθαλμολογικό ιατρείο.
- Παρακολούθηση και συμμετοχή στις εργασίες των τμημάτων Υαλοειδούς, Ηλεκτροφυσιολογίας και Γλαυκώματος της Α' Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Γ.Ν.Α. «Γ.Γεννηματάς» από Σεπτέμβριο 2012 έως Φεβρουάριο 2016.
- Σε έμμισθη θέση μερικής απασχόλησης στην οφθαλμολογική κλινική 'Athens Eye Hospital' από 1^η Ιουνίου 2013 έως 29^η Αυγούστου 2014.
- Άσκηση στην ειδικότητα της Οφθαλμολογίας (7/1/2015-5/4/2015) στο Γενικό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου Λασιθίου Κρήτης.
- Από 9/2/2016 ως και σήμερα Ειδικευόμενος Ιατρός της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Γ.Ν.Α. 'Η Ελπίς'.

Δημοσιευμένα papers σε διεθνή peer-reviewed journals:

- 1) Moschos MM, Nitoda E, **Lavaris A**. Estimation of depression prevalence in patients with Stargardt disease using PHQ-9 and Zung scores. Eur J Ophthalmol. 2015 Nov 2:0. PMID:26541115
- 2) **Lavaris A**, Gazouli M., Kitsos G, Brouzas D, Moschos MM. Association of Superoxide Dismutase 2 Polymorphism Rs4880 and Open-Angle Glaucoma in a Greek Patients' Cohort. *J Genet Syndr Gene Ther*. 2015 7(285), 2.
- 3) **Lavaris A**, Gazouli M, Brouzas D, Moschos MM. Polymorphism Analysis of GSTM1 and OPA1 Genes in Greek Patients with Primary Open-angle Glaucoma. *In Vivo*. 2016 07-08;30(4):473-477. PMID: 27381611
- 4) Moschos MM, Panos GD, **Lavaris A**, Droutsas K, Gatziofufas Z. Trabeculectomy withor without Anterior Chamber Maintainer: A Study on Intraocular Pressure, Endothelial Cells, and Central Corneal Thickness. *Semin Ophthalmol*. 2016 Jul 29:1-3. PMID: 27471899.

- 5) Brouzas D, Dettoraki M, **Lavaris A**, Kourvetaris D, Nomikarios N, Moschos MM. Postoperative eccentric macular holes after vitrectomy and internal limiting membrane peeling. *Int Ophthalmol*. 2016 Aug 16. PMID: 27531517
- 6) **Lavaris A**, Rotsos T, Moschos MM. Vision Loss after Endoscopic Sinus Surgery: A First Case Report Assessed by OCT and VEP. *J Clin Case Rep* 2016 6.806: 2.

→ Άρθρα σε Ελληνικά επιστημονικά περιοδικά:

- 1) **Λάβαρης Α**, Γαζούλη Μ, Νιτοδά Ε, Καραθάνου Α, Λιγνάδης Φ, Κίτσος Γ, Μόσχου ΜΜ. Το γενετικό υπόβαθρο του κερατόκωνου: Μια ανασκόπηση των υπεύθυνων γονιδίων. *Οφθαλμολογικά Χρονικά*. 2017, 1:13-21.

Lavaris A, Gazouli M, Nitoda E, Karathanou E, Lignadis F, Kitsos G, Moschou MM. The genetic background of Keratoconus: A review in Keratoconus genes. *Greek Annals of Ophthalmology*. 2017, 1:13-21.

→ Κλινικές μελέτες:

- **Co-investigator στην κλινική μελέτη OCTAVE** (A 24-month, phase IIIb, randomized, double-masked, multicenter study assessing the efficacy and safety of two treatment regimens of 0.5 mg ranibizumab intravitreal injections guided by functional and/or anatomical criteria, in patients with neovascular age-related macular degeneration-NOVARTIS AG).

→ Συμμετοχή σε μετεκπαιδευτικά courses & observerships :

- **Moorfields Eye Hospital:** Observership στο τμήμα Cornea & External Eye Disease του νοσοκομείου διάρκειας μιας εβδομάδας, 4 έως 8 Σεπτεμβρίου 2017.
- **Moorfields Eye Hospital A&E Course**, Λονδίνο, 3 Μαρτίου 2017.
- **Microsurgical Skills Course**, The Royal College of Ophthalmologists, Λονδίνο, 19-21 Οκτωβρίου 2016.
- **ATLS Course**. Αθήνα, 19-20 Νοεμβρίου 2016.
- **Σεμινάριο Διάθλασης**. Ελληνική Εταιρεία Ενδοφακών και Διαθλαστικής Χειρουργικής, Αθήνα, 9-11 Οκτωβρίου 2015.

→ Ανακοινώσεις σε συνέδρια :

1. Προφορική ανακοίνωση:

‘Οι ρετινοτομές και ρετινεκτομές στην αποκατάσταση των επιπλεγμένων αποκολλήσεων αμφιβληστροειδούς.’ **Μπρούζας Δ.,**

Δετοράκη Μ., Κρασσάς Γ, Λάβαρης Α., Δάβου Σ., Ανδρεάνος Κ., Νομικάριος Ν., Λαδάς Ι.

46^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Μεσσηνία, 23-26 Μαΐου 2013.

2. Προφορική ανακοίνωση:

“Trabeculectomy with or without anterior chamber maintainer: a comparative study on intraocular pressure, endothelial cells and central corneal thickness.”

M. Moschos, G.D. Panos, Z. Gatzoufas, A. Lavaris, T. Shaarawy, K.R. Martin

Παρουσιάστηκε στο 8th International Congress on Glaucoma Surgery, 17-20 Φεβρουαρίου 2016, Muscat, Oman και έλαβε 1^ο βραβείο καλύτερης εργασίας. (icgs2016 abstract book, page 11)

3. Προσωπική προφορική ανακοίνωση:

“Ανάλυση πολυμορφισμών στα γονίδια GSTM1 και OPA1 σε Έλληνες ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας.”

Λάβαρης Α., Γαζούλη Μ., Μπρούζας Δ., Μόσχου Μ.

49ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, 26-28 Μαΐου 2016.

(κωδικός ανακοίνωσης A17)

4. Προσωπική προφορική ανακοίνωση:

“Οφθαλμολογικές επιπλοκές των παραρρινοκολπιτίδων.”

Κ.Πλατάρη, Ε.Βαζαίου, Ά.Βαζαίου, Γ.Καραγεώργος, Β.Μανέττας, Δ.Λυτρίβη, Α.Λάβαρης, Α.Λεγάκη. 43^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 10-13 Μαΐου 2017.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος.....σελ.11

Γενικό μέρος

1. Ορισμοί και επιδημιολογικά στοιχεία.....σελ.15
2. Ιστορική αναδρομή γλαυκώματος.....σελ.16
3. Στοιχεία ανατομίας και φυσιολογίας.....σελ.20
4. Ταξινόμηση γλαυκωμάτων.....σελ.25
5. Παράγοντες κινδύνου ΠΓΑΓ.....σελ.27
6. Κλινική εκτίμηση και θεραπευτική προσέγγιση του ΠΓΑΓ.....σελ.30
7. Γενετική προσέγγιση πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας..σελ.35

Ειδικό μέρος

1. Σκοπός μελέτης.....σελ.48
2. Ασθενείς και μέθοδος.....σελ.49
-Διαλογή συμμετεχόντων και κλινική εκτίμηση.....σελ.49
-Γονιδιακή και στατιστική ανάλυση.....σελ.54
3. Αποτελέσματα.....σελ.57
4. Συζήτηση.....σελ.61

Abstracts.....σελ.67

Βιβλιογραφικές αναφορές.....σελ.71

Στη Μητέρα μου,

Στη μνήμη του Πατέρα μου,

Στους Καθηγητές μου.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το γλαύκωμα, μια νοσολογική οντότητα με αναφορές ήδη από την εποχή του Ιπποκράτη, εξακολουθεί ακόμη και σήμερα να εγείρει προβληματισμούς ως προς την αιτιοπαθογένεια, τις δυνατότητες πρόληψης και αποτελεσματικής θεραπείας. Αποτελεί την πρώτη παγκοσμίως αιτία μη αναστρέψιμης τύφλωσης, συχνά και σε άτομα που βρίσκονται σε παραγωγική ηλικία, λαμβάνοντας πλέον κοινωνικοοικονομικές διαστάσεις.

Ο συχνότερα απαντώμενος τύπος, το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (ΠΓΑΓ) εμφανίζεται συχνά σε οικογενή μορφή. Τα τελευταία χρόνια με την πρόοδο της γενετικής ανάλυσης έχουν χαρτογραφηθεί γενετικοί τόποι με πιθανή συσχέτιση με την παθογένεια της νόσου και έχουν ταυτοποιηθεί γονίδια ικανά να προκαλέσουν ΠΓΑΓ χωρίς την επίδραση άλλων γενετικών ή περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να διερευνηθούν, πολυμορφισμοί με πιθανή συσχέτιση με το ΠΓΑΓ που δεν έχουν μέχρι στιγμής μελετηθεί στον Ελληνικό πληθυσμό. Οι ολοένα αυξανόμενες ενδείξεις του ρόλου του οξειδωτικού στρες στην παθογένεια της νόσου και τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των μέχρι στιγμής μελετών μας οδήγησαν να διερευνήσουμε τον πιθανό ρόλο πολυμορφισμών στα γονίδια **GSTM1**, **SOD2** και **OPA1** στην παθογένεια της νόσου.

Θέλω ολόψυχα να ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη και τη βοήθειά τους, αλλά και να αφιερώσω αυτή τη μελέτη στους Καθηγητές μου, που αποτέλεσαν την τριμελή συμβουλευτική επιτροπή:

- Την κυρία **Μαρία Γαζούλη**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, η οποία ανέλαβε την επίβλεψη της συγκεκριμένης μελέτης, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου αυτό το έργο αλλά και την πολύτιμη και ακούραστη αρωγή της σε όλη τη διαδρομή.

- Την κυρία **Μαριλίτα Μόσχου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την υπομονή και την συνδρομή της σε όλα τα στάδια αυτού του έργου, αλλά και τις πολύτιμες γνώσεις που απέκτησα δίπλα της, τόσο στην έρευνα, όσο και στην κλινική πράξη.

- Τον κύριο **Δημήτριο Μπρούζα**, Αναπληρωτή Καθηγητή Οφθαλμολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και Δάσκαλό μου στην Οφθαλμολογία για την συμπαράσταση, τη συνεχή καθοδήγησή, και τις συμβουλές του που θα μείνουν αλησμόνητες.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ΠΓΑΓ: Πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας

ΧΑΓ: Χρόνιο απλό γλαύκωμα

ΕΟΠ: Ενδοφθάλμια πίεση

OCT: Optical coherence tomography, οπτική τομογραφία συνοχής

HRT: Heidelberg retinal tomography

SLP: Scanning laser polarimetry

LPI: Laser peripheral iridotomy

ALT: Argon laser trabeculoplasty

SLT: Selective laser trabeculoplasty

CCC: Central corneal thickness/ Κεντρικό πάχος κερατοειδούς

CPC: Cyclophotocoagulation/ Κυκλοφωτοπηξία

ROS: Reactive oxygen species/ Ενεργές μορφές οξυγόνου

GSTM1: Glutathione transferase mu1 / τρανσφεράση γλουταθειόνης
M1

SOD: Superoxide dismutase/ υπεροξειδική δισμουτάση

SNP: Single nucleotide polymorphism/ μονονουκλεοτιδικός
πολυμορφισμός

RGC's: Αμφιβληστροειδικά γαγγλιακά κύτταρα

PCR: Polymerase Chain Reaction/ Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ.

Ως γλαύκωμα ορίζεται μια ομάδα πολυπαραγοντικής αιτιολογίας νοσολογικών οντοτήτων που εμφανίζουν χαρακτηριστική οπτική νευροπάθεια με δομικές και λειτουργικές αλλοιώσεις του οπτικού νεύρου, απόπτωση των αμφιβληστροειδικών γαγγλιακών κυττάρων και χαρακτηριστικές αλλοιώσεις στο οπτικό πεδίο του ασθενούς. Η ενδοφθάλμια πίεση παρόλο που δεν συμμετέχει στον ορισμό του γλαυκώματος, είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση και εξέλιξη της νόσου [1].

Παραδοσιακά, το γλαύκωμα κατατάσσεται βάσει του εύρους της ιριδοκερατοειδικής γωνίας του προσθίου θαλάμου του οφθαλμού σε ανοικτής ή κλειστής γωνίας γλαύκωμα και σε πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές. Το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (ΠΓΑΓ) ή χρόνιο απλό γλαύκωμα (ΧΑΓ) χαρακτηρίζεται από ανοικτή γωνία προσθίου θαλάμου, ενδοφθάλμια πίεση (ΕΟΠ) μεγαλύτερη από 21mmHg, και απουσία εμφανών κλινικά παθολογικών οντοτήτων που μπορεί να μειώσουν την απορροή του υδατοειδούς υγρού.

Το γλαύκωμα είναι η δεύτερη αιτία τύφλωσης παγκοσμίως μετά τον καταρράκτη και η πρώτη αιτία μη αναστρέψιμης τύφλωσης. Η παγκόσμια επίπτωση του γλαυκώματος σε πληθυσμό ηλικίας 40 έως 80 ετών υπολογίζεται σε 3.54% και στον γενικό πληθυσμό σε 2%. Η επίπτωση στους διάφορους πληθυσμούς εμφανίζει διακυμάνσεις από 0.8% σε πληθυσμούς της βόρειας Ευρώπης έως και 7% σε πληθυσμούς της Καραϊβικής[2]. Το 2010 ο αριθμός των πασχόντων υπολογιζόταν σε 67 εκατομμύρια και αναμένεται το 2020 να έχει ανέλθει σε 80 και ως το 2040 σε 110 εκατομμύρια[2,3], στα πλαίσια της παγκόσμιας πληθυσμιακής αύξησης αλλά και της αύξησης του μέσου όρου ηλικίας του πληθυσμού. Η συχνότερη μορφή γλαυκώματος παγκοσμίως, που αντιστοιχεί στο 70% του συνόλου, είναι το ΠΓΑΓ [4], αξιοσημείωτο είναι δε, ότι λόγω της φύσης της νόσου έως και 72% των νοσούντων παραμένουν αδιάγνωστοι [5].

Τα παραπάνω δεδομένα τονίζουν την ανάγκη εξέλιξης τεχνολογιών έγκαιρης και αξιόπιστης διάγνωσης, νέων μεθόδων αποτελεσματικής θεραπείας αλλά και πρόληψης. Μέρος αυτής της στρατηγικής είναι και η ταυτοποίηση γονιδίων που σχετίζονται με την αιτιοπαθογένεια του γλαυκώματος και ενδεχομένως να βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση και έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπισή του.

2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ.

2.1 400π.Χ. ως 1600μ.Χ.

Η ετυμολογία της πλειονότητας της σύγχρονης ιατρικής ορολογίας έχει ρίζες στην αρχαία Ελλάδα. Η αναφερόμενη ως γλαύκωμα νοσολογική οντότητα φαίνεται να αναφέρεται για πρώτη φορά το 400πΧ με τον όρο 'γλαύκωσις' στους Αφορισμούς του Ιπποκράτη, ως μια πάθηση που αφορά και τα δύο μάτια, συνήθως ηλικιωμένων, και οδηγεί σε τύφλωση [6]. Η προέλευση της 'γλαύκωσης' βρίσκεται στο λήμα 'γλαυκός' που σημαίνει λαμπερό σώμα με γαλάζια ή πρασινωπή απόχρωση (Εικ.1.1). Πιθανόν λοιπόν να χρησιμοποιήθηκε η γλαύκωση από τους



Εικ.1.1: Απεικόνιση κρίσης οξέος γλαυκώματος, υπεραιμία επιπεφυκότα, κόρη σε μέση μυδρίαση, οίδημα κερατοειδούς.

αρχαίους ώστε να περιγράψουν διάφορα αίτια απώλειας όρασης όπως ο καταρράκτης και η θόλωση του κερατοειδή και όχι μόνο το γλαύκωμα [7].

Σύμφωνα με τον Γαληνό η μεταβολή του χρώματος της κόρης προς το λευκό ή το γλαυκό χρώμα έχει

δυσμενείς επιπτώσεις στη όραση. Έτσι λοιπόν, κατά τον Γαληνό η γλαύκωση αντιστοιχεί στον καταρράκτη όπως τον γνωρίζουμε σήμερα και όχι στο γλαύκωμα. Χρησιμοποιεί επίσης τον όρο 'υπόχυμα' το οποίο ορίζει ως συσσώρευση παθολογικού υγρού στην κόρη που εμποδίζει την όραση. Ο Κέλσος τον 1^ο μ.Χ. αιώνα παρατήρησε ότι επώδυνα μάτια με 'γλαυκωματική' χρώση και ανώμαλο σχήμα κόρης είχαν πτωχή πρόγνωση ως προς την όραση. Οι Άραβες ιατροί του μεσαίωνα μετέφρασαν τη γλαύκωση ως *zarqaa* για να περιγράψουν την ίδια ομάδα συμπτωμάτων, συνεχίζοντας να συγχέουν το γλαύκωμα με τον καταρράκτη. Η Σχολή του Σαλέρνο χρησιμοποίησε τον όρο 'ήρεμη σταγόνα' για να περιγράψει έναν τύπο ανίατου καταρράκτη με διεσταλμένη, πράσινης απόχρωσης κόρη [8].

2.2 1600μ.Χ. ως 1850μ.Χ.

Το 1600μ.Χ. θεωρείται ορόσημο στην πορεία της κατανόησης του γλαυκώματος καθώς ιατροί όπως οι Felix Plater, Maitre Jean και Richard Banister αναφέρουν για πρώτη φορά τον διαχωρισμό γλαυκώματος και καταρράκτη ως ξεχωριστές νοσολογικές οντότητες. Οι έννοιες αυτές κατά τους αρχαίους και κατά τον μεσαίωνα συγχέονταν. Ο Banister επιπλέον φαίνεται να είναι ο πρώτος που αναφέρεται σε σκληρή σύσταση ενός κατά τα άλλα φυσιολογικού οφθαλμού [9].

Στα μέσα του 19^{ου} αιώνα με την ανακάλυψη του άμεσου οφθαλμοσκοπίου από τον Helmholtz ήταν δυνατόν να παρατηρηθεί η γλαυκωματική οπτική νευροπάθεια. Ο Edward Jaeger αναφέρει ότι το γλαύκωμα συνδέεται με ασθένεια του οπτικού νεύρου και ο Albrecht von Graefe ανέφερε τον όρο 'κοίλανση εκ πιέσεως'. Στον Sir William Mackenzie (1830) αποδίδεται η πρώτη σταδιοποίηση του γλαυκώματος σε 6 στάδια που εκτείνονται από πρασινίζουσα αντανάκλαση της κόρης έως ατροφίας του βολβού κατόπιν τήξης κερατοειδούς σε μάτια με τελικού σταδίου γλαύκωμα [10,11].

2.3 1850μ.Χ. ως σήμερα

Η εξέλιξη στην οφθαλμοσκόπηση έδωσε πρόσβαση στον βυθό του ματιού και προσανατόλισε την διάγνωση του γλαυκώματος στο οπτικό νεύρο. Πλέον αρχίζουν να αναγνωρίζονται συνδέονται τα σημεία και συμπτώματα της νόσου. Ο William Bowman αναφέρεται σε δακτυλική εκτίμηση της ΕΟΠ (1862), ενώ λίγα χρόνια αργότερα εισάγεται από τον Donders το πρώτο τονόμετρο εμβύθισης που εφαρμόζεται στον σκληρό. Ακολούθησαν τα τονόμετρα εμβύθισης με εφαρμογή στον κερατοειδή από τον Schiotz (1905) και το τονόμετρο επιπέδωσης από τον Goldmann (1950), αμφότερα χρησιμοποιούνται ως σήμερα για τη μέτρηση της ΕΟΠ [12]. Παράλληλα, παρατηρήθηκε ότι η οπτική νευροπάθεια εκδηλώνεται με ελλείματα του οπτικού πεδίου, διαχωρίστηκαν σε απόλυτα και σχετικά σκοτώματα από τον Bjerrum και έγινε προσπάθεια καταγραφής τους πρώτα από τον von Graefe (1850) και ακολούθησε το πρώτο περίμετρο από τον Foster (1857) [13].

Έχοντας συνδέσει πλέον αιτιολογικά την αυξημένη ΕΟΠ με το γλαύκωμα προτείνονται φαρμακευτικές και χειρουργικές θεραπείες. Οι von Graefe και Argyll Robertson ανακαλύπτουν την επίδραση της φυσοστιγμίνης, ουσίας που προήλθε από το φασόλι calabar της Δ.Αφρικής, ως μυωτικό της κόρης (1869). Το 1875 απομονώνεται η πιλοκαρπίνη και περιγράφεται από τους Weber και Tweedy η χρήση της για πρόκληση μύσης και ελλάτωσης της ΕΟΠ [14,15].

Το 1857 ο von Graefe εισηγείται την ιριδεκτομή ως επέμβαση εκλογής για μείωση της ΕΟΠ που για χρόνια παρέμεινε θεραπεία εκλογής. Το 1882 από τον de Weker προτείνεται η σκληροτομή με αναδίπλωση του επιπεφυκότα ως μέθοδος παροχέτευσης του υδατοειδούς στον υπό τον επιπεφυκότα χώρο και ελλάτωσης της ΕΟΠ. Οι δύο επεμβάσεις συνδυάζονται από τον Pierre Lagrange (1905) σε μια επέμβαση ιριδοσκληρεκτομής. Την ίδια χρονία ο Heine παρατηρεί την υπότονη επίδραση στον οφθαλμό της κυκλοδιάλυσης, εφαρμόζοντας ρήξεις στον σκληραίο πτερνιστήρα. Στο πρώτο διεθνές συνέδριο γλαυκώματος το 1913 αναφέρεται ότι ο μόνος τρόπος χειρουργικής μείωσης της ΕΟΠ στο χρόνιο απλό γλαύκωμα είναι η δημιουργία επικοινωνίας μεταξύ του προσθίου θαλάμου και του υπό τον επιπεφυκότα χώρου και πως η ιριδεκτομή είναι αποτελεσματική μόνο στο γλαύκωμα κλειστής γωνίας [16].

Άξια αναφοράς είναι και η συμβολή 2 σημαντικών Ελλήνων οφθαλμιάτρων του 19^{ου} αιώνα στη διάγνωση του γλαυκώματος. Ο Ανδρέας Αναγνωστάκης (1826-1897) εισηγείται το 1854 την τροποποίηση του οφθαλμοκατόπτρου του Helmholtz κάνοντας το πιο εύχρηστο και ευκρινές, αλλά και τη χρήση των ελληνικών όρων 'οφθαλμοσκόπιο' και 'οφθαλμοσκόπηση'. Ο Αλέξιος Τράντας (1867-1961) πετυχαίνει το 1899 την εξέταση της γωνίας του προσθίου θαλάμου πιέζοντας δακτυλικά το σκληροκερατοειδικό όριο. Η μέθοδος ονομάζεται από τον ίδιο γωνιοσκόπια και τυγχάνει παγκόσμιας αναγνώρισης [17].

Έκτοτε, οι εξελίξεις στην παρακολούθηση και θεραπεία του γλαυκώματος είναι αλματώδεις. Παρότι το τονόμετρο επιπέδωσης του Goldmann θεωρείται και στις μέρες μας ακόμη το gold standard στη μέτρηση της ΕΟΠ, πνευματικά τονόμετρα μη-επαφής αλλά και τονόμετρα που λαμβάνουν υπόψιν στοιχεία εμβιομηχανικής του κερατοειδή έχουν εισαχθεί στην κλινική πράξη [18,27]. Η διάγνωση και παρακολούθηση της εξέλιξης της γλαυκωματικής βλάβης στο οπτικό πεδίο του ασθενούς γίνεται πλέον γρήγορα και με ακρίβεια με την εξέλιξη της αυτόματης περιμετρίας [28]. Το κεντρικό πάχος του κερατοειδούς θεωρείται πλέον ξεχωριστός παράγοντας κινδύνου και είναι δυνατόν να μετρηθεί με χρήση υπερήχων, τοπογραφίας κερατοειδούς ή OCT προσθίου ημιμορίου [19]. Το OCT, SLP και HRT προσφέρουν πλέον αντικειμενική εκτίμηση της γλαυκωματικής βλάβης και την δυνατότητα πρώιμης διάγνωσης, μελετώντας την κεφαλή του οπτικού νεύρου και τις στιβάδες των νευρικών ινών και γαγγλιακών κυττάρων [20,25,26]. Νέες φαρμακευτικές ουσίες με τοπική εφαρμογή και λιγότερες παρενέργειες, η



Εικ.1.2: Ο Ανδρέας Αναγνωστάκης (1826-1897) και το φορητό οφθαλμοσκόπιο.

εφαρμογή των laser (LPI, ALT, SLT), η εμφύτευση βαλβίδων απορροής του υδατοειδούς αλλά και νεότερες τεχνικές ελάχιστα επεμβατικής χειρουργικής του γλαυκώματος βρίσκονται πλέον στη φάρετρα του κλινικού

ιατρού [21-24].

3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ.

Η κατανόηση της διαδικασίας παραγωγής και απορροής του υδατοειδούς υγρού, της επίδρασης του στην ενδοφθάλμια πίεση και κατ' επέκταση στις γλαυκωματικές αλλοιώσεις του οπτικού νεύρου είναι σημαντική στην εκτίμηση και θεραπευτική προσέγγιση του γλαυκώματος.

3.1 Το υδατοειδές υγρό

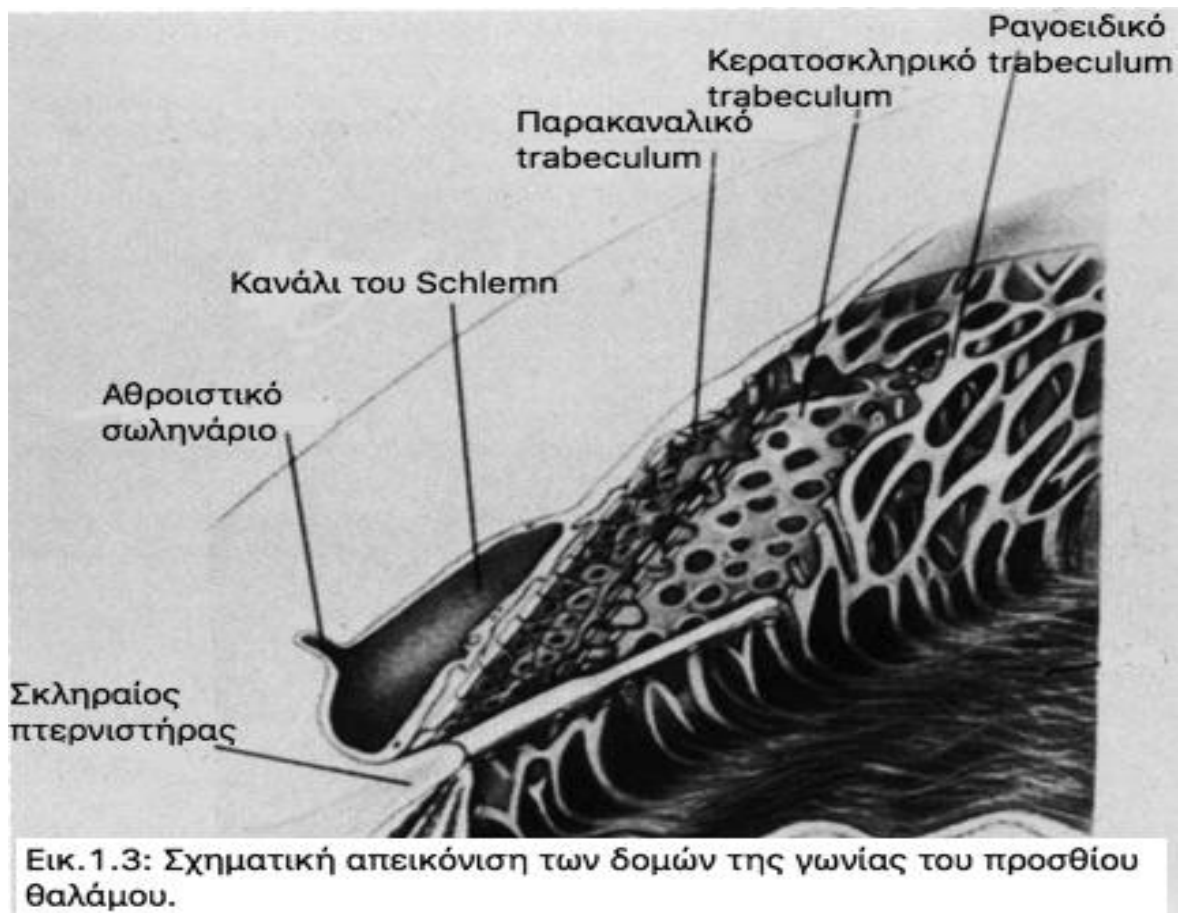
Το υδατοειδές υγρό παράγεται στις περίπου 80 για κάθε οφθαλμό ακτινοειδείς προβολές του ακτινωτού σώματος, με ρυθμό 2-3 μL /λεπτό. Η παραγωγή ακολουθεί κirkάδιο ρυθμό, μειώνεται περίπου στο μισό κατά διάρκεια του νυκτερινού ύπνου, μειώνεται επίσης και με την πάροδο των ετών [29,30] . Εισέρχεται στον οπίσθιο θάλαμο μέσω των ακόλουθων διαδικασιών:

- Ενεργή μεταφορά: συμβαίνει στο επιθήλιο του ακτινωτού, είναι ανεξάρτητη της ΕΟΠ και περιλαμβάνει μεταφορά ιόντων μέσω μιας $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ΑΤΡάσης και χρησιμοποιεί ενέργεια που προέρχεται από την τριφωσφορική αδενοσίνη. Σημαντικός είναι ο ρόλος του ενζύμου καρβονική ανυδράση.
- Υπερδιήθηση: επηρεάζεται από την ΕΟΠ, συμβαίνει λόγω της διαφοράς υδροστατικής πίεσης.
- Απλή (παθητική) διάχυση. [31]

Το υδατοειδές υγρό πληρεί τον οπίσθιο θάλαμο και δια της κόρης εισέρχεται στον πρόσθιο θάλαμο. Είναι οπτικά διαυγές λόγω της πολύ χαμηλής συγκέντρωσης πρωτεϊνών (1/500 σε σύγκριση με το πλάσμα), συμβάλει στη συνολική διαθλαστική δύναμη του οφθαλμού (δείκτης διάθλασης 1.33), τον μεταβολισμό του κερατοειδή και του φακού. Η απορροή ακολουθεί 2 κυρίως οδούς:

- Διά του δικτυωτού ηθμοειδούς (trabecular meshwork): Το δικτυωτό ηθμοειδές είναι ένας πορώδης σχηματισμός κολλαγόνων

ινιδίων και ενδοθηλιακών κυττάρων, που εκτείνεται 360° κατά μήκος της γωνίας του προσθίου θαλάμου ανάμεσα στον κερατοειδή, το ακτινωτό σώμα και το κανάλι του Schlemm [32]. Αποτελείται από 3 στιβάδες (Εικ 1.3):



- Το ραγοειδικό δικτυωτό, αποτελούμενο από δίκτυο δοκίδων κολλαγόνων ινιδίων που εκτείνονται από τη ρίζα της ίριδας και το ακτινωτό σώμα ως τον περιφερικό κερατοειδή, επενδύεται από ενδοθηλιακά κύτταρα με φαγοκυτταρικές ιδιότητες. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα (περίπου 200.000 ανά οφθαλμό) με την πάροδο των ετών μειώνονται, ενώ η υποκείμενη βασική μεμβράνη παχύνεται αυξάνοντας την αντίσταση στην απορροή του υδατοειδούς, άρα και την ενδοφθάλμια πίεση.

- Το κερατοσκληρικό δικτυωτό, έχει πορώδη κατασκευή με πόρους που βαθμιαία στενεύουν. Δεν φαίνεται να προβάλλει αντίσταση στη δίοδο του υδατοειδούς.
- Το παρακαναλικό δικτυωτό, το οποίο φαίνεται ότι είναι σημαντικός σχηματισμός ως προς την αντίσταση στην δίοδο του υδατοειδούς, αποτελείται κυρίως από συνδετική εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και ενδοθηλιακά κύτταρα και σχηματίζει το έσω τοίχωμα του καναλιού του Schlemm. Στην παρακαναλική μοίρα του ηθμοειδούς έχει εντοπιστεί και η μυοσυλίνη, μια γλυκοπρωτεΐνη που μεταλλάξεις στο γονίδιο της έχουν συσχετιστεί με το ΠΓΑΓ [33,34].

Μέσω μικροπόρων του παρακαναλικού δικτυωτού το υδατοειδές εισέρχεται στο κανάλι του Schlemm, έναν αυλό διαμέτρου περί τα 200-300 μm , αποτελούμενο από μονόστιβο ενδοθήλιο επικαθίμενο σε βασική μεμβράνη [35]. Από το εξωτερικό τοίχωμα του καναλιού του Schlemm εκκινούν τα αθροιστικά σωληνάρια (περί τα 30 σε αριθμό) που άγουν το υδατοειδές προς το επισκληρικό φλεβικό πλέγμα. Μέσω της φλεβικής κυκλοφορίας, κυρίως τις πρόσθιες ακτινοειδείς και άνω οφθαλμικές φλέβες, το υδατοειδές καταλήγει να στον σηραγγώδη κόλπο. Ο ρυθμός απορροής διά της οδού του ηθμοειδούς εξαρτάται από την ενδοφθάλμια πίεση, μειώνεται με την ηλικία, καθώς και σε γλαυκωματικούς οφθαλμούς, και σε φυσιολογικούς οφθαλμούς υπολογίζεται σε 0,2-0,3 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mmHg}$. Αντιστοιχεί στο 80-90% της συνολικής αποχέτευσης του υδατοειδούς.

- Διά της ραγοειδοσκληρικής οδού: Ένα ποσοστό 10%-20% του υδατοειδούς απορρέει δια της ραγοσκληροειδικής οδού. Το υδατοειδές διέρχεται μέσω του ακτινωτού μυός στον υπερακτινωτό και υπερχοριοειδικό χώρο και κατόπιν αποχετεύεται από τον οφθαλμό δια του σκληρού και διά των αγγείων που τον διαπερνούν, κυρίως μέσω των περιδίνητων φλεβών. Η ραγοσκληροειδική απορροή φαίνεται επίσης ότι μειώνεται με την πάροδο των ετών, είναι ανεξάρτητη από το ύψος της ΕΟΠ και υπολογίζεται περί τα 0.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ [36].

Οι ανωτέρω διαδικασίες και η επίδραση τους στην ενδοφθάλμια πίεση συνοψίζονται στην εξίσωση Goldmann: $IOP=(F-U)/C+P_v$, όπου:

IOP (mmHg): ενδοφθάλμια πίεση.

F (μL/min): ρυθμός παραγωγής υδατοειδούς υγρού.

U (μL/min): ρυθμός απορροής διά της ραγοειδοσκληρικής οδού.

C (μL/min/mmHg): ρυθμός απορροής διά του δικτυωτού ηθμού.

P_v (mmHg): επισκληρική φλεβική πίεση [37].

3.2 Το οπτικό νεύρο

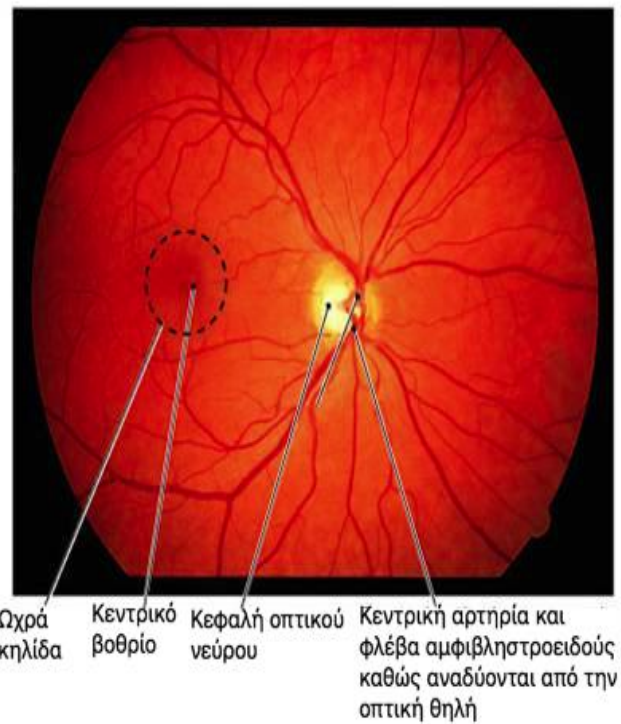
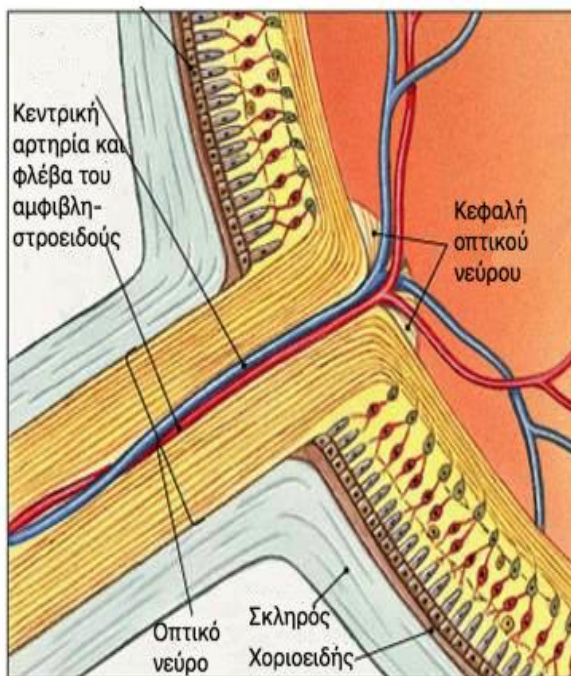
Οι νευράξονες των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδή συγκεντρώνονται περίπου 3mm ρινικά του κεντρικού βοθρίου της ωχράς κηλίδας και ανακάμπτοντας κατά 90° σχηματίζουν το οπτικό νεύρο. Το οπτικό νεύρο, αποτελούμενο από τους περίπου 1.2-1.5 εκατομμύρια νευράξονες των γαγγλιακών κυττάρων αποτελεί τη σύνδεση μεταξύ του νευροαισθητηριακού αμφιβληστροειδή και του εγκεφάλου. Αποτελείται από νευρικό, νευρογλοιακό ιστό, εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και αιμοφόρα αγγεία και διαχωρίζεται τοπογραφικά σε 4 μοίρες: τον οπτικό δίσκο (ή οπτική θηλή), την ενδοκογχική, ενδοκαναλική και ενδοκράνια μοίρα [38].

Η οπτική θηλή αποτελεί τη μοίρα του οπτικού νεύρου που βρίσκεται εντός του σκληρού χιτώνα του οφθαλμού. Έχει διάμετρο περί τα 1500-1700μm, σαφή όρια και ανοικτότερο ροδαλό χρώμα σε σχέση με τον περιβάλλοντα αμφιβληστροειδή. Στην κεντρική περιοχή παρατηρείται φυσιολογική κοίλανση η οποία διαφέρει από άτομο σε άτομο. Η εκτίμηση της μορφολογίας, του εύρους και του λόγου της διαμέτρου της κοίλανσης προς τη συνολική διάμετρο της οπτικής θηλής έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς σε παθολογικές καταστάσεις, όπως το γλαύκωμα όλοι αυτοί οι παράγοντες μπορεί να μεταβληθούν. Διά της οπτικής θηλής εισέρχονται στον οφθαλμό τα κεντρικά αγγεία (κεντρική αρτηρία και φλέβα) του αμφιβληστροειδή (Εικ 1.4).

Η οπτική θηλή και η ενδοβολβική μοίρα του οπτικού νεύρου αιματώνονται από κλάδους της οφθαλμικής αρτηρίας, μέσω των, 1-5 για κάθε οφθαλμό, οπίσθιων ακτινοειδών αρτηριών. Κάθε οπίσθια ακτινοειδής αρτηρία διακλαδίζεται σε 2 ως 5

βραχείες οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες, οι οποίες στην περιθηλαία περιοχή του σκληρού σχηματίζουν τον αγγειακό κύκλο του Zinn-Haller. Επιπλέον, η κεντρική αρτηρία του αμφιβληστροειδούς συμβάλλει στην αιμάτωση του οπτικού νεύρου μέσω ενδονευρικών κλάδων [39].

Εικ. 1.4: Σχηματική απεικόνιση εγκάρσιας τομής του οφθαλμού στο επίπεδο του οπτικού νεύρου (αριστερά) και εικόνα βιομικροσκόπησης του οπισθίου πόλου όπου απεικονίζονται η ωχρά κηλίδα, η κεφαλή του οπτικού νεύρου και τα μείζονα αγγειακά τόξα του αμφιβληστροειδή(δεξιά).



4. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΩΝ.

Παραδοσιακά το γλαύκωμα ταξινομείται βάσει του εύρους της γωνίας του προσθίου θαλάμου σε ανοικτής ή κλειστής γωνίας και σε πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές βάσει του αν αναγνωρίζεται ή όχι εμφανής ανατομική ανωμαλία που σχετίζεται με την παρεμπόδιση της απορροής του υδατοειδούς και την αύξηση της ΕΟΠ. Μια συνοπτική ταξινόμηση των γλαυκωμάτων παρουσιάζεται παρακάτω[37,40-41]:

i. Γλαυκώματα ανοικτής γωνίας

- Πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας: Συσχετίζεται με αυξημένη ΕΟΠ εκτός των στατιστικά φυσιολογικών ορίων (μεγαλύτερη από 21mmHg), δεν αναγνωρίζονται οφθαλμικές ή συστηματικές διαταραχές που να συνδέονται με παρακώλυση της απόχρευσης του ΥΥ και αύξηση της ΕΟΠ.
- Γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης: ο όρος χρησιμοποιείται όταν η πίεση βρίσκεται εντός φυσιολογικών ορίων.
- Νεανικό γλαύκωμα ανοικτής γωνίας: ο όρος χρησιμοποιείται για πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας που εντοπίζεται σε ηλικίες 4-35 ετών.
- Οφθαλμική υπέρταση: Αυξημένη ΕΟΠ εκτός φυσιολογικού εύρους, χωρίς παθολογικά ευρήματα στην οπτική θηλή, τη στιβάδα νευρικών ινών ή τα οπτικά πεδία του ασθενούς.
- Υποψία γλαυκώματος (Glaucoma Suspect): Αλλοιώσεις οπτικής θηλής ή οπτικών πεδίων ύποπτες ως προς το γλαύκωμα, ανεξαρτήτως από την τιμή της ΕΟΠ.
- Δευτεροπαθή γλαυκώματα ανοικτής γωνίας: Σχετιζόμενα με αυξημένη αντίσταση στην απορροή μέσω του trabeculum (φακολυτικό, φακοαναφυλακτικό, σύνδρομο διασποράς χρωστικής,

ψευδοαποφολιδωτικό, σχετιζόμενο με λήψη κορτικοστεροειδών ή με ραγοειδίτιδες). Σχετιζόμενα με αυξημένη επισκληρική φλεβική πίεση (Sturge-Weber syndrome, καρωτιδοσηραγγώδες συρίγγιο, ιδιοπαθές)

ii. Γλαυκώματα κλειστής γωνίας

- Πρωτοπαθές γλαύκωμα κλειστής γωνίας: Στενή γωνία με αυξημένη ΕΟΠ ή περιφερικές οπίσθιες συνέχειες (ΠΟΣ) και ένδειξη γλαυκωματικής βλάβης οπτικού νεύρου.
- Πρωτοπαθώς κλειστή γωνία: Στενή γωνία με αυξημένη ΕΟΠ ή/και ΠΟΣ, χωρίς ενδείξεις γλαυκωματικής βλάβης οπτικού νεύρου.
- Υποψία πρωτοπαθούς κλειστής γωνίας: Στενή γωνία, χωρίς αυξημένη ΕΟΠ, ΠΟΣ ή ενδείξεις βλάβης οπτικού νεύρου.
- Ίριδα Πλατώ: Πρωτοπαθής κλειστή γωνία, χωρίς κορικό αποκλεισμό.
- Δευτεροπαθή γλαυκώματα κλειστής γωνίας με κορικό αποκλεισμό: φακομορφικό γλαύκωμα, προκαλούμενο από ενδοφακούς, φυσαλίδα αερίου ή ελαίου σιλικόνης.
- Δευτεροπαθή γλαυκώματα χωρίς κορικό αποκλεισμό: Όγκοι οπισθίου ημιμορίου, ενδοϋαλοειδικές εγχύσεις, κακώθες γλαύκωμα, υπερχοριοειδικές αιμορραγίες, νεοαγγειακό γλαύκωμα, σύνδρομο ICE (ιριδοκερατοειδικό ενδοθηλιακό σύνδρομο)

iii. Γλαυκώματα σε νεογνά, βρέφη και παιδιά.

- Πρωτοπαθές συγγενές γλαύκωμα: εμφανίζεται κατά τη γέννηση ή εντός του πρώτου έτους ζωής.
- Γλαύκωμα που συνδέεται με συγγενείς ανωμαλίες: Axenfeld-Rieger, Peter's, Sturge-Weber, ανιριδία, νευροϊνομάτωση τύπου 1.
- Δευτεροπαθή γλαυκώματα στα παιδιά: ρετινοβλάστωμα, αμφιβληστροειδοπάθεια προωρότητας, τραύματα, φλεγμονές, συγγενής καταρράκτης, νόσος Coats κ.ά.

5. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΠΡΩΤΟΠΑΘΟΥΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ.

Ενδοφθάλμια πίεση

Η αυξημένη ΕΟΠ είναι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου εμφάνισης ΠΓΑΓ, αλλά δεν συμμετέχει στον ορισμό της νόσου και η διάγνωση οφθαλμικής υπερτονίας δεν συνεπάγεται πάντα και ΠΓΑΓ. Μελέτες σε πολυάριθμες και ετερογενείς πληθυσμιακές ομάδες έχουν καταλήξει ότι το εύρος της φυσιολογικής ΕΟΠ βρίσκεται μεταξύ 10mmHg και 21mmHg (2 σταθερές αποκλίσεις πάνω και κάτω από τη μέση τιμή που έχει καθοριστεί στα 15.5mmHg). Βέβαια, όπως τονίστηκε και παραπάνω, οφθαλμική υπερτονία δεν συνεπάγεται πάντα γλαύκωμα και η ύπαρξη γλαυκωματικών αλλοιώσεων στο οπτικό νεύρο και τα οπτικά πεδία μπορεί να συμβεί σε οφθαλμούς με τιμές ΕΟΠ εντός φυσιολογικών ορίων. Επιπλέον, η ΕΟΠ σε γλαυκωματικούς ασθενείς εμφανίζει ημερήσιες διακυμάνσεις 10mmHg ή και περισσότερο, οπότε μια μεμονωμένη τονομέτρηση έχει περιορισμένη διαγνωστική αξία [42-45].

Φυλή

Σύμφωνα με την Barbados Eye Study, στις ΗΠΑ, εμφανίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση ενδοφθάλμια πίεση ανάμεσα στις ομάδες των λευκών (μέση τιμή ΕΟΠ 16.5 +/- 3.0 mm Hg) και των Αφρικανικής καταγωγής (μέση τιμή ΕΟΠ 18.7 +/- 5.2 mm Hg) συμμετεχόντων και στατιστικά σημαντική σχέση της αυξημένης ΕΟΠ με την ύπαρξη γλαυκωματικών αλλοιώσεων στην οπτική θηλή. Επιπλέον, οι Αφροαμερικανοί εμφανίζουν αυξημένες γλαυκωματικές αλλοιώσεις στα οπτικά πεδία και σε νεότερες ηλικίες, υψηλότερο μέσο όρο στις τιμές c/d

(εμβαδόν κοίλανσης/εμβαδόν δίσκου) και λεπτότερο κεντρικό πάχος κερατοειδούς. Ομοίως, και σε πληθυσμούς καταγόμενους από τη Λατινική Αμερική η επίπτωση της οφθαλμικής υπέρτονίας και του γλαυκώματος ανοικτής γωνίας είναι 3 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τους Ευρωπαϊκής καταγωγής πληθυσμούς [44, 46].

Κεντρικό πάχος κερατοειδούς

Το κεντρικό πάχος κερατοειδούς έχει πλέον εισαχθεί στις βασικές αρχικές μετρήσεις που θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στη μελέτη κάθε ύποπτου για γλαύκωμα ασθενή. Φαίνεται ότι είναι αφενός μεν σημαντικός βιοδείκτης στην πρόγνωση της νόσου, καθώς άτομα με λεπτό κεντρικό πάχος κερατοειδούς έχουν αυξημένη πιθανότητα να αναπτύξουν γλαύκωμα, και αφετέρου επηρεάζει τα ευρήματα κατά την τονομέτρηση με τονόμετρο επιπέδωσης Goldman (η πραγματική τιμή ΕΟΠ είναι υψηλότερη από τη μετρούμενη σε άτομα με λεπτό κεντρικό πάχος κερατοειδούς). Σύμφωνα με τις Ocular Hypertension Treatment Study και European Glaucoma Prevention Study, το λεπτό πάχος κερατοειδούς συνεπάγεται αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης γλαυκώματος σε άτομα με οφθαλμική υπέρτονία [47,48].

Ηλικία

Προϊούσης της ηλικίας η τιμές της ΕΟΠ αλλά και η επίπτωση του γλαυκώματος αυξάνονται όπως καταδεικνύουν πολυάριθμες μελέτες σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες. Η Ocular Hypertension Treatment Study εκτιμά πως ο κίνδυνος εξέλιξης της οφθαλμικής υπέρτονίας σε γλαύκωμα αυξάνεται κατά 22% για κάθε 10 χρόνια αύξησης της ηλικίας. Στην Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study αναφέρεται ότι η εξέλιξη της βλάβης των οπτικών πεδίων είναι έως 7 φορές πιο πιθανό να συμβεί σε ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών σε σχέση με ασθενείς ηλικίας κάτω των 40. Τέλος, στην Baltimore Eye Survey δηλώνεται ότι η επίπτωση του γλαυκώματος αυξάνει προϊούσης της ηλικίας, φτάνοντας σε Αφροαμερικανούς άνω των 80 ετών σε ποσοστό 11% [48-51].

Μυωπία

Πολυάριθμες μελέτες σε διαφορετικών εθνικοτήτων πληθυσμιακές ομάδες συμφωνούν πως η μυωπία ανήκει στους προγνωστικούς παράγοντες του ΠΓΑΓ [52-55]. Στην Blue Mountains Eye Study εκτιμάται πως η παρουσία γλαυκώματος στους εμμέτρωπες που συμμετείχαν βρέθηκε σε ποσοστό 1.5%, ενώ στους μύωπες σε ποσοστό ως 4.4%. Επιπλέον, η μέση τιμή της ΕΟΠ στους μύωπες ήταν 0.5mmHg υψηλότερη σε σχέση με τους εμμέτρωπες [53]. Στην Beaver Dam Eye Study η μυωπία εμφανίζεται επίσης ως ισχυρός προδιαθεσικός παράγοντας για την εμφάνιση γλαυκώματος και αναφέρεται ότι οι μύωπες (ορίζονται στη μελέτη ως σφαιρικού ισοδύναμου ≥ -1.00 διοπτρίες) έχουν ως 60% μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης γλαυκώματος σε σχέση με τους εμμέτρωπες και υπερμέτρωπες [54].

Συστηματικές διαταραχές

Παρόλο που δεν έχει μέχρι στιγμής εντοπιστεί συγκεκριμένη παθοφυσιολογική συσχέτιση, ο **σακχαρώδης διαβήτης** θεωρείται ως παράγοντας κινδύνου για το ΠΓΑΓ κατά τη σύμφωνη γνώμη πολυάριθμων επιδημιολογικών μελετών [56,57].

Η Baltimore Eye Survey εκτιμά πως η **συστηματική υπέρταση** συνδέεται με χαμηλότερα ποσοστά γλαυκώματος σε ασθενείς ηλικίας <65 ετών, αλλά είναι παράγοντας κινδύνου για ΠΓΑΓ σε ασθενείς ηλικίας >65. Η υπόθεση των ερευνητών είναι ότι σε μικρότερες ηλικίες η συστηματική υπέρταση πιθανόν ευνοεί την αιμάτωση του οπτικού νεύρου, ενώ σε μεγαλύτερες ηλικίες έχει αρνητικές επιπτώσεις στη μικροκυκλοφορία του [58]. Ομοίως, και η **συστηματική υπόταση**, ιδίως η νυκτερινή φαίνεται να είναι προδιαθεσικός παράγοντας τόσο για το ΠΓΑΓ, όσο και για το φυσιολογικής πίεσης γλαύκωμα [59].

Η υπνική άπνοια, οι θυρεοειδικές διαταραχές, η ημικρανία και η υπερχοληστερολαιμία έχουν στοχοποιηθεί ως πιθανοί προδιαθεσικοί παράγοντες.

Τα αποτελέσματα των ως τώρα ερευνών εμφανίζονται αντικρουόμενα και περαιτέρω διερεύνηση θα χρειαστεί [60-63].

Θετικό οικογενειακό ιστορικό

Στην Baltimore Eye Survey αναφέρεται ότι άτομα με έναν αδελφό που πάσχει από ΠΓΑΓ εμφανίζουν έως 3.7 φορές αυξημένο κίνδυνο να νοσήσουν. Ο ρόλος της γενετικής προδιάθεσης στο πρωτοπαθές γλαύκωμα έχει τεκμηριωθεί από πολυάριθμες μελέτες και θα συζητηθεί εκτενώς σε επόμενο κεφάλαιο.

6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΠΑΘΟΥΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ.

Η κατάλληλη και εξατομικευμένη θεραπεία ενός ασθενή με γλαύκωμα προϋποθέτει την αναγνώριση του τύπου του γλαυκώματος, την εκτίμηση της βαρύτητας, την πρόγνωση και έγκαιρη διάγνωση της επιδείνωσης της νόσου.

Η κλινική εκτίμηση οφείλει να ξεκινά με λήψη ατομικού και οικογενειακού ιστορικού. Το οφθαλμολογικό ιστορικό πρέπει να περιλαμβάνει τη διαθλαστική κατάσταση, τυχόν οφθαλμικές επεμβάσεις και τραυματισμούς κατά το παρελθόν, συμπτώματα που ενδεχομένως να σχετίζονται με γλαύκωμα (πόνος, ερυθρότητα, μείωση οπτικής οξύτητας ή απώλεια μέρους του οπτικού πεδίου) αλλά και την ύπαρξη θετικού οικογενειακού ιστορικού ως προς το γλαύκωμα. Απαραίτητη είναι και η αναφορά νοσημάτων που είναι είτε παράγοντες κινδύνου για το ΠΓΑΓ, είτε ενδέχεται να αποτελούν αντένδειξη στη χορήγηση κάποιων αντιγλαυκωματικών

σκευασμάτων. Τέτοια είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, η αρτηριακή υπέρταση ή υπόταση, η καρδιακή ανεπάρκεια, η ισχαιμική καρδιακή νόσος, η υπνική άπνοια, οι ημικρανίες και η εγκυμοσύνη.

Η διάγνωση και παρακολούθηση της εξέλιξης του ΠΓΑΓ στηρίζεται στην τονομέτρηση, τη γωνιοσκοπία, την εξέταση των οπτικών πεδίων και την κλινική και ποσοτική εκτίμηση της κεφαλής του οπτικού νεύρου και της στιβάδας των αμφιβληστροειδικών νευρικών ινών με τη βυθοσκόπηση και τις σύγχρονες απεικονιστικές μεθόδους.

Τονομέτρηση

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν καθορίσει τη μέση ΕΟΠ στον γενικό πληθυσμό σε $15.5\text{mmHg} \pm$ σταθερή απόκλιση 2.6mmHg . Η ΕΟΠ είναι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου του ΠΓΑΓ και κύριος στόχος της θεραπείας είναι η ελάττωσή της σε επίπεδα τέτοια ώστε να εξασφαλίζεται η διακοπή της εξέλιξης της γλαυκωματικής βλάβης.

Μέθοδος εκλογής στην τονομέτρηση λόγω της αξιοπιστίας των μετρήσεων του παραμένει το τονόμετρο επιπέδωσης του Goldmann. Το τονόμετρο επιπεδώνει κυκλική περιοχή του κερατοειδή με διάμετρο 3.06mm και η ΕΟΠ καθορίζεται βάσει της αρχής των Imbert-Fick ως ο λόγος της πίεσης που ασκείται ώστε να επιπεδωθεί μια σφαιρική επιφάνεια προς το εμβαδόν της επιφάνειας αυτής και μετράται σε χιλιοστά στήλης υδραργύρου (mmHg) [64].

Σημαντικός βιοδείκτης που επηρεάζει την ακρίβεια των μετρήσεων με το τονόμετρο επιπέδωσης είναι το κεντρικό πάχος κερατοειδούς (CCC). Δεν έχει μέχρι στιγμής καθιερωθεί κοινά αποδεκτός αλγόριθμος διόρθωσης της μετρούμενης ΕΟΠ ως προς το CCC ώστε να υπολογιστεί με ακρίβεια η 'πραγματική' ΕΟΠ. Είναι όμως κοινώς αποδεκτό ότι σε οφθαλμούς με αυξημένο CCC η ΕΟΠ υπερεκτιμάται ενώ σε οφθαλμούς με μειωμένο CCC η ΕΟΠ υποεκτιμάται. [65]

Γωνιοσκοπία

Η γωνιοσκοπία αποτελεί βασικό διαγνωστικό εργαλείο στην αναγνώριση και ταξινόμηση του γλαυκώματος. Χρησιμοποιώντας άμεσους ή έμμεσους γωνιοφακούς γίνονται ορατές οι ανατομικές δομές της γωνίας του προσθίου θαλάμου και καθορίζεται το εύρος της αλλά και ο τύπος του γλαυκώματος. Εξ'ορισμού το ΠΓΑΓ αφορά ανοικτές γωνίες με απουσία ορατών σημείων παρεμπόδισης της απορροής του υδατοειδούς (νεοαγγείωση, χρωστική, φλεγμονώδη κύτταρα κ.ο.κ.).



Εκτίμηση οπτικού νεύρου

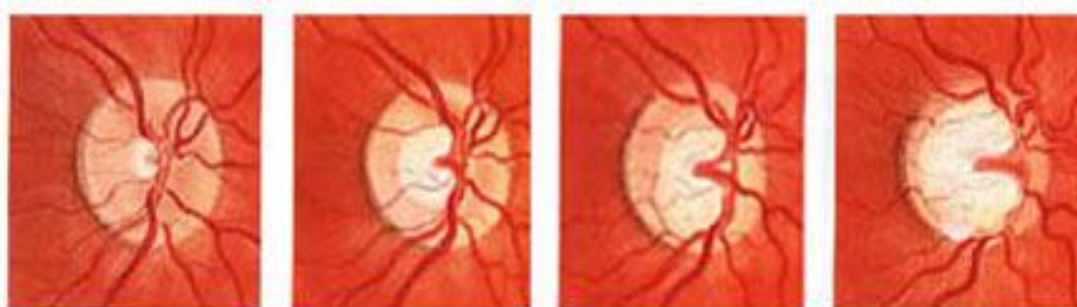
Η ύπαρξη οπτικής νευροπάθειας είναι απαραίτητη προϋπόθεση για να τεθεί η διάγνωση οποιασδήποτε μορφής γλαυκώματος. Συνίσταται σε προϋούσα απόπτωση των αμφιβληστροειδικών γαγγλιακών κυττάρων και των νευραξόνων τους που εκτείνεται από τον αμφιβληστροειδή ως το έξω γονατώδες σώμα του εγκεφάλου.

Η επίδραση της ΕΟΠ στην παθοφυσιολογία της νόσου συνοψίζεται σε δύο κύριες θεωρίες: Αυτή της άμεσης μηχανικής συμπίεσης των νευρικών ινών λόγω

αυξημένης ΕΟΠ και παρεμπόδιση της αξοπ्लाσματικής ροής κατά μήκος των νευραξόνων και αυτή της επίδρασης της αύξησης της ΕΟΠ στην αιμάτωση της οπτικής θηλής [66].

Η κλινική εκτίμηση του οπτικού νεύρου γίνεται με έμμεση ή άμεση οφθαλμοσκόπηση όπου αναζητώνται σημεία γλαυκωματικής βλάβης. Εκτιμάται η κεντρική κοίλανση, ο λόγος του εμβαδού της προς το συνολικό εμβαδόν της οπτικής θηλής (cup/disc ratio) αλλά και η συμμετρία της στα τεταρτημόρια του οπτικού δίσκου, το πάχος του νευροαμφιβληστροειδικού δακτυλίου, η ύπαρξη επιφανειακών αιμορραγιών, παραθηλαίας ατροφίας, ρινικής παρεκτόπισης των κεντρικών αγγείων του αμφιβληστροειδούς και η συμμετρία των δυο οπτικών θηλών του ασθενή. Χρησιμοποιώντας το ανέρυθρο φως του οφθαλμοσκοπίου είναι δυνατόν να παρατηρηθούν διάχυτες ή εντοπισμένες εστίες ατροφίας στη στιβάδα των αμφιβληστροειδικών νευρικών ινών.

Τις τελευταίες δεκαετίες νέες τεχνολογίες όπως το OCT, το HRT και το GDx επιτρέπουν πλέον την ποσοτική ανάλυση της οπτικής θηλής, των περιθηλαίων νευρικών ινών και της στιβάδας των αμφιβληστροειδικών γαγγλιακών κυττάρων και την ανάδειξη πρώιμων γλαυκωματικών βλαβών πριν γίνουν αντιληπτές κατά τη βιομικροσκόπηση ή την εξέταση των οπτικών πεδίων του ασθενούς [20, 67-68].



Εικόνα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση εξέλιξης της γλαυκωματικής οπτικής νευροπάθειας. Αύξηση κοίλανσης, λέπτυνση νευροαισθητηριακού δακτυλίου και ρινική παρεκτόπιση των κεντρικών αμφιβληστροειδικών αγγείων.

Περιμετρία

Η διάγνωση και παρακολούθηση της εξέλιξης της γλαυκωματικής βλάβης στηρίζεται στην περιμετρία, στην μέτρηση και καταγραφή δηλαδή του οπτικού πεδίου. Το οπτικό πεδίο αντιστοιχεί στον χώρο, ή νησίδα όρασης όπως συχνά αποκαλείται, τον οποίο μπορεί να αντιληφθεί ο οφθαλμός ενώ μένει προσηλωμένος σε ένα σημείο. Με την εισαγωγή των ηλεκτρονικών υπολογιστών τις τελευταίες δεκαετίες έχει καθιερωθεί πλέον στην κλινική πράξη η αυτοματοποιημένη περιμετρία. Κατά την εξέταση αυτή μετράται ο ουδός ευαισθησίας των επιμέρους αμφιβληστροειδικών σημείων σε φωτεινά ερεθίσματα καθορισμένου μεγέθους και έντασης φωτεινότητας. Τα αποτελέσματα συγκρίνονται με στατιστικά καθορισμένα αποτελέσματα φυσιολογικών οφθαλμών ηλικίας αντίστοιχης με αυτήν του ασθενούς. Οι αλλοιώσεις στο οπτικό πεδίο καλούνται σκοτώματα, σχετικά ή απόλυτα, βάσει της ύπαρξης ή όχι κάποιας, μειωμένης έστω, αντίληψης φωτός και στο γλαύκωμα λαμβάνουν χαρακτηριστική μορφολογία αναλόγως της βαρύτητας της νόσου και σε αντιστοιχία με την εστιακή απώλεια νευρικών ινών [69].

Θεραπευτική προσέγγιση ΠΓΑΓ

Στόχος της θεραπείας του ΠΓΑΓ είναι η διατήρηση της οπτικής λειτουργίας, ελατώνοντας την ΕΟΠ σε επίπεδα ικανά να αποτρέψουν περαιτέρω εξέλιξη της γλαυκωματικής βλάβης. Αρχή της εξατομικευμένης θεραπείας του ΠΓΑΓ είναι να τεθεί η 'πίεση στόχος' που ορίζεται ως η ανώτερη τιμή ΕΟΠ που θεωρείται ότι αναστέλλει την εξέλιξη της βλάβης. Η πίεση στόχος καθορίζεται βάση της αρχικής τιμής της ΕΟΠ, την βαρύτητα της βλάβης, του προσδόκιμου επιβίωσης του ασθενούς και αναπροσαρμόζεται ανάλογα με την μεταβολή των οπτικών πεδίων και του οπτικού νεύρου [70]. Η ελάττωση της ΕΟΠ σε επιθυμητά επίπεδα μπορεί να επιτευχθεί συντηρητικά ή χειρουργικά.

Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι φαρμακολογικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται τοπικά ή συστηματικά στο ΠΓΑΓ κατατάσσονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- Ανάλογα προσταγλανδινών
- β-αδρενεργικοί ανταγωνιστές
- Αδρενεργικοί αγωνιστές
- Αναστολείς καρβονικής ανυδράσης
- Παρασυμπαθητικομιμητικοί παράγοντες
- Υπεροσμωτικοί παράγοντες

Συχνά επί αποτυχίας της φαρμακευτικής θεραπείας, αλλά και ως αρχική θεραπεία δύνανται να χρησιμοποιηθούν και επεμβατικές τεχνικές ελάττωσης της ΕΟΠ που περιλαμβάνουν lasers (ALT, SLT, CPC), συριγγοποιητικές επεμβάσεις (τραμπεκουλεκτομή) και εμφύτευση συσκευών απορροής του υδατοειδούς [21-24].

7. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΠΡΩΤΟΠΑΘΟΥΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ.

Το γλαύκωμα αποτελεί μια ετερογενή ομάδα νοσημάτων με κοινό ιστοπαθολογικό χαρακτηριστικό την απόπτωση των αμφιβληστροειδικών γαγγλιακών κυττάρων και την εκφύλιση του οπτικού νεύρου με αντίστοιχη χαρακτηριστική απώλεια οπτικού πεδίου. Η συχνότερα απαντώμενη μορφή γλαυκώματος είναι το ΠΓΑΓ. Παρόλο που είναι κοινώς παραδεκτή η πολυπαραγοντική φύση της νόσου δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητοί οι μηχανισμοί που συμβάλλουν στην αιτιοπαθογένεια του γλαυκώματος. Η επίπτωση του γλαυκώματος διαφέρει σε πληθυσμούς με διαφορετική φυλετική προέλευση, στοιχείο που ενισχύει τη θεωρία ύπαρξης γονιδιακού υπόβαθρου. Το θετικό οικογενειακό ιστορικό συγκαταλέγεται στους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου και αυξάνει την πιθανότητα εκδήλωσης της νόσου έως και 10 φορές [71].

Επιπλέον, φαινοτυπικά χαρακτηριστικά συσχετιζόμενα με το γλαύκωμα, όπως η ΕΟΠ, το κεντρικό πάχος κερατοειδούς και το κάθετο πηλίκο κοίλανσης προς εμβαδόν δίσκου (vertical cup-to-disc ratio) εμφανίζουν γενετική βάση και κληρονομικότητα [72-74].

Η υπόθεση ότι η κληρονομικότητα κατέχει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του γλαυκώματος δεν είναι νέα. Ήδη από τα μέσα του 20^{ου} αιώνα υπάρχουν αναφορές σε κληρονομούμενο γλαύκωμα και μάλιστα αναφέρονται περιπτώσεις οικογενειών όπου το γλαύκωμα περνούσε από γενιά σε γενιά με Μενδελιανό τύπο κληρονομικότητας [75-77]. Τις τελευταίες 2 δεκαετίες η πρόοδος στη γενετική ανάλυση έχει δώσει πλέον τη δυνατότητα εντοπισμού γονιδίων που συμμετέχουν στο ΠΓΑΓ, είτε άμεσα, είτε συνεργικά με άλλους γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες, με αποτέλεσμα την καλύτερη κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που οδηγούν στην εκδήλωση της νόσου.

Ονοματολογία γονιδίων γλαυκώματος (Human Genome Organization/ Genome Database)

GLC - Οικογένεια γονιδίων γλαυκώματος
--

GLC1 - Γονίδια πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας

GLC2 - Γονίδια πρωτοπαθούς γλαυκώματος κλειστής γωνίας

GLC3 - Γονίδια πρωτοπαθούς συγγενούς γλαυκώματος

GLC1A - <i>MYOC</i> , το πρώτο χρονολογικά χαρτογραφηθέν γονίδιο του πρωτοπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας.
--

Πίνακας 1: Μέθοδος κατάταξης γονιδίων γλαυκώματος.

Το πρώτο γονίδιο που συνδέθηκε άμεσα με το ΠΓΑΓ είναι το *GLC1A/MYOC* στο χρωμόσωμα 1, στη θέση 1q23 (**Πίνακας 1**). Οι Sheffield et al. και Johnson et al. (1993) παρατήρησαν ότι μεταλλάξεις στους γενετικούς τόπους 1q21-q31 εμφανίζονται με στατιστικά σημαντική διαφορά σε μέλη οικογένειας που παρουσιάζουν νεανικό ΠΓΑΓ. Το 1997 οι Stone et al. χαρακτήρισαν το γονίδιο *GLC1A/MYOC* ως υπέθυνο για το ΠΓΑΓ και το νεανικό ΠΓΑΓ. Το γονίδιο *MYOC* (Μυοσιλίνη) κωδικοποιεί την ομώνυμη πρωτεΐνη που εκφράζεται στο γωνιακό ηθμοειδές (trabeculum) και μεταλλάξεις της πρωτεΐνης πιστεύεται ότι σχετίζονται με αύξηση της αντίστασης απορροής του υδατοειδούς. Πολυάριθμες μεταλλάξεις του γονιδίου της μυοσιλίνης έχουν μελετηθεί σε ετερογενείς πληθυσμιακές ομάδες και φαίνεται ότι εντοπίζονται στο 3% των ασθενών που πάσχουν από γλαυκώματα ανοικτής γωνίας [78-81].

Μεγάλες γενετικές μελέτες των τελευταίων 20 ετών έχουν αναδείξει περισσότερες από 20 χρωμοσωμικές θέσεις (loci) που σχετίζονται με το ΠΓΑΓ (*GLC1A-P* / **Πίνακας 2**).

Θέση	Χρωμοσωμική εντόπιση	Πρότυπο κληρονομικότητας	Γονίδιο
GLC1A	1q23	Αυτοσωμικό επικρατές	<i>MYOC/TIGR</i>
GLC1B (Αφορά το ΠΓΑΓ και το ΓΦΠ)	2cen-q13	Αυτοσωμικό επικρατές	-
GLC1C	3q21-q24	Αυτοσωμικό	-

		επικρατές	
GLC1D	8q23	Αυτοσωμικό επικρατές	-
GLC1E (Αφορά το ΠΓΑΓ και το ΓΦΠ)	10P15-14	Αυτοσωμικό επικρατές	<i>OPTN</i>
GLC1F	7q36.1	Αυτοσωμικό επικρατές	<i>ASB10</i>
GLC1G	5q22.1	Αυτοσωμικό επικρατές	<i>WDR36</i>
GLC1H	2p16-p15	-	-
GLC1I	15q11-q13	-	-
GLC1J (Αφορά το νεανικό ΠΓΑΓ)	9q22	Αυτοσωμικό επικρατές	-
GLC1K (Αφορά το νεανικό ΠΓΑΓ)	20p12	-	-
GLC1N	15q22-q24	-	-
GLC1O	19q13.33	-	<i>NTF4</i>
GLC1P (Αφορά το ΓΦΠ)	12q14	Αυτοσωμικό επικρατές	<i>TBK1</i>

Πίνακας 2: Λίστα των μέχρι στιγμής χαρτογραφημένων γονιδίων που συνδέονται με τα πρωτοπαθή γλαυκώματα ανοικτής γωνίας [81, 90-101].

Οι μεταλλάξεις που οδηγούν σε ΠΓΑΓ μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες κατηγορίες:

Η πρώτη κατηγορία αφορά γονίδια που μπορούν να προκαλέσουν ΠΓΑΓ χωρίς να επηρεάζονται από άλλους γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες. Τα γονίδια που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι μέχρι στιγμής τα εξής: *MYOC* (myocilin), *OPTN* (optineurin), *WDR36* (WD repeat domain 36), *ASB10* (Ankyrin repeat and SOCS-box containing 10) και *NTF4* (neurotrophin 4). Σε αυτά τα γονίδια πιστεύεται πως οφείλεται το 10% των περιπτώσεων ΠΓΑΓ στον γενικό πληθυσμό [82, 83].

Στην δεύτερη κατηγορία ανήκουν γονιδιακές μεταλλάξεις που μεμονωμένα δεν μπορούν να προκαλέσουν γλαύκωμα, όμως σε συνδυασμό με περιβαλλοντικούς παράγοντες ή άλλες μεταλλάξεις συμμετέχουν στην παθογένεια του ΠΓΑΓ. Αυτοί οι 'γενετικοί παράγοντες κινδύνου' εντοπίζονται συχνότερα σε ασθενείς με ΠΓΑΓ με στατιστικά σημαντική διαφορά, είναι όμως κοινοί και σε όσους δεν εμφανίζουν τη νόσο. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν περισσότερα από 20 γονίδια με κυριότερα τα *CAV1* και *CAV2* (caveolin 1, 2), *TMC01* (transmembrane and coiled-coil domains 1), *SRBD1* (S1 RNA binding domain 1), *CDKN2B-AS1*, *SIX1/SIX6* (sine oculis homeobox 1/6), *GAS7* (growth arrest specific 7) και *ATOH7* (atonal drosophila homolog 7) [83-85].

Τα τελευταία χρόνια συνεχώς προστίθενται νέες μελέτες και νέοι πολυμορφισμοί με πιθανή συσχέτιση με το ΠΓΑΓ. Ανάμεσά τους έχουν προταθεί και πολυμορφισμοί στα γονίδια ***GSTM1*** (glutathione S-transferase mu 1), ***SOD2*** (superoxide dismutase 2) και ***OPA1*** (optic atrophy 1), για τα οποία τα αποτελέσματα μελετών σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες παραμένουν μέχρι στιγμής αντικρουόμενα. Οι πολυμορφισμοί αυτοί αποτελούν αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης διατριβής και δεν έχουν μέχρι στιγμής μελετηθεί στον Ελληνικό πληθυσμό [86-89].

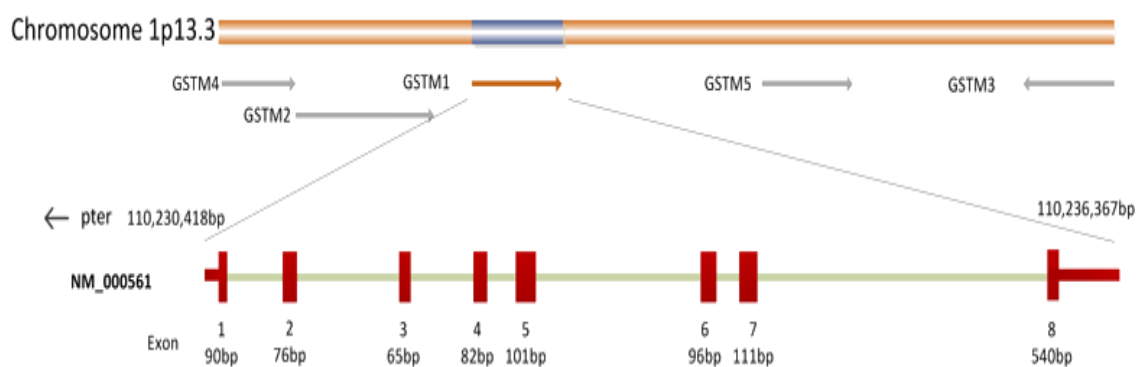
GSTM1 (Τρανσφεράση της γλουταθειόνης mu 1)

Η γλουταθειόνη (GSH, Glutathione) είναι ένα τριπεπτίδιο, αποτελούμενο από μόρια κυστεΐνης, γλυκίνης και γλουταμικού οξέος με σημαντική αντιοξειδωτική δράση στους ζωντανούς οργανισμούς. Η περιεκτικότητά της στον ορό είναι 0.40 γραμμάρια ανά λίτρο και εμφανίζεται σε 2 μορφές: μια οξειδωμένη και μια αναγμένη. Είναι το σημαντικότερο ενδογενές αντιοξειδωτικό μόριο και εμπλέκεται στην εξουδετέρωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου.

Η οικογένεια των ενζύμων GST (τρανσφερασών της γλουταθειόνης) δρουν καταλύοντας τη σύζευξη της γλουταθειόνης με ξενοβιοτικά μόρια και οξυγονοποιημένους μεταβολίτες κατέχοντας έτσι σημαντικό ρόλο στην κυτταρική αποτοξικοποίηση. Ανευρίσκονται σε όλα τα προκαρυωτικά και ευκαριωτικά κύτταρα, κυρίως στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια και εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό στο ήπαρ των θηλαστικών. Έχουν ταξινομηθεί σε 8 κλάσεις: alpha, kappa, mu, omega, pi, sigma, theta, zeta [102].

Η **GSTM1** (τρανσφεράση γλουταθειόνης- mu 1) ανήκει στην mu τάξη που περιλαμβάνει ένζυμα με κύριο ρόλο την αποτοξικοποίηση ηλεκτρονιόφιλων συμπλεγμάτων στα οποία περιλαμβάνονται καρκινογόνα, κυρίως κυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, υπολείμματα φαρμακευτικών παραγόντων, περιβαλλοντικές τοξίνες και προϊόντα οξειδωτικού στρες συνδέοντάς τα με την γλουταθειόνη. Το γονίδιο της GSTM1 έχει εντοπιστεί στη θέση 1p13.3 του χρωμοσώματος 1, αποτελείται από 8 εξώνια και έχει μέγεθος 5490bp. Εκφράζεται κυρίως στο καρδιαγγειακό, το πεπτικό, ενδοκρινικό σύστημα και στους περισσότερους επιθηλιακούς ιστούς. Το γονίδιο της GSTM1 εμφανίζει έναν πολυμορφισμό που συνίσταται σε μερική ή πλήρη έλλειψη (deletion) του γονιδίου. Ο γονότυπος των ατόμων που είναι ομόζυγοι ως προς την πλήρη έλλειψη της GSTM1 (-/-) καλείται **GSTM1 null** ενώ ο γονότυπος όσων είναι ομόζυγοι ως προς την παρουσία της (+/+) καλείται **GSTM1 wild type**. Πολυμορφισμοί του γονιδίου και κυρίως ο *GSTM1null* έχουν συνδεθεί αιτιολογικά με διάφορες μορφές καρκίνου αλλά και νοσήματα όπως το βρογχικό άσθμα και ο σακχαρώδης διαβήτης [103-106]

τονίζοντας το γεγονός ότι η έλλειψη του στερεί την αντιοξειδωτική του δράση από τα κύτταρα επιβαρύνοντάς τα με οξειδωτικούς παράγοντες.



Εικ.1.6: Σχηματική απεικόνιση της θέσης του γονιδίου GSTM1 στο χρωμόσωμα 1.

Το οξειδωτικό στρες συνίσταται σε ανισορροπία μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species – **ROS**) και στην ικανότητα ενός οργανισμού να εξουδετερώνει αυτά τα μόρια και να επιδιορθώνει τις κυτταρικές βλάβες που προκαλούν. Στις ROS ανήκουν μόρια όπως το υπεροξείδιο υδρογόνου (H_2O_2), ελεύθερες ρίζες όπως το υδροξύλιο ($-OH$), ιόντα όπως το υποχλωριώδες ανιόν ($HClO$) και το ανιόν σουπεροξειδίου (O_2^-) και κύρια πηγή τους είναι τα μιτοχόνδρια. Η μιτοχονδριακή βλάβη έγκειται σε διαρροή ενεργοποιημένου οξυγόνου που φυσιολογικά παράγεται ως ενδιάμεσο της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ηλεκτρονιόφιλα μόρια με χαρακτηριστικό τους την αντίδραση με παρακείμενα μόρια από τα οποία προσλαμβάνουν ηλεκτρόνια, μετατρέποντας και αυτά σε ελεύθερες ρίζες. Αποτέλεσμα είναι μια αλυσιδωτή αντίδραση με διαταραχή της ενδοκυττάριας μοριακής τάξης που καταλήγει σε απόπτωση του κυττάρου και ιστική βλάβη. Πιθανολογείται πως το οξειδωτικό στρες συμμετέχει στην παθογένεια πλείστων νοσημάτων όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, νεοπλασίες, δρεπανοκυτταρική

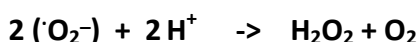
αναιμία και νευροεκφυλιστικά νοσήματα όπως η νόσος Parkinson και το Alzheimer [117].

Το οξειδωτικό στρες ανήκει στους υπό διερεύνηση παράγοντες κινδύνου του ΠΓΑΓ και τα ως τώρα στοιχεία δείχνουν πως εμπλέκεται στην αιτιοπαθογένεια της νόσου [107]. Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων εμπλέκεται δεν είναι πλήρως κατανοητοί, έχει προταθεί η άμεση νευροτοξική δράση των ROS στα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδή που οδηγεί στην απόπτωσή τους, η έμμεση βλάβη σε αυτά μέσω οξειδωτικής βλάβης στα νευρογλοιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδή και η επίδραση του οξειδωτικού στρες στο trabeculum [107, 108]. Οι Benoist d’Azy et al. (2016) αναφέρουν την ύπαρξη αυξημένων συγκεντρώσεων βιοδεικτών οξειδωτικού στρες με κύριο εκπρόσωπο την μαλόνυλο-διαλδεΐδη (malonyldialdehyde, MDA) τόσο στον ορό αίματος όσο και στο υδατοειδές υγρό ασθενών με γλαύκωμα σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό [109].

Μελέτες σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες διεξήχθησαν τα τελευταία χρόνια με σκοπό τη συσχέτιση πολυμορφισμών στο γονίδιο *GSTM1* με το ΠΓΑΓ αλλά τα αποτελέσματα που παρουσίασαν είναι αντικρουόμενα. Μελέτες σε διαφορετικής προέλευσης πληθυσμιακές ομάδες [110-113] αναφέρουν θετική συσχέτιση του *GSTM1* με το ΠΓΑΓ. Εντούτοις, οι Jansson et al. και Izzotti et al. δεν αναφέρουν θετική συσχέτιση με το ΠΓΑΓ [114-115]. Επιπλέον, οι Lu et al. αναφέρουν θετική συσχέτιση του πολυμορφισμού *GSTM1 null* μόνο σε πληθυσμούς προερχόμενους από την ανατολική Ασία και όχι σε Καυκάσιους ή Λατίνους [116]. Ο σημαντικός ρόλος της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης στην άμυνα του οργανισμού έναντι των ROS και των λοιπών παραγόντων του οξειδωτικού στρες, ο ρόλος που φαίνεται να διαδραματίζει το οξειδωτικό στρες στην παθογένεια του ΠΓΑΓ, τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των μέχρι στιγμής μελετών και το γεγονός τέλος ότι δεν έχει μελετηθεί το εν λόγω γονίδιο στον Ελληνικό πληθυσμό, μας οδήγησαν να το εντάξουμε στη μελέτη.

SOD2 (Υπεροξειδική δισμουτάση 2), πολυμορφισμός rs4880

Οι υπεροξειδικές δισμουτάσες (SOD) είναι οικογένεια ενζύμων που συμμετέχουν στην προστασία του κυττάρου έναντι των ελευθέρων ριζών υπεροξειδίου (O_2^-) καταλύοντας την αντίδραση:



Έτσι οι ελεύθερες ρίζες υπεροξειδίου μετατρέπονται σε ιόν υπεροξειδίου (H_2O_2) το οποίο με τη δράση της γλουταθειόνης καθίσταται αβλαβές για τις κυτταρικές δομές. Οι SOD χαρακτηρίζονται βάσει του μεταλλικού ιόντος που συνδέεται στο ενεργό κέντρο τους. Η SOD2 εμπεριέχει ιόν μαγγανίου (MnSOD) και απαντάται στα μιτοχόνδρια των ευκαριωτικών κυττάρων κατέχοντας σημαντικό ρόλο έναντι της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και της πρόωρης κυτταρικής απόπτωσης που προκαλεί το οξειδωτικό στρες, η ιονίζουσα ακτινοβολία και η δράση των φλεγμονωδών κυτοκινών [118].

Το γονίδιο της **SOD2** έχει εντοπιστεί στο χρωμόσωμα 6, στη θέση 6q25. Περιλαμβάνει 5 εξώνια και 4 εσώνια και έχει μέγεθος 20kb [119]. Το 1996 οι Rosenblum et al. [120] εντόπισαν έναν SNP (single nucleotide polymorphism – μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός), τον **rs4880**, κατά τον οποίο μια κυτοσίνη (C) αντικαθίσταται από θυμίνη (T) {c.47C-T} με αποτέλεσμα την αντικατάσταση της αλανίνης από βαλίνη στο κωδόνιο 16 (διμορφισμός ala16val). Το val16 αλληλίο προκαλεί παρακράτηση της πρωτεΐνης στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου, επιπροσθέτως δε η val16 μορφή της πρωτεΐνης εμφανίζει 30-40% μειωμένη δραστηριότητα μειώνοντας την αντοχή του κυττάρου στο οξειδωτικό στρες [121]. Γενετικές μελέτες των τελευταίων 10 ετών αναφέρουν συσχέτιση του πολυμορφισμού rs4880 με παθολογικές καταστάσεις όπως νεφροπάθεια σε ασθενείς με τύπου 2 σακχαρώδη διαβήτη, μυοκαρδιοπάθεια και κακοήθειες νεοπλασίες του πνεύμονα [122-124].

Τα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδή, εξαιτίας των υψηλών ενεργειακών αναγκών τους εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα μιτοχόνδρια για την λειτουργία και επιβίωσή τους. Η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων λοιπόν, εμπλέκεται στην απώλεια γαγγλιακών κυττάρων άμεσα ή έμμεσα αυξάνοντας την ευαισθησία τους σε άλλους παράγοντες κινδύνου της νόσου όπως είναι η αυξημένη ΕΟΠ. Επιπλέον, ένας βασικός παράγοντας αύξησης της επίπτωσης του γλαυκώματος είναι η ηλικία και φαίνεται πως η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία μπορεί να είναι ένας από τους συνδετικούς κρίκους ανάμεσα στην αύξηση της ηλικίας και την αύξηση της επίπτωσης του ΠΓΑΓ [108, 125]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διαπίστωση πως η SOD2 εμφανίζεται σε αυξημένη συγκέντρωση στο υδατοειδές υγρό οφθαλμών με ΠΓΑΓ, που ενδεχομένως οφείλεται σε ενδογενή απόκριση του οργανισμού στο οξειδωτικό στρες, τονίζοντας έτσι τη σημασία της SOD2 στην αντιοξειδωτική άμυνα [126, 127].

Κατόπιν εκτενούς έρευνας στη διεθνή βιβλιογραφία μόνον τρεις ερευνητές έχουν μέχρι στιγμής μελετήσει τον πολυμορφισμό rs4880 στο γονίδιο SOD2 σε ασθενείς με ΠΓΑΓ με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Οι Zhou et al. [86] μελέτησαν πολυμορφισμούς του γονιδίου στον κινεζικό πληθυσμό και αναφέρουν θετική συσχέτιση του γονιδίου με την αιτιοπαθογένεια της νόσου. Οι Abu-Amero et al [128] σε μελέτη του πολυμορφισμού rs4880 σε ομάδες ασθενών με ΠΓΑΓ και υγείων μαρτύρων αραβικής καταγωγής αναφέρουν ότι οι φέροντες τον πολυμορφισμό εμφανίζουν αυξημένες τιμές ΕΟΠ. Τέλος, σε μελέτη τους σε πληθυσμό της βόρειας Ευρώπης οι Celojenic et al [129] αναφέρουν ότι κανένας από τους SNP's στα γονίδια SOD1, SOD2 και SO3 (συμπεριλαμβανομένου και του rs4880) που μελέτησαν δεν εμφανίζει συσχέτιση με το ΠΓΑΓ και επομένως θεωρούν ότι οι υπεροξειδικές δισμουτάσες δεν κατέχουν σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της νόσου.

Συνοψίζοντας, εξαιτίας α) του σημαντικού ρόλου της μιτοχονδριακής λειτουργίας για την επιβίωση των γαγγλιακών κυττάρων σε νοσήματα όπως το γλαύκωμα, β) του εντοπισμού της Mn-SOD στα μιτοχόνδρια και του ρόλου της στην κυτταρική άμυνα έναντι του οξειδωτικού στρες, γ) των αυξανόμενων ενδείξεων ότι το οξειδωτικό στρες κατέχει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του ΠΓΑΓ, δ) των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων που εμφανίζουν οι προηγούμενες μελέτες και ε) του γεγονότος ότι ο πιθανός ρόλος του SOD2 δεν έχει έως τώρα μελετηθεί στον

Ελληνικό πληθυσμό, θεωρήσαμε αναγκαίο να συμπεριλάβουμε τον rs4880 SNP στους υπό μελέτη πολυμορφισμούς.

OPA1 (optic atrophy 1)

Το γονίδιο **OPA1** εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 3, στη θέση 3q29. Αποτελείται από 30 εξώνια και έχει μέγεθος 100Kb, ενώ κωδικοποιεί μια δυναμίνη, πρωτεΐνη που προσδένει και υδρολύει GTP (τριφωσφωρική γουανοσίνη). Φαίνεται ότι ο ρόλος του *OPA1* είναι σημαντικός σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες όπως τη βιογένεση και σταθερότητα των μιτοχονδριακών μεμβρανών, τη σταθερότητα του μιτοχονδριακού DNA, τη σηματοδότηση της κυτταρικής απόπτωσης αλλά και ως μέρος της αντιοξειδωτικής κυτταρικής άμυνας έναντι των ROS. Εκφράζεται, μεταξύ άλλων και στα αμφιβληστροειδικά γαγγλιακά κύτταρα και μεταλλάξεις του γονιδίου φαίνεται να είναι υπεύθυνες για την απόπτωσή τους και εμπλέκονται στην παθογένεια εκφυλιστικών νευροπαθειών [132].

Είναι υπεύθυνο για την κληρονομούμενη κατά τον αυτοσωμικό επικρατούντα τύπο οπτική ατροφία (Autosomal dominant optic atrophy – ADOA). Είναι μια από τις πιο συχνές κληρονομούμενες οπτικές νευροπάθειες. Στα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου περιλαμβάνονται μείωση της οπτικής οξύτητας κατά την πρώτη δεκαετία, κεντρικά ή παράκεντρα σκοτώματα στο οπτικό πεδίο, επηρεασμένη αντίληψη χρωμάτων, εκκρεμοειδής νυσταγμός και ωχρότητα οπτικής θηλής. Ασθενείς με μεταλλάξεις στο *OPA1* συχνά ενδέχεται να εμφανίσουν και άλλη νευρολογική σημειολογία όπως κώφωση, οφθαλμοπληγία, αταξία, μυϊκή δυσκαμψία και παθολογική αύξηση τενόντιων αντανάκλαστικών. Ιστολογική επεξεργασία παρασκευασμάτων οφθαλμών που εκδήλωσαν τη νόσο δείχνει λέπτυνση της στιβάδας των αμφιβληστροειδικών νευρικών ινών και απώλεια γαγγλιακών κυττάρων ως αποτέλεσμα μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας [130, 131]. Πρόσφατα, η μελέτη του *OPA1* και της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας έχει

επεκταθεί και σε άλλα νευροεκφυλιστικά νοσήματα, με μεγάλη επίπτωση στον γενικό πληθυσμό, όπως οι νόσοι Alzheimer, Parkinson και Huntington [133].

Εξαιτίας του ρόλου του OPA1 στη μιτοχονδριακή λειτουργία, την κυτταρική απόκριση έναντι στο οξειδωτικό στρες και στην βιωσιμότητα των αμφιβληστροειδικών γαγγλιακών κυττάρων είναι λογικό να μελετηθεί το κατά πόσο πολυμορφισμοί του γονιδίου μετέχουν στην παθογένεια του γλαυκώματος. Τα αποτελέσματα των ερευνητών ως προς τη συσχέτισή του με το ΠΓΑΓ και το γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης παραμένουν αντικρουόμενα. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο OPA1 που έχουν μέχρι στιγμής μελετηθεί, όπως οι rs10451941 (IVS8+32T>C) και rs166850 (IVS8+4C>T) δεν εμφανίζουν ομόφωνα αποτελέσματα ως προς τη σχέση τους με το ΠΓΑΓ. Οι Mabuchi et al [134] αναφέρουν το OPA1 ως πιθανό γενετικό παράγοντα κινδύνου για το ΠΓΑΓ σε αντίθεση με άλλες μελέτες που αναφέρουν θετική συσχέτιση μόνο με το γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης [135, 136, 138] ή ακόμη και καμία συσχέτιση με τα γλαυκώματα ανοικτής γωνίας [137, 139].

Δεδομένων λοιπόν των παραπάνω αντικρουόμενων εκτιμήσεων, του ρόλου του γονιδίου OPA1 στην σταθερότητα και λειτουργικότητα των μιτοχονδρίων, στην κυτταρική άμυνα έναντι του οξειδωτικού στρες αλλά και της συμμετοχής του στην απόπτωση των γαγγλιακών κυττάρων κρίθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί πιθανή συσχέτισή του με το ΠΓΑΓ. Μέχρι στιγμής δεν έχει μελετηθεί η επίπτωση μεταλλάξεων στο OPA1 στο γλαύκωμα στον Ελληνικό πληθυσμό.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το γλαύκωμα αποτελεί μια ομάδα νοσημάτων πολυπαραγοντικής αιτιολογίας με κοινά χαρακτηριστικά την απόπτωση των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδή, χαρακτηριστικές αλλοιώσεις του οπτικού νεύρου και του οπτικού πεδίου του ασθενή. Αποτελεί μια από τις σημαντικότερες αιτίες τύφλωσης παγκοσμίως και εμφανίζεται συχνά σε οικογενή μορφή. Ο συχνότερα απαντώμενος τύπος είναι το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας. Εκτός των περιβαλλοντικών επιβαρυντικών παραγόντων έχουν μελετηθεί και ταυτοποιηθεί τις τελευταίες δεκαετίες και γενετικοί παράγοντες κινδύνου.

Περισσότερα από 20 υπεύθυνα γονίδια έχουν προσδιοριστεί και μεταξύ αυτών 5 γονίδια (*MYOC*, *OPTN*, *WDR36*, *ASB10*, *NTF4*) ικανά να προκαλέσουν ΠΓΑΓ χωρίς την επίδραση άλλων γενετικών ή περιβαλλοντικών παραγόντων. Μεταξύ των δυνητικά ύποπτων γονιδίων που έχουν προταθεί τα τελευταία χρόνια είναι και τα ***GSTM1***, ***SOD2*** και ***OPA1***. Τα παραπάνω γονίδια εμπλέκονται στη μιτοχονδριακή λειτουργία και την κυτταρική άμυνα έναντι του οξειδωτικού στρες, του οποίου ο ρόλος στην παθογένεια του ΠΓΑΓ μελετάται επισταμένως τα τελευταία χρόνια.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να μελετηθούν πολυμορφισμοί στα γονίδια ***GSTM1*** (**null**), ***SOD2*** (**rs4880**) και ***OPA1*** (**rs10451941**, **rs166850**) που για πρώτη φορά μελετώνται στον Ελληνικό πληθυσμό ως προς τη συσχέτισή τους με το ΠΓΑΓ. Καθώς λίγα είναι μέχρι στιγμής γνωστά για τη γενετική βάση του ΠΓΑΓ στον Ελληνικό πληθυσμό, η πρόοδος στην ταυτοποίηση γονιδίων σχετιζόμενων με το γλαύκωμα μπορεί να χρησιμεύσει τόσο στη συμβουλευτική γενετική και έγκαιρη διάγνωση σε μικρή ηλικία, όσο και στην εξέλιξη νέων μεθόδων γονιδιακής θεραπείας.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

1. Διαλογή συμμετεχόντων και κλινική εκτίμηση.

Διεξήχθη μια αναδρομική μελέτη (case-control retrospective study) σε δύο ομάδες: ασθενών με ΠΓΑΓ και υγιών-μαρτύρων. 106 ασθενείς με ΠΓΑΓ (62 σποραδικές περιπτώσεις και 44 με οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ) και 120 υγιείς μάρτυρες εξετάστηκαν στο Τμήμα Γλαυκώματος της Α΄ Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, ενημερώθηκαν για το σκοπό της μελέτης και έδωσαν γραπτά τη συγκατάθεσή τους ώστε να συμμετάσχουν στην έρευνα. Το πρωτόκολλο της διατριβής κατατέθη και έλαβε έγκριση από την επιτροπή βιοηθικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Ασθενείς με άλλους τύπους γλαυκώματος ανοικτής γωνίας (π.χ. γλαύκωμα χαμηλής πίεσης, χρωστικό γλαύκωμα, ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, μετατραυματικό γλαύκωμα, σχετιζόμενο με ραγοιδίτιδες γλαύκωμα, φακολυτικό γλαύκωμα, νεοαγγειακό γλαύκωμα και γλαύκωμα λόγω λήψης κορτικοστεροειδών) αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Την ομάδα των υγιών/μαρτύρων αποτέλεσαν 120 άτομα, αντιστοιχισμένα με την ομάδα ασθενών ως προς το φύλο και το ηλικιακό προφίλ, με ελεύθερο ατομικό και οικογενειακό ιστορικό ως προς το ΠΓΑΓ, αλλά και ελεύθερο ατομικό ιστορικό ως προς οφθαλμολογικά και συστηματικά νοσήματα με ενδεχόμενη συσχέτιση με το γλαύκωμα. Τα δημογραφικά δεδομένα των δύο ομάδων παρουσιάζονται στον **πίνακα 3**:

Χαρακτηριστικό	Ομάδα ασθενών (n=106)	Ομάδα μαρτύρων (n=120)	p-Value
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	42/64	56/64	0.857
Ηλικία (έτη/ μέση τιμή±σταθερή απόκλιση)	67.06±11.15	69.99±13.76	0.08
Οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ	44	-	-
Κάπνισμα (n, %)	24 (22.64%)	21 (17.5%)	0.404
ΕΟΠ (mmHg)	30.13± 5.71	16.21± 3.18	<0.0001

Πίνακας 3: Δημογραφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων.

Τόσο οι ασθενείς, όσο και οι υγιείς υπεβλήθησαν στο ακόλουθο πρωτόκολλο λήψης ιστορικού και κλινικής εκτίμησης:

- Ονοματεπώνυμο, έτος γέννησης, τόπος καταγωγής και κατοικίας, φύλο, κάπνισμα.
- Ατομικό οφθαλμολογικό και παθολογικό αναμνηστικό (σακχαρώδης διαβήτης, νοσήματα καρδιαγγειακού, θυρεοειδοπάθεια, ιστορικό ραγοιδιτίδων, λήψης κορτικοστεροειδών τοπικών ή συστηματικών, οφθαλμικά τραύματα και εγχειρήσεις).
- Οικογενειακό ιστορικό ως προς το ΠΓΑΓ.
- Μέτρηση οπτικής οξύτητας αριστερού και δεξιού οφθαλμού με οπτότυπο Snellen και δεκαδικό σύστημα διαβάθμισης.

- Εξέταση προσθίου ημιμορίου οφθαλμών με χρήση σχισμοειδούς λυχνίας (Haag Streit AG, Bern, Switzerland). Αποκλεισμός συνδρόμου διασποράς χρωστικής, συνδρόμου ψευδοαποφωλίδωσης, ραγοειδίτιδας, τραυμάτων.
- Γωνιοσκοπία με τρικατοπτρική ύαλο Goldmann (Haag Streit AG, Bern, Switzerland).
- Μέτρηση ενδοφθάλμιας πίεσης αριστερού και δεξιού οφθαλμού με τονόμετρο επιπέδωσης Goldmann (Haag Streit AG, Bern, Switzerland). Ως οφθαλμική υπερτονία ορίστηκε τιμή ΕΟΠ μεγαλύτερη ή ίση με 21mmHg [41].
- Βυθοσκόπηση με στερεοσκοπικό φακό 78D (Volk Optical Inc., Mentor, Ohio, USA). Εκτίμηση οπτικής θηλής και περιθηλαίας στιβάδας οπτικών ινών. Εκτίμηση σημειολογίας γλαυκωματικής οπτικής νευροπάθειας: Μέγεθος οπτικής θηλής, πάχος νευροαμφιβληστροειδικού rim, εκτίμηση κάθετου και οριζόντιου cup/disc ratio, εγκοπές (notching), θηλαίες και περιθηλαίες αιμορραγίες, περιθηλαίες ατροφίες. Η εκτίμηση της οπτικής θηλής και τα διαγνωστικά κριτήρια του ΠΓΑΓ βασίζονται στις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Γλαυκώματος [41].
- Εξέταση οπτικών πεδίων με αυτοματοποιημένο περίμετρο Humphrey (Humphrey Inc., San Leandro, California, USA) με πρόγραμμα SITA Standard 30-2 και κριτήρια αξιοπιστίας <20% απώλειες προσήλωσης, <33% ψευδώς θετικά και <33% ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Η σταδιοποίηση των αποτελεσμάτων της περιμετρίας σε Early, Moderate και Severe Glaucomatous Loss έγινε βάσει των οδηγιών της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Γλαυκώματος [41].
- Τέλος, κατόπιν ενημέρωσης και τελικής συγκατάθεσης των συμμετεχόντων έγινε λήψη 10cc περιφερικού φλεβικού αίματος σε στείρο δοκιμαστικό σωλήνα με χρήση αντιπηκτικού EDTA.

Το ενημερωτικό έντυπο συγκατάθεσης των συμμετεχόντων παρατίθεται παρακάτω:

ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ ΚΑΙ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΠΡΟΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Το γλαύκωμα είναι το δεύτερο σε συχνότητα αίτιο τύφλωσης παγκοσμίως και το πρώτο σε συχνότητα αίτιο μη αναστρέψιμης τύφλωσης. Το 75% των γλαυκωματικών πάσχουν από πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (ΠΓΑΓ). Η ακριβής αιτιολογία της νόσου παραμένει άγνωστη, γεγονός που δυσκολεύει την πρόληψη και θεραπεία της νόσου.

Τα τελευταία χρόνια αναζητούνται στους ασθενείς με ΠΓΑΓ γονίδια που ενδεχομένως σχετίζονται με την παθογένεια της νόσου.

Ως ασθενής με ΠΓΑΓ είναι σημαντικό για εσάς να υποβληθείτε σε πλήρη οφθαλμολογικό έλεγχο προκειμένου να μετρηθεί η ενδοφθάλμια πίεση και να αναζητηθούν πρώιμες αλλοιώσεις στο οπτικό νεύρο. Επιπλέον, εξίσου σημαντικό είναι να ληφθεί μικρή ποσότητα αίματος προκειμένου να προσδιοριστούν γονιδιακές μεταλλάξεις που πιθανώς εμπλέκονται στην αιτιοπαθογένεση της νόσου.

Η οφθαλμολογική εξέταση περιλαμβάνει μέτρηση οπτικής οξύτητας και ενδοφθάλμιας πίεσης, εξέταση του προσθίου ημιμορίου (κερατοειδής, γωνία προσθίου θαλάμου, φακός), εξέταση οπτικών πεδίων με αυτόματο περίμετρο και βυθοσκόπηση κατόπιν μυδρίασης.

Ο ανωτέρω οφθαλμολογικός έλεγχος θα πραγματοποιείται στο τμήμα γλαυκώματος της Α' Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής του νοσοκομείου "Γ.Γεννηματάς" και η διάρκειά του θα είναι περί τα 30 λεπτά. Στο τέλος της εξέτασης θα λαμβάνετε γραπτώς τα αποτελέσματα.

Μετά το πέρας της οφθαλμολογικής εξέτασης θα λαμβάνονται 10cc περιφερικού φλεβικού αίματος (διαδικασία όμοια με μια απλή αιμοληψία) προς λήψη γενετικού υλικού για ανάλυση. Η γονιδιακή ανάλυση θα πραγματοποιείται στο Εργαστήριο Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Όλες οι ανωτέρω εξετάσεις είναι ανώδυνες, μη επεμβατικές και πραγματοποιούνται χωρίς καμία χρέωση. Θα διαφυλαχθεί η ανωνυμία σας και τα προσωπικά σας δεδομένα δεν θα παραδοθούν σε τρίτους ούτε θα δημοσιευθούν.

-Μαριλίτα Μ. Μόσχου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας.

-Λάβαρης Αναστάσιος, Ιατρός, υπεύθυνος ερευνητικού πρωτοκόλλου.

Ευχαριστούμε θερμά για τη συμμετοχή σας.

Ημερομηνία εξέτασης:

Υπογραφή εξεταζομένου:

2. Γονιδιακή και στατιστική ανάλυση.

Διαδικασία απομόνωσης

Τα δείγματα φλεβικού αίματος που ελήφθησαν από τους συμμετέχοντες αναμίχθηκαν με αντιπηκτικό EDTA και παρέμειναν στους -18°C ως την επεξεργασία τους. Επεξεργάστηκαν με το NucleoSpin® Blood kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Germany) για την απομόνωση και καθαρισμό του DNA, σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρίας:

1. 200μL αίματος αναδεύονται με 25μL πρωτεϊνάσης K σε θερμοκρασία δωματίου σε δοκιμαστικό σωλήνα φυγοκέντρωσης.
2. Προστίθενται 200μL ρυθμιστικού διαλύματος B3 και ακολουθεί ανάδευση του μείγματος για 10-20 δευτερόλεπτα και επώαση στους 70°C για 10-15 λεπτά.
3. Σε κάθε δείγμα προστίθενται 210μL αιθανόλης (96-100%) και αναδεύονται ξανά.
4. Το δείγμα τοποθετείται σε ειδικές στήλες μεμβράνης πυριτίου NucleoSpin® Blood Column και φυγοκεντρείται για 1 λεπτό σε ταχύτητα 11.000rpm.
5. Η στήλη NucleoSpin® Blood Column τοποθετείται σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα 2mL όπου προστίθενται 500μL ρυθμιστικού διαλύματος BW και φυγοκεντρείται εκ νέου στις 11.000rpm για 1 λεπτό. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα 2mL με 600μL ρυθμιστικού διαλύματος B5 και φυγοκέντρωση ξανά για 1 λεπτό στις 11.000rpm.
6. Η NucleoSpin® Blood Column τοποθετείται εκ νέου σε δοκιμαστικό σωλήνα και φυγοκεντρείται ξανά για 1 λεπτό στις 11.000rpm ώστε να στεγνώσει η μεμβράνη πυριτίου και να απομακρυνθεί υπολειπόμενη αιθανόλη.
7. Τέλος για τη συλλογή του τελικού προϊόντος η NucleoSpin® Blood Column τοποθετείται σε σωληνάριο φυγοκέντρωσης 1.5mL και επωάζεται στους 70°C με προθερμασμένο στην ίδια θερμοκρασία ρυθμιστικό διάλυμα BE και ακολουθεί τελική φυγοκέντρωση για 1 λεπτό στις 11.000rpm.

Γονοτύπηση

Από την ανακάλυψή της το 1983, η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction / PCR) έχει αποτελέσει επανάσταση στη μοριακή βιολογία τόσο στην έρευνα, όσο και στη διάγνωση. Είναι μια ενζυμική μέθοδος *in vitro* ενίσχυσης καθορισμένων τμημάτων γενετικού υλικού [140].

Η PCR πραγματοποιείται σε 3 κυκλικά επαναλαμβανόμενα στάδια:

1. Αποδιάταξη των αρχικών αλυσίδων DNA με θέρμανση στους 94°C για ένα λεπτό.
2. Πρόσδεση των ειδικών προς την αλληλουχία-στόχο εκκινητών (primers). Με μείωση θερμοκρασίας στους 55-65°C για ένα λεπτό επιτυγχάνεται υβριδισμός των εκκινητών στις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες.
3. Για τη σύνθεση της νέας αλυσίδας αυξάνεται η θερμοκρασία στους 72°C, τη βέλτιστη θερμοκρασία δράσης της Taq πολυμεράσης, του ενζύμου που καταλύει την επιμήκυνση των εκκινητών προσθέτοντας τριφωσφωρικά δεοξυριβονουκλεοτίδια χρησιμοποιώντας ως εκμαγείο τη συμπληρωματική αλυσίδα DNA.

Για την ανωτέρω αντίδραση χρησιμοποιήθηκε θερμικός κυκλοποιητής (thermal cycler) MJ Research PTC-200 DNA (MJ. Research, Watertown, MA, USA). Ο θερμικός κυκλοποιητής διατηρεί τη θερμοκρασία και τη διάρκεια σε προκαθορισμένα επίπεδα και εναλλάσσει κυκλικά τα στάδια της PCR έως ότου λάβουμε το επιθυμητό μέγεθος δείγματος.

Για το GSTM1 χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές 5'-GAACTCCCTGAAA AGCTAAAGC-3' (forward primer) και 5'-GTTGGGCTCAAATAT ACGGTGG-3' (reverse primer), που παρήγαγαν μια διπλή άλυσσο μήκους 219bp. Ο πολυμορφισμός GSTM1 null έγκειται σε απουσία του ανωτέρω τμήματος γενετικού υλικού.

Η γονιδιακή ανάλυση για τους πολυμορφισμούς OPA1 rs166850 και rs10451941 έγινε με ανάλυση RFLP (restriction fragment-length polymorphism analysis) και PCR με χρήση ειδικών προς την αλληλουχία-στόχο εκκινητών (Sequence Specific Primers) και για τους δύο γονότυπους 5'-CCC TTT TAG TTT TTA CGA TGA AGA-3' (forward primer) και 5'-TTG CTT AAG ACA TTA CTT GGA ACA-3' (reverse primer). Το υλικό της PCR επεξεργάστηκε με περιοριστικά ένζυμα RsaI και FspBI (Fermentas, York, UK) . Σε όλες τις περιπτώσεις, ως μέθοδος ελέγχου για

επιτυχή PCR, η β-σφαιρίνη (268 bp) ενισχύθηκε με τους εκκινητές 5'-CAACTTCATCCACGTTTCACC-3' (forward primer) και 5'-GAAGAGCCAAGGACAGTTAC-3' (reverse primer).

Για τον πολυμορφισμό SOD2 rs4880 έγινε PCR με εκκινητές 5'-GCC CAG CCT GCG TAG ACG GTC CC-3' (forward), και 5'-TGC CTG GAG CCC AGA TAC CCC AAG-3' (reverse). Το προϊόν της αντίδρασης ήταν μια έλικά γενετικού υλικού μήκους 110bp το οποίο επεξεργάστηκε με περιοριστικό ένζυμο BsuRI (HaeIII) (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

Στατιστική ανάλυση

Ακολούθησε συγκέντρωση των αποτελεσμάτων και στατιστική ανάλυση. Οι συχνότητες εμφάνισης των μεταλλάξεων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία chi-squared (χ^2). Ο σχετικός λόγος πιθανοτήτων (odds ratio/ OR) και τα 95% διαστήματα αξιοπιστίας (95% confidence intervals/ 95% CI) υπολογίστηκαν με την δοκιμή κατανομής χ^2 . Οι τιμές p που ελήφθησαν ήταν two-tailed και προσδιορίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση όταν $p < 0,05$. Το θεώρημα Hardy-Weinberg, σύμφωνα με το οποίο οι συχνότητες αλληλίων και γονοτύπων παραμένουν σταθερές από γενιά σε γενιά αν δεν υπεισέλθει σε αυτές κάποια εξελικτική επιρροή, επαληθεύτηκε με τον υπολογισμό των αναμενόμενων συχνοτήτων και εξετάστηκε ξεχωριστά για τους ασθενείς και τους μάρτυρες χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία καλής προσαρμογής χ^2 (goodness-of-fit). Για όλες τις στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό GraphPad, έκδοση 3.00 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη συμπεριλήφθησαν 106 ασθενείς με ΠΓΑΓ (44 εκ των οποίων με θετικό οικογενειακό ιστορικό ως προς τη νόσο), 42 άνδρες και 64 γυναίκες με μέση ηλικία 67.06 ± 11.15 έτη. Η ομάδα των υγιών μαρτύρων αποτελείται από 120 άτομα, 56 άνδρες και 64 γυναίκες, μέσης ηλικίας 69.99 ± 13.76 έτη. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων συγκεντρώνονται στον **πίνακα 3**.

SOD2

Όπως απεικονίζεται στον **Πίνακα 4** ανάμεσα στις ομάδες των ασθενών και υγιών-μαρτύρων δεν εμφανίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης των γονότυπων (T/T, T/C, C/C) και των αλληλίων T και C. Συγκρίνοντας όμως τη μέση τιμή ΕΟΠ στους ετερόζυγους φορείς του αλληλόμορφου C (T/C) σε σχέση με τον ομόζυγο T/T γονότυπο φαίνεται να εμφανίζουν σημαντικά αυξημένες τιμές μέσης ΕΟΠ (19.13 ± 0.60 mmHg έναντι 17.59 ± 0.33 mmHg, $p = 0.02$). Δεδομένου ότι η αύξηση της ΕΟΠ αποτελεί τον μέχρι σήμερα σημαντικότερο γνωστό παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης ΠΓΑΓ το εύρημα αυτό ίσως να υποδηλώνει εμπλοκή του πολυμορφισμού SOD2 rs4880 στην παθογένεια της νόσου. Τέλος, όταν συγκρίναμε την ΕΟΠ σε κάθε μάτι ξεχωριστά, οι φορείς των γονότυπων (T/C) και (C/C) εμφάνισαν σημαντικά αυξημένες τιμές ΕΟΠ στον αριστερό οφθαλμό σε σχέση με τους φορείς του (T/T) γονότυπου. [(T/C) 18.79 ± 0.56 - (T/T) 17.2 ± 0.36 , $p = 0.02$ και (C/C) 20.75 ± 2.14 - (T/T) 17.2 ± 0.36 , $p = 0.03$].

SOD2	Γονότυπος	Μάρτυρες (n = 120)	Ασθενείς (n = 106)	P; OR (95% CI)
rs4880				
	TT	82	74	1.00 (Reference)
	CT	34	28	0.88; 0.91 (0.50-1.65)
	CC	4	4	1.00; 1.11 (0.27-4.59)
	T αλληλίο	199	176	1.0 (Reference)
	C αλληλίο	42	36	1.00; 0.97 (0.59-1.58)

Πίνακας 4: Κατανομή αλληλίων και γονότυπων του πολυμορφισμού SOD2 rs4880 στις ομάδες ασθενών και μαρτύρων.

GSTM1

Όπως φαίνεται στον **πίνακα 5** ο γονότυπος GSTM1 null εμφανίζεται συχνότερα στους ασθενείς με ΠΓΑΓ (44%) σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων (30%). Φαίνεται λοιπόν ότι οι φορείς του GSTM1 null εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου ($p=0.03$, $OR=1.86$, $95\%CI=1.07-3.21$). Το εύρημα αυτό κρίνεται σημαντικό δεδομένης της εμπλοκής της μεταφοράς της γλουταθειόνης στην κυτταρική απόκριση έναντι στο οξειδωτικό στρες. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση της ΕΟΠ με κανέναν από τους γονότυπους του GSTM1 που μελετήθηκαν.

<u>GSTM1</u>	Γονότυπος	Μάρτυρες (n=120)	Ασθενείς (n=106)	P;OR(95%CI)
	normal	84	59	1.00 (Reference)
	null	36	47	0.03; 1.86 (1.07-3.21)

Πίνακας 5: Κατανομή γονότυπων του πολυμορφισμού του γονιδίου GSTM1 στις ομάδες ασθενών και μαρτύρων.

OPA1

Κατά την ανάλυση των δειγμάτων δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης των πολυμορφισμών rs166850 και rs10451941 του γονιδίου OPA1 ανάμεσα στην ομάδα ασθενών με ΠΓΑΓ και την ομάδα των υγιών- μαρτύρων. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση κάποιου από τους παρακάτω γονότυπους με σημαντική αύξηση της ΕΟΠ. Τα αποτελέσματα συγκεντρώνονται στον **πίνακα 6:**

<u>OPA1</u>	Γονότυπος	Μάρτυρες (n = 120)	Ασθενείς ΠΓΑΓ (n = 106)	P; OR (95% CI)
rs166850				
	CC	108	94	1.00 (Reference)
	CT	12	11	1.00; 1.05 (0.44-2.49)
	TT	0	1	0.47; 3.44 (1.14-85.63)
rs10451941				
	TT	66	55	1.00 (Reference)
	TC	40	38	0.66; 1.14 (0.64-2.02)
	CC	14	13	0.83; 1.11 (0.48-2.57)

Πίνακας 6: Κατανομή γονότυπων των πολυμορφισμών rs166850 και rs10451941 του γονιδίου OPA1 στις ομάδες ασθενών και μαρτύρων.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στα πλαίσια της μελέτης αυτής εξετάστηκαν, για πρώτη φορά στον Ελληνικό πληθυσμό, πολυμορφισμοί στα γονίδια **GSTM1 (null)**, **SOD2 (rs4880)** και **OPA1 (rs10451941 και rs166850)** ως προς την πιθανή συμμετοχή τους στην παθογένεια του ΠΓΑΓ. Καθώς λιγοστές είναι οι μέχρι στιγμής μελέτες για τη γενετική βάση του ΠΓΑΓ στην Ελλάδα, η πρόοδος στην ταυτοποίηση γονιδίων σχετιζόμενων με το γλαύκωμα κρίνεται αναγκαία, καθώς μπορεί να χρησιμεύσει στην έγκαιρη διάγνωση αλλά και στην εξέλιξη νέων μεθόδων γονιδιακής θεραπείας.

Κοινό χαρακτηριστικό των ανωτέρω γονιδίων είναι η εμπλοκή τους στη μιτοχονδριακή λειτουργία και την κυτταρική απόκριση στο οξειδωτικό στρες. Οι δύο κύριες λειτουργίες των μιτοχονδρίων είναι η παραγωγή ATP μέσω οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και η ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου. Φαίνεται ότι η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία καθιστά τα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδή επιρρεπή σε γλαυκωματική βλάβη μειώνοντας την διαθέσιμη ενέργεια για τις διεργασίες επιδιόρθωσης και προδιαθέτοντας την απόπτωσή τους. Η ανάδειξη του ρόλου των μιτοχονδρίων στην παθογένεση του γλαυκώματος μπορεί να αποκαλύψει νέους θεραπευτικούς στόχους για την προστασία του οπτικού νεύρου και την πρόληψη της απώλειας όρασης στο γλαύκωμα [141]. Επιπλέον, φαίνεται πως η μιτοχονδριακή δεισλειτουργία καθιστά τα γαγγλιακά κύτταρα πιο ευαίσθητα στην αύξηση της ΕΟΠ [141]. Το οξειδωτικό στρες αποτελεί έναν από τους πιθανούς παράγοντες κινδύνου του ΠΓΑΓ και ως τώρα δεδομένα δείχνουν πως συμμετέχει στην αιτιοπαθογένεια της νόσου [107, 108]. Έχει προταθεί η άμεση νευροτοξική δράση των ROS στα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδή με αποτέλεσμα την πρόωπη απόπτωσή τους, η έμμεση βλάβη σε αυτά μέσω της επίδρασης του οξειδωτικού στρες στα νευρογλοιακά αμφιβληστροειδικά κύτταρα, καθώς και η επίδραση του οξειδωτικού στρες στο δικτυωτό ηθμοειδές (trabeculum) [108].

Το γονίδιο GSTM1 ανήκει στην οικογένεια των ενζύμων GST (τρανσφερασών της γλουταθειόνης), τα οποία εκτελούν τη σύζευξη της γλουταθειόνης με ROS και

οξυγονοποιημένους μεταβολίτες αποτελώντας έτσι σημαντική κυτταρική άμυνα έναντι του οξειδωτικού στρες. Εντοπίζονται σε προκαρυωτικά και ευκαριωτικά κύτταρα, με αυξημένη συγκέντρωση στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια [102]. Στη μελέτη μας επιβεβαιώνεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού *GSTM1 null* με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΓΑΓ ($p=0.03$, $OR=1.86$, $95\%CI=1.07-3.21$) στον Ελληνικό πληθυσμό. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με μελέτες σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες που υποστηρίζουν ότι ο πολυμορφισμός *GSTM1 null* μπορεί να αποτελεί γονιδιακό παράγοντα κινδύνου για εκδήλωση της νόσου [110-113, 142-143]. Εντούτοις, μελέτες των Jansson et al. και Izzotti et al. δεν βρίσκουν θετική συσχέτιση των πολυμορφισμών του *GSTM1* με το ΠΓΑΓ [114-115] και οι Barbosa et al. [110], παρόλο που εντοπίζουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης του *GSTM1 null* στο ΠΓΑΓ, η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.0874$). Τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών, καθώς και ο σημαντικός ρόλος που φαίνεται να διαδραματίζει η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και το οξειδωτικό στρες στην παθογένεια του γλαυκώματος [107-109], καθιστά αναγκαία την περαιτέρω διερεύνηση γονιδίων που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία.

Οι υπεροξειδικές δισμουτάσες (SODs) είναι ένζυμα που εμπλέκονται στην προστασία του κυττάρου από το οξειδωτικό στρες μέσω εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών υπεροξειδίου. Το SOD2, ένα μέλος των SODs, είναι ένα από τα σημαντικότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα στα μιτοχόνδρια γιατί εξουδετερώνει το ενδογενώς παραγόμενο υπεροξείδιο προστατεύοντας τα κύτταρα από τις αντιδραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) που συνδέονται με την οξειδωτική βλάβη. Αυξημένη έκφραση του SOD2 παρατηρήθηκε στο υδατοειδές υγρό των ασθενών με ΠΓΑΓ [126, 127]. Ο πολυμορφισμός SOD2 rs4880 είναι ένας SNP με αντικατάσταση C προς T με αποτέλεσμα την υποκατάσταση της αλανίνης (Ala) από βαλίνη (Val). Σε σύγκριση με την παραλλαγή SOD2 Val, η οποία εντοπίζεται στη μιτοχονδριακή μεμβράνη, η παραλλαγή Ala παρουσιάζεται στο κυτταρόπλασμα των μιτοχονδρίων και εμφανίζει αυξημένη ενζυματική δραστηριότητα. Η ισομορφή Val του SOD2 έχει προταθεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη αντίσταση έναντι των ROS που παράγονται στα μιτοχόνδρια και σε αυξημένη οξειδωτική βλάβη.

Η μελέτη μας, που αποτέλεσε την πρώτη προσπάθεια διερεύνησης της συχνότητας εμφάνισης του πολυμορφισμού αυτού σε Ελληνικό πληθυσμό ασθενών με ΠΓΑΓ, δεν κατέδειξε σημαντικά αυξημένη συχνότητα εμφάνισης κάποιου εκ των γονοτύπων στην ομάδα των ασθενών ή των μαρτύρων (C/T: $p=0.88$; OR= 0.91, 95%CI= 0.50-1.65), (T/T: $p=1.00$, OR=1.11, 95%CI= 0.27-4.59). Όμως, οι φορείς του ετερόζυγου γονότυπου (C/T) εμφανίζουν σημαντικά αυξημένες τιμές μέσης ΕΟΠ σε σχέση με τον (T/T) γονότυπο (19.13 ± 0.60 mmHg έναντι 17.59 ± 0.33 mmHg, $p = 0.02$). Οι έως τώρα μελέτες πάνω στο SOD2 εμφανίζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Οι Abu-Amro et al. μελέτησαν τον rs4880 σε ασθενείς με ΠΓΑΓ από τη Σαουδική Αραβία και βρέθηκε ότι οι ασθενείς που έφεραν αυτή τη μετάλλαξη είχαν ελαφρώς αυξημένη ενδοφθάλμια πίεση. Οι Zhou et al. δηλώνουν ότι το SOD2 μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της νόσου στον κινεζικό πληθυσμό. Αντίθετα, Celojovic et al. αναφέρουν ότι οι πολυμορφισμοί στα SOD1, SOD2 και SOD3 δεν συνεισφέρουν σημαντικά στην παθογένεση του ΠΓΑΓ [86, 128-129]. Δεδομένου του σημαντικού ρόλου των υπεροξειδικών δισμουτασών στην μιτοχονδριακή λειτουργία και την άμυνα απέναντι στο οξειδωτικό στρες, των ενδείξεων ότι το οξειδωτικό στρες κατέχει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του γλαυκώματος και των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων των ανωτέρω μελετών κρίνεται σκόπιμη η συνέχιση της διερεύνησης του ρόλου του SOD2 με περισσότερες μελέτες σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες.

Ο ρόλος του γονιδίου *OPA1* είναι σημαντικός σε κυτταρικές λειτουργίες όπως η βιογένεση και σταθερότητα των μιτοχονδριακών μεμβρανών, του μιτοχονδριακού DNA, την εκκίνηση της διαδικασίας της κυτταρικής απόπτωσης αλλά και ως μέρος της κυτταρικής άμυνας έναντι του οξειδωτικού στρες. Εκφράζεται και στα γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδή και μεταλλάξεις του γονιδίου φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεια του γλαυκώματος και άλλων εκφυλιστικών νευροπαθειών. Έχει επίσης στοχοποιηθεί ως υπεύθυνο γονίδιο για την κληρονομούμενη με αυτοσωμικό επικρατούντα τύπο οπτική ατροφία (ADOA) [130- 133]. Τα αποτελέσματα προγενέστερων μελετών σε πολυμορφισμούς του *OPA1* και τη πιθανή σχέση τους με το ΠΓΑΓ εμφανίζονται αντικρουόμενα. Οι Mabuchi et al [134] θεωρούν το *OPA1* πιθανό γενετικό παράγοντα κινδύνου του ΠΓΑΓ, αντιθέτως άλλες μελέτες εντοπίζουν θετική συσχέτιση μόνο ως προς το

γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης [135, 136, 138], και κάποιοι ερευνητές δεν εντοπίζουν συσχέτιση με κανένα από τα γλαυκώματα ανοικτής γωνίας [137, 139].

Σχετικά με τη συσχέτιση των πολυμορφισμών rs166850 και rs10451941 του γονιδίου OPA1 με τον κίνδυνο εκδήλωσης ΠΓΑΓ, σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες [135, 137], τα δεδομένα μας δεν μπορούν να υποστηρίξουν συσχέτισμό αυτών των πολυμορφισμών με την αιτιοπαθογένεια του ΠΓΑΓ στον Ελληνικό πληθυσμό. Επιπλέον, δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ αυτών των πολυμορφισμών και αύξησης της ΕΟΠ.

Οι ολοένα αυξανόμενες μελέτες που τονίζουν τον ρόλο της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και της ανεπαρκούς κυτταρικής απόκρισης στο οξειδωτικό στρες στην παθογένεια του γλαυκώματος, καταδεικνύουν την ανάγκη να συνεχιστεί η προσπάθεια ταυτοποίησης υπεύθυνων πολυμορφισμών που εμπλέκονται στη διαδικασία αυτή. Πρόσφατα, οι Izzotti et al. [144] μελετώντας την επίδραση της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας στο trabeculum αναφέρουν αυξημένη συχνότητα deletations μιτοχονδριακού DNA στο trabeculum ασθενών με ΠΓΑΓ (3.0 φορές αυξημένη συχνότητα) και ασθενών με ψευδοαποφωλιδωτικό γλαύκωμα (6.3 φορές αυξημένη συχνότητα) σε σχέση με οφθαλμούς υγείων ατόμων και τονίζουν ότι η οξειδωτική βλάβη που οφείλεται σε μιτοχονδριακή δυσλειτουργία επιδρά δυσμενώς στη λειτουργικότητα του trabeculum [144]. Οι McElnea et al. [145] μελέτησαν κύτταρα της lamina cribrosa προερχόμενα από πτωματικούς δότες, γλαυκωματικούς και φυσιολογικούς, και εντόπισαν σημαντικά αυξημένη συγκέντρωση ($p < 0.05$) στη lamina cribrosa των γλαυκωματικών μαλόνυλο-διαλδεΰδης (malonyldialdehyde, MDA), ενός σημαντικού βιοδείκτη του οξειδωτικού στρες.

Δεδομένων λοιπόν των ολοένα αυξανόμενων ενδείξεων της επίδρασης του οξειδωτικού στρες στην απόπτωση των γαγγλιακών αμφιβληστροειδικών κυττάρων στο γλαύκωμα επιχειρείται κατά τα τελευταία χρόνια σε πειραματικό ακόμη στάδιο η εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας μέσω γονιδίων που εμπλέκονται στην κυτταρική απόκριση στο οξειδωτικό στρες. Οι Chen et al δημιούργησαν έναν vector virus ο οποίος έφερε το γονίδιο CAT (catalase), έναν ισχυρό παράγοντα έναντι των ROS. Ο ιός χορηγήθηκε ενδοϋαλοειδικά σε οφθαλμούς ποντικών 3 εβδομάδες πριν προκληθεί σε αυτούς οφθαλμική υπερτονία της τάξης των 100mmHg για 1 ώρα.

Πέντε ημέρες μετά οι οφθαλμοί στους οποίους χορηγήθηκε το γονίδιο έδειξαν υπερέκφραση του CAT και βελτιωμένα a- και b- κύματα στο ηλεκτροαμφιβληστροειδογράφημα στο οποίο υποβλήθηκαν [148]. Οι Jiang et al [149] ομοίως προξένησαν γλαύκωμα σε ενήλικους αρσενικούς αρουραίους με βολές laser στο trabeculum και το επισκληρικό φλεβικό δίκτυο. Ένας οφθαλμός κάθε αρουραίου υποβλήθηκε σε ενδοϋαλοειδική προέγχυση με ανασυνδυασμένο αδενοϊό που εκφράζει το γονίδιο SOD2 (AAV-SOD2) 21 ημέρες πριν την επαγωγή του γλαυκώματος. Η μέτρηση των RGC, η μορφομετρική ανάλυση του αμφιβληστροειδούς και του οπτικού νεύρου και η ανίχνευση των δραστηριοτήτων του SOD2 στον αμφιβληστροειδή, η παρουσία του βιοδείκτη MDA και μιτοχονδριακής μορφολογίας διεξήχθησαν στις 4, 8, 12 και 24 εβδομάδες μετά. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι σε οφθαλμούς στους οποίους χορηγήθηκε, το SOD2 φάνηκε ικανό να μειώσει τις επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες και να βελτιώσει τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία των RGC και του οπτικού νεύρου δευτερογενώς στο γλαύκωμα. Έτσι, το SOD2 θα μπορούσε μελλοντικά να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη της απόπτωσης των RGCs από το γλαύκωμα, το οποίο παρέχει μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για τη θεραπεία του γλαυκώματος [149].

Βρισκόμαστε στην αρχή μιας νέας εποχής, ο στόχος πλέον ως προς το μέλλον της αντιμετώπισης του γλαυκώματος είναι ξεκάθαρος: έγκαιρη διάγνωση και αποτελεσματική, στοχευμένη θεραπεία μέσω της χαρτογράφησης και θεραπευτικής παρέμβασης στα υπεύθυνα γονίδια.

Η θεραπεία ασθενειών με γονιδιακή θεραπεία προχωρά γρήγορα. Η χρήση της γονιδιακής θεραπείας μπορεί να έχει στόχο το να αντικατασταθεί το μεταλλαγμένο γονίδιο που προκαλεί τη νόσο, ή τη χρήση γονιδίων για την τροποποίηση γνωστών παθοφυσιολογικών οδών που επηρεάζουν την ασθένεια. Τα γονίδια προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις συμβατικές θεραπείες. Έχουν μεγαλύτερη διάρκεια δράσης, στερούνται τις ανεπιθύμητες δράσεις των φαρμάκων, τις επιπλοκές των χειρουργικών επεμβάσεων και είναι στοχευμένα. Το θεραπευτικό γονίδιο μπορεί να παραδοθεί στη θέση-στόχο με γυμνό DNA, τροποποιημένα κύτταρα και ιούς-φορείς. Η τεράστια πρόοδος της τελευταίας δεκαετίας στη μοριακή βιολογία έχει παράσχει τρόπους για τη στόχευση γονιδίων στο επιδιωκόμενο κύτταρο / ιστό και ασφαλείς, μακροπρόθεσμους

φορείς. Ο οφθαλμός, λόγω της προσβασιμότητάς του, είναι ιδανικό όργανο για εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας. Επί του παρόντος, υπάρχουν κλινικές δοκιμές για ασθένειες που επηρεάζουν πρακτικά κάθε ιστό του οφθαλμού, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που κατάφεραν να αποκαταστήσουν μέρος της όρασης σε ασθενείς με συγγενή αμαύρωση Leber [147]. Μια νοσολογική οντότητα με μεγάλη ανάγκη για χαρτογράφηση των υπεύθυνων γονιδίων και εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας είναι το γλαύκωμα, όπου μια μακράς δράσης γονιδιακή θεραπεία θα εξαλείψει τις καθημερινές εφαρμογές τοπικής αγωγής, το κόστος και τα θέματα συμμόρφωσης σε αυτήν, αλλά και την ανάγκη χειρουργικής αντιμετώπισης με όλους τους κινδύνους που αυτό συνεπάγεται [146].

ABSTRACTS (ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ)

- 1.** Lavaris, A., Gazouli, M., Brouzas, D., Moschos, M. M. (2016). Polymorphism analysis of GSTM1 and OPA1 genes in Greek patients with primary open-angle glaucoma. *In Vivo*, 30(4), 473-477.

Abstract.

Background: Glaucoma is a heterogenous group of optic neuropathies leading to progressive degeneration of the optic nerve and vision loss. Over the past decades, disease-causing genes have been identified and multigenic inheritance theory has been investigated for many cases of glaucoma. The purpose of this study was to investigate the distribution of mutations in glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and optic atrophy 1 (OPA1) genes in a series of patients of Greek origin.

Patients and Methods: This was a case–control study of 106 patients with primary open-angle glaucoma (POAG) and 120 healthy controls of Greek origin, surveyed for polymorphisms with potential correlation to POAG. A DNA sample from each individual was genotyped for GSTM1 and OPA1 (rs166850, rs10451941) polymorphisms.

Results: GSTM1 null genotype carriers seem to have an increased risk of developing POAG (odds ratio=1.86, 95% confidence interval=1.07-3.21; p=0.03). The results indicate that the OPA1 genotype (rs166850 and rs10451941 polymorphisms) is not significantly associated with POAG. **Conclusions:** The GSTM1 null genotype might be associated with increased risk of development of POAG in the Greek population. No significant correlation was found between OPA1 polymorphisms and POAG.

Περίληψη

Εισαγωγή: Το γλαύκωμα είναι μια ετερογενής ομάδα οπτικών νευροπαθειών που οδηγούν σε σταδιακή εκφύλιση του οπτικού νεύρου και απώλεια όρασης. Τις τελευταίες δεκαετίες υπεύθυνα γονίδια έχουν ταυτοποιηθεί και η θεωρία πολυπαραγοντικής κληρονομικότητας ερευνάται για πολλές περιπτώσεις γλαυκώματος. Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να ερευνηθεί η κατανομή πολυμορφισμών στα γονίδια glutathione S-transferase M1 (GSTM1) και optic atrophy 1 (OPA1) σε ομάδα ασθενών Ελληνικής καταγωγής.

Ασθενείς και μέθοδος: Έγινε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων που συμπεριέλαβε 106 ασθενείς με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (ΠΓΑΓ) και 120 υγιείς-μάρτυρες Ελληνικής καταγωγής. Δείγμα DNA από κάθε έναν εκ των συμμετεχόντων αναλύθηκε γενετικά για τον εντοπισμό πολυμορφισμών στα γονίδια GSTM1 και OPA1 (πολυμορφισμοί rs166850, rs10451941).

Αποτελέσματα: Οι φορείς του γονότυπου GSTM1 null φαίνεται ότι εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο να εκδηλώσουν ΠΓΑΓ (OR=1.86, 95%CI=1.07-3.21; p=0.03). Τα αποτελέσματα της μελέτης δεν δείχνουν σημαντική συσχέτιση των πολυμορφισμών rs166850 and rs10451941 στο γονίδιο OPA1 με το ΠΓΑΓ.

Συμπεράσματα: Ο γονότυπος GSTM1 null φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης ΠΓΑΓ στον Ελληνικό πληθυσμό. Δεν φάνηκε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στους πολυμορφισμούς του OPA1 που μελετήθηκαν και το ΠΓΑΓ.

- 2.** Lavaris, A., Gazouli, M., Kitsos, G., Brouzas, D., Moschos, M. M. (2016). Association of Superoxide Dismutase 2 Polymorphism Rs4880 and Open-Angle Glaucoma in a Greek Patients' Cohort. J Genet Syndr Gene Ther, 7(285), 2.

Abstract

Purpose: Glaucoma is a multifactorial optic neuropathy and leading cause of visual impairment and blindness. Multigenic inheritance hypothesis is being investigated over the past decades and numerous mainly causative and synergic polymorphisms have been revealed. Aim of this study is to investigate whether superoxide dismutase 2 (SOD2) polymorphism rs4880 is associated with primary open angle glaucoma (POAG) in Greek population.

Materials and method: This is a case control study of 106 POAG patients and 120 thoroughly examined, unrelated, healthy control subjects of Greek origin, surveyed for SOD2 polymorphism rs4880 and potential correlation to POAG.

Results: SOD2 rs4880 polymorphism showed no statistically significant difference between POAG patients and healthy controls. Mean intraocular pressure (IOP) of both eyes of the heterozygous (T/C) group was found significantly higher than in homozygous (T/T) group (19.13 ± 0.60 vs. 17.59 ± 0.33 , $p = 0.02$). When we compared the IOP in each eye separately, the (T/C) and (C/C) carriers had significantly higher IOP on their left eye compared to the (T/T) carriers [(T/C) 18.79 ± 0.56 vs. (T/T) 17.2 ± 0.36 , $p = 0.02$ and (C/C) 20.75 ± 2.14 vs. (T/T) 17.2 ± 0.36 , $p = 0.03$).

Conclusion: Our study did not find any significant association between SOD2 rs4880 polymorphism and POAG. Mean IOP of the polymorphic (C) allele carriers was found significantly higher than in homozygous (T/T) group. As we cannot reject the possibility that oxidative stress might be a crucial factor for the POAG development further studies may be needed to confirm the importance of SOD2 gene in POAG pathogenesis.

Περίληψη

Εισαγωγή: Το γλαύκωμα είναι μια πολυπαραγοντική οπτική νευροπάθεια και κύρια αιτία απώλειας όρασης έως και της τύφλωσης. Η υπόθεση της πολυπαραγοντικής κληρονομικότητας διερευνάται τις τελευταίες δεκαετίες και αποκαλύφθηκαν πολυάριθμοι κυρίως αιτιοπαθογόνοι και συνεργικώς δρώντες

πολυμορφισμοί. Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να διερευνηθεί εάν ο πολυμορφισμός rs4880 στο γονίδιο superoxide dismutase 2 (SOD2) σχετίζεται με πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (ΠΓΑΓ) στον ελληνικό πληθυσμό.

Υλικά και μέθοδος: Πρόκειται για μελέτη ασθενών-μαρτύρων 106 ασθενών με ΡΟΑΓ και 120 διεξοδικά εξετασθέντων, υγιών ατόμων Ελληνικής καταγωγής, που ερευνήθηκαν για τον πολυμορφισμό SOD2 rs4880 και την πιθανή συσχέτιση του με το ΠΓΑΓ.

Αποτελέσματα: Ο πολυμορφισμός SOD2 rs4880 δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με ΠΓΑΓ και των υγιών μαρτύρων. Η μέση ενδοφθάλμια πίεση (ΕΟΠ) των δύο οφθαλμών της ετεροζυγωτικής ομάδας (T / C) βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη από την ομάδα με ομόζυγο (T / T) γονότυπο ($19,13 \pm 0,60$ έναντι $17,59 \pm 0,33$, $p = 0,02$). Όταν συγκρίναμε την ΕΟΠ σε κάθε οφθαλμό ξεχωριστά, οι φορείς των (T / C) και (C / C) γονότυπων είχαν σημαντικά υψηλότερη ΕΟΠ στο αριστερό μάτι τους σε σύγκριση με τους φορείς του (T / T) γονότυπου [(T/C) $18,79 \pm 0,56$ έναντι (T / T) $17,2 \pm 0,36$, $p = 0,02$ και (C / C) $20,75 \pm 2,14$ έναντι (T / T) $17,2 \pm 0,36$, $p = 0,03$].

Συμπέρασμα: Η μελέτη μας δεν διαπίστωσε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού SOD2 rs4880 και του ΠΓΑΓ. Η μέση ΕΟΠ των φορέων του C αλληλόμορφου σε ομόζυγη ή ετερόζυγη μορφή βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη από ό, τι στην ομόζυγη (T / T) ομάδα. Καθώς δεν μπορούμε να απορρίψουμε την πιθανότητα ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να είναι καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη του ΠΓΑΓ, ενδέχεται να απαιτηθούν περαιτέρω μελέτες για να επιβεβαιωθεί η σημασία του γονιδίου SOD2 στην παθογένεση της νόσου.

Βιβλιογραφικές αναφορές:

1. Casson RJ, Chidlow G, Wood JP, et al. Definition of glaucoma: clinical and experimental concepts. Clin Exp Ophthalmol. 2012 May-Jun;40(4):341-9.
2. Tham YC, Li X, Wong TY, et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. Ophthalmology. 2014 Nov;121(11):2081-90.
3. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. Br J Ophthalmol. 90:262–267, 2006.
4. Kapetanakis VV, Chan MP, Foster PJ, et al. Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma(POAG): a systematic review and meta-analysis. Br J Ophthalmol. 2016 Jan;100(1):86-93.
5. Chua J, Baskaran M, Ong PG, et al. Prevalence, Risk Factors, and Visual Features of Undiagnosed Glaucoma: The Singapore Epidemiology of Eye Diseases Study. JAMA Ophthalmol. 2015 Aug;133(8):938-46.
6. Fronimopoulos J, Lascaratos J. The terms glaucoma and cataract in the ancient Greek and Byzantine writings. Doc Ophthalmol 1991;77:369.
7. Fronimopoulos J. Glaucoma and cataract. Hell Ann Ophthalmol 1964;399–108.
8. Shastid TH. American Dictionary and Encyclopedia of Ophthalmology. Chicago: Cleveland Press; 1913. History of ophthalmology; p. 8669.
9. Leffler CT, Schwartz SG, Giliberti FM, Young MT, Bermudez D. What was Glaucoma Called Before the 20th Century? Ophthalmol Eye Dis. 2015 Oct 8;7:21-33.
10. Serpell G. Sir William Mackenzie: sympathetic ophthalmia and glaucoma before ophthalmoscopy. ANZ J Surg. 2009 Dec;79(12):926-9.
11. Tan SY, Shigaki D. Hermann von Helmholtz (1821-1894): inventor of the ophthalmoscope. Singapore Med J. 2006 May;47(5):359-60.

12. Kniestedt C, Punjabi O, Lin S, Stamper RL. Tonometry through the ages. *Surv Ophthalmol*. 2008 Nov-Dec;53(6):568-91.
13. Johnson CA, Wall M, Thompson HS. A history of perimetry and visual field testing. *Optom Vis Sci*. 2011 Jan;88(1):E8-15.
14. Realini T. A history of glaucoma pharmacology. *Optom Vis Sci*. 2011 Jan;88(1):36-8.
15. Rosin A. [Pilocarpine. A miotic of choice in the treatment of glaucoma has passed 110 years of use]. *Oftalmologia*. 1991 Jan-Mar;35(1):53-5.
16. Razeghinejad MR, Spaeth GL. A history of the surgical management of glaucoma. *Optom Vis Sci*. 2011 Jan;88(1):E39-47.
17. Kalantzis G, Georgalas I, Tsiamis C, El-Hindy N, Poulakou-Rebelakou E. The invention of gonioscopy by Alexios Trantas and his contribution to ophthalmology. *J R Coll Physicians Edinb*. 2015;45(3):226-8.
18. Zimmermann M, Pitz S, Schmidtman I, Pfeiffer N, Wasilica-Poslednik J. Tonographic Effect of Ocular Response Analyzer in Comparison to Goldmann Applanation Tonometry. *PLoS One*. 2017 Jan 9;12(1):e0169438.
19. Salim S, Du H, Wan J. Comparison of central corneal thickness measured by hand-held and desk-mounted ultrasound pachymeters in glaucoma patients. *Semin Ophthalmol*. 2015 Jul;30(4):268-71.
20. Michelessi M, Lucenteforte E, Oddone F, Brazzelli M, Parravano M, Franchi S, Ng SM, Virgili G. Optic nerve head and fibre layer imaging for diagnosing glaucoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Nov 30;(11):CD008803.
21. SooHoo JR, Seibold LK, Radcliffe NM, Kahook MY. Minimally invasive glaucoma surgery: current implants and future innovations. *Can J Ophthalmol*. 2014 Dec;49(6):528-33.
22. Rahman MQ, Abeysinghe SS, Kelly S, Roskell NS, Shannon PR, Abdlsead AA, Montgomery DM. Persistence of glaucoma medical therapy in the Glasgow Glaucoma Database. *Br J Ophthalmol*. 2011 Jul;95(7):966-70.
23. Holz HA, Lim MC. Glaucoma lasers: a review of the newer techniques. *Curr Opin Ophthalmol*. 2005 Apr;16(2):89-93.
24. Realini T. Selective laser trabeculoplasty: a review. *J Glaucoma*. 2008 Sep;17(6):497-502.

25. Wang H, Tao Y, Sun XL, Zhuang K. Comparison of Heidelberg retina tomography, optical coherence tomography and Humphrey visual field in early glaucoma diagnosis. *J Int Med Res.* 2013 Oct;41(5):1594-605.
26. Yadav RK, Begum VU, Addepalli UK, Senthil S, Garudadri CS, Rao HL. Diagnostic Abilities of Variable and Enhanced Corneal Compensation Algorithms of GDx in Different Severities of Glaucoma. *J Glaucoma.* 2016 Feb;25(2):e87-93.
27. Farhood QK. Comparative evaluation of intraocular pressure with an air-puff tonometer versus a Goldmann applanation tonometer. *Clin Ophthalmol.* 2013;7:23-7.
28. Turalba AV, Grosskreutz C. A review of current technology used in evaluating visual function in glaucoma. *Semin Ophthalmol.* 2010 Sep-Nov;25(5-6):309-16.
29. Liu H, Fan S, Gulati V, Camras LJ, Zhan G, Ghate D, Camras CB, Toris CB. Aqueous humor dynamics during the day and night in healthy mature volunteers. *Arch Ophthalmol.* 2011 Mar;129(3):269-75.
30. Nau CB, Malihi M, McLaren JW, Hodge DO, Sit AJ. Circadian variation of aqueous humor dynamics in older healthy adults. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Nov 15;54(12):7623-9.
31. Göbel K, Rüfer F, Erb C. [Physiology of aqueous humor formation, diurnal fluctuation of intraocular pressure and its significance for glaucoma]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2011 Feb;228(2):104-8.
32. Tamm ER. The trabecular meshwork outflow pathways: structural and functional aspects. *Exp Eye Res.* 2009 Apr;88(4):648-55.
33. Resch ZT, Hann CR, Cook KA, Fautsch MP. Aqueous humor rapidly stimulates myocilin secretion from human trabecular meshwork cells. *Exp Eye Res.* 2010 Dec;91(6):901-8.
34. Vranka JA, Kelley MJ, Acott TS, Keller KE. Extracellular matrix in the trabecular meshwork: intraocular pressure regulation and dysregulation in glaucoma. *Exp Eye Res.* 2015 Apr;133:112-25.
35. Stamer WD, Braakman ST, Zhou EH, Ethier CR, Fredberg JJ, Overby DR, Johnson M. Biomechanics of Schlemm's canal endothelium and intraocular pressure reduction. *Prog Retin Eye Res.* 2015 Jan;44:86-98.

36. Brubaker RF. Measurement of uveoscleral outflow in humans. *J Glaucoma*. 2001 Oct;10(5 Suppl 1):S45-8.
37. American Academy of Ophthalmology. Basic and Clinical Science Course Section 10: Glaucoma. 2016, p:3-14.
38. Oyama T, Abe H, Ushiki T. The connective tissue and glial framework in the optic nerve head of the normal human eye: light and scanning electron microscopic studies. *Arch Histol Cytol*. 2006 Dec;69(5):341-56.
39. Mackenzie PJ, Cioffi GA. Vascular anatomy of the optic nerve head. *Can J Ophthalmol*. 2008 Jun;43(3):308-12.
40. Casson RJ, Chidlow G, Wood JP, Crowston JG, Goldberg I. Definition of glaucoma: clinical and experimental concepts. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012 May-Jun;40(4):341-9.
41. European Glaucoma Society . Terminology and Guidelines for Glaucoma. 3rd ed. Savona: Dogma; 2008.
42. Bengtsson B, Leske MC, Hyman L, Heijl A; Early Manifest Glaucoma Trial Group.. Fluctuation of intraocular pressure and glaucoma progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology*. 2007 Feb;114(2):205-9.
43. Wang D, Huang W, Li Y, Zheng Y, Foster PJ, Congdon N, He M. Intraocular pressure, central corneal thickness, and glaucoma in chinese adults: the liwan eye study. *Am J Ophthalmol*. 2011 Sep;152(3):454-462.
44. Leske MC, Connell AM, Wu SY, Hyman L, Schachat AP. Distribution of intraocular pressure. The Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol*. 1997 Aug;115(8):1051-7.
45. Hoehn R, Mirshahi A, Hoffmann EM, Kottler UB, Wild PS, Laubert-Reh D, Pfeiffer N. Distribution of intraocular pressure and its association with ocular features and cardiovascular risk factors: the Gutenberg Health Study. *Ophthalmology*. 2013 May;120(5):961-8.
46. Varma R, Ying-Lai M, Francis BA, Nguyen BB, Deneen J, Wilson MR, Azen SP; Los Angeles Latino Eye Study Group.. Prevalence of open-angle glaucoma and ocular hypertension in Latinos: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmology*. 2004 Aug;111(8):1439-48.
47. European Glaucoma Prevention Study (EGPS) Group., Miglior S, Pfeiffer N, Torri V, Zeyen T, Cunha-Vaz J, Adamsons I. Predictive factors for open-angle glaucoma

among patients with ocular hypertension in the European Glaucoma Prevention Study. *Ophthalmology*. 2007 Jan;114(1):3-9.

48. Brandt JD, Beiser JA, Gordon MO, Kass MA; Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS) Group.. Central corneal thickness and measured IOP response to topical ocular hypotensive medication in the Ocular Hypertension Treatment Study. *Am J Ophthalmol*. 2004 Nov;138(5):717-722.

49. Wesselink C, Marcus MW, Jansonius NM. Risk factors for visual field progression in the groningen longitudinal glaucoma study: a comparison of different statistical approaches. *J Glaucoma*. 2012 Dec;21(9):579-85. doi: 10.1097/IJG.0b013e31822543e0. Erratum in: *J Glaucoma*. 2014 Jan;23(1):60.

50. Feiner L, Piltz-Seymour JR; Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study.. Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study: a summary of results to date. *Curr Opin Ophthalmol*. 2003 Apr;14(2):106-11.

51. Tielsch JM, Katz J, Singh K, Quigley HA, Gottsch JD, Javitt J, Sommer A. A population-based evaluation of glaucoma screening: the Baltimore Eye Survey. *Am J Epidemiol*. 1991 Nov 15;134(10):1102-10.

52. Marcus MW, de Vries MM, Junoy Montolio FG, Jansonius NM. Myopia as a risk factor for open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2011 Oct;118(10):1989-1994.

53. Mitchell P, Hourihan F, Sandbach J, Wang JJ. The relationship between glaucoma and myopia: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1999 Oct;106(10):2010-5.

54. Wong TY, Klein BE, Klein R, Knudtson M, Lee KE. Refractive errors, intraocular pressure, and glaucoma in a white population. *Ophthalmology*. 2003 Jan;110(1):211-7.

55. Xu L, Wang Y, Wang S, Wang Y, Jonas JB. High myopia and glaucoma susceptibility the Beijing Eye Study. *Ophthalmology*. 2007 Feb;114(2):216-220.

56. Bonovas S, Peponis V, Filioussi K. Diabetes mellitus as a risk factor for primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. *Diabet Med*. 2004 Jun;21(6):609-14.

57. Zhou M, Wang W, Huang W, Zhang X. Diabetes mellitus as a risk factor for open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014 Aug 19;9(8):e102972.

58. Sommer A. Glaucoma risk factors observed in the Baltimore Eye Survey. *Curr Opin Ophthalmol*. 1996 Apr;7(2):93-8.
59. Bowe A, Grünig M, Schubert J, et al. Circadian Variation in Arterial Blood Pressure and Glaucomatous Optic Neuropathy--A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Hypertens*. 2015 Sep;28(9):1077-82.
60. Lin PW, Friedman M, Lin HC, Chang HW, Pulver TM, Chin CH. Decreased retinal nerve fiber layer thickness in patients with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011 Apr;249(4):585-93.
61. Cross JM, Girkin CA, Owsley C, McGwin G Jr. The association between thyroid problems and glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2008 Nov;92(11):1503-1505.
62. Jünemann AG, Huchzermeyer C, Rejdak R, Hohberger B. [Dyslipidaemia and glaucoma]. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2014 Dec;231(12):1203-14.
63. Gramer G, Weber BH, Gramer E. Migraine and Vasospasm in Glaucoma: Age-Related Evaluation of 2027 Patients With Glaucoma or Ocular Hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015 Dec;56(13):7999-8007.
64. Orssengo GJ, Pye DC. Determination of the true intraocular pressure and modulus of elasticity of the human cornea in vivo. *Bull Math Biol*. 1999 May;61(3):551-72.
65. Brandt JD. Central corneal thickness, tonometry, and glaucoma risk--a guide for the perplexed. *Can J Ophthalmol*. 2007 Aug;42(4):562-6. Review.
66. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *JAMA*. 2014 May 14;311(18):1901-11.
67. Begum VU, Addepalli UK, Yadav RK, Shankar K, Senthil S, Garudadri CS, Rao HL. Ganglion cell-inner plexiform layer thickness of high definition optical coherence tomography in perimetric and preperimetric glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 Jul 11;55(8):4768-75.
68. Lisboa R, Leite MT, Zangwill LM, Tafreshi A, Weinreb RN, Medeiros FA. Diagnosing preperimetric glaucoma with spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2012 Nov;119(11):2261-9.
69. Bogunović H, Kwon YH, Rashid A, Lee K, Critser DB, Garvin MK, Sonka M, Abramoff MD. Relationships of retinal structure and humphrey 24-2 visual field

thresholds in patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014 Dec 9;56(1):259-71.

70. Solano-Moncada F, Dymerska M, Jefferys JL, Quigley HA. Adherence With the Use of Target Intraocular Pressure for Glaucoma Patients in a Large University Practice. *J Glaucoma.* 2016 Apr;25(4):e424-32.

71. Wang X, Harmon J, Zabrieskie N, et al. Using the Utah Population Database to assess familial risk of primary open angle glaucoma. *Vision Res.* 2010 Nov 23;50(23):2391-5.

72. Klein BE, Klein R, Lee KE. Heritability of risk factors for primary open-angle glaucoma: the Beaver Dam Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 Jan;45(1):59-62.

73. Chang TC, Congdon NG, Wojciechowski R, et al. Determinants and heritability of intraocular pressure and cup-to-disc ratio in a defined older population. *Ophthalmology.* 2005 Jul;112(7):1186-91.

74. Toh T, Liew SH, MacKinnon JR, et al. Central corneal thickness is highly heritable: the twin eye studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Oct;46(10):3718-22.

75. BIRO I. Notes upon the question of hereditary glaucoma. *Ophthalmologica.* 1951;122(4):228.

76. Teikari JM. Genetic factors in open-angle (simple and capsular) glaucoma. A population-based twin study. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1987 Dec;65(6):715-20.

77. Allen TD, Ackerman WG. Hereditary glaucoma in a pedigree of three generations. *Arch. Ophthalmol.* 27: 139-157, 1942.

78. Stone EM, Fingert JH, Alward WL, et al. Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science.* 1997 Jan 31;275(5300):668-70.

79. Sheffield VC, Stone EM, Alward WL, et al. Genetic linkage of familial open angle glaucoma to chromosome 1q21-q31. *Nat Genet.* 1993 May;4(1):47-50.

80. Johnson AT, Drack AV, Kwitek AE, et al. Clinical features and linkage analysis of a family with autosomal dominant juvenile glaucoma. *Ophthalmology.* 1993 Apr;100(4):524-9.

81. Cheng JW, Cheng SW, Ma XY, et al. Myocilin polymorphisms and primary open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7(9):e46632.

82. Takamoto M, Araie M. Genetics of primary open angle glaucoma. *Jpn J Ophthalmol*. 2014 Jan;58(1):1-15.
83. Janssen SF, Gorgels TG, Ramdas WD, et al. The vast complexity of primary open angle glaucoma: disease genes, risks, molecular mechanisms and pathobiology. *Prog Retin Eye Res*. 2013 Nov;37:31-67.
84. Burdon KP, Macgregor S, Hewitt AW, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for open angle glaucoma at TMCO1 and CDKN2B-AS1. *Nat Genet*. 2011 Jun;43(6):574-8.
85. Abu-Amero K, Kondkar AA, Chalam KV. An Updated Review on the Genetics of Primary Open Angle Glaucoma. *Int J Mol Sci*. 2015 Dec 4;16(12):28886-911. doi: 10.3390/ijms161226135. Review.
86. Zhou Y, Shuai P, Li X, et al. (2015) Association of SOD2 polymorphisms with primary open angle glaucoma in a Chinese population. *Ophthalmic Genet*. 36(1):43-9.
87. Liu T, Xie L, Ye J, Liu Y, He X. Screening of candidate genes for primary open angle glaucoma. *Mol Vis*. 2012;18:2119-26.
88. Guo Y, Chen X, Zhang H, Li N, Yang X, Cheng W, Zhao K. Association of OPA1 polymorphisms with NTG and HTG: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(8):e42387.
89. Silva CT, Costa NB, Silva KS, et al. Association between primary open angle glaucoma and genetic polymorphisms GSTM1/GSTT1 in patients from Goiânia Central-West Region of Brazil. *Genet Mol Res*. 2014 Oct 31;13(4):8870-5.
90. Stoilova D, Child A, Trifan OC, Crick RP, et al. Localization of a locus (GLC1B) for adult-onset primary open angle glaucoma to the 2cen-q13 region. *Genomics*. 1996 Aug 15;36(1):142-50.
91. Samples JR, Kitsos G, Economou-Petersen E, et al. Refining the primary open-angle glaucoma GLC1C region on chromosome 3 by haplotype analysis. *Clin Genet*. 2004 Jan;65(1):40-4.
92. Trifan OC, Traboulsi EI, Stoilova D, et al. A third locus (GLC1D) for adult-onset primary open-angle glaucoma maps to the 8q23 region. *Am J Ophthalmol*. 1998 Jul;126(1):17-28.

93. Sarfarazi M, Child A, Stoilova D, Brice G, Desai T, Trifan OC, Poinoosawmy D, Crick RP. Localization of the fourth locus (GLC1E) for adult-onset primary open-angle glaucoma to the 10p15-p14 region. *Am J Hum Genet.* 1998 Mar;62(3):641-52.
94. Pasutto F, Keller KE, Weisschuh N, et al. Variants in ASB10 are associated with open-angle glaucoma. *Hum Mol Genet.* 2012 Mar 15;21(6):1336-49.
95. Monemi S, Spaeth G, DaSilva A, et al. Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. *Hum Mol Genet.* 2005 Mar 15;14(6):725-33.
96. Suriyapperuma SP, Child A, Desai T, et al. A new locus (GLC1H) for adult-onset primary open-angle glaucoma maps to the 2p15-p16 region. *Arch Ophthalmol.* 2007 Jan;125(1):86-92.
97. Wiggs JL, Allingham RR, Hossain A, Kern J, Auguste J, DelBono EA, Broome B, Graham FL, Hauser M, Pericak-Vance M, Haines JL. Genome-wide scan for adult onset primary open angle glaucoma. *Hum Mol Genet.* 2000 Apr 12;9(7):1109-17.
98. Wiggs JL, Lynch S, Ynagi G, et al. A genomewide scan identifies novel early-onset primary open-angle glaucoma loci on 9q22 and 20p12. *Am J Hum Genet.* 2004 Jun;74(6):1314-20.
99. Wang DY, Fan BJ, Chua JK, et al. A genome-wide scan maps a novel juvenile-onset primary open-angle glaucoma locus to 15q. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 Dec;47(12):5315-21.
100. Pasutto F, Matsumoto T, Mardin CY, et al. Heterozygous NTF4 mutations impairing neurotrophin-4 signaling in patients with primary open-angle glaucoma. *Am J Hum Genet.* 2009 Oct;85(4):447-56.
101. Kawase K, Allingham RR, Meguro A, et al. Confirmation of TBK1 duplication in normal tension glaucoma. *Exp Eye Res.* 2012 Mar;96(1):178-80.
102. Mannervik B, Alin P, Guthenberg C, et al. Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1985;82(21):7202-7206.
103. Yu C, Hequn C, Longfei L, et al. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms are associated with increased bladder cancer risk: Evidence from updated meta-analysis. *Oncotarget.* 2017 Jan 10;8(2):3246-3258.

104. Malik SS, Kazmi Z, Fatima I, et al. Genetic Polymorphism of GSTM1 and GSTT1 and Risk of Prostatic Carcinoma - a Meta-analysis of 7,281 Prostate Cancer Cases and 9,082 Healthy Controls. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(5):2629-35.
105. Li F, Li S, Chang H, et al. Quantitative assessment of the association between the GSTM1-null genotype and the risk of childhood asthma. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2013 Sep;17(9):656-61.
106. Moasser E, Kazemi-Nezhad SR, Saadat M, et al. Study of the association between glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1, GSTP1) polymorphisms with type II diabetes mellitus in southern of Iran. *Mol Biol Rep.* 2012 Dec;39(12):10187-92.
107. Saccà SC, Pulliero A, Izzotti A. The dysfunction of the trabecular meshwork during glaucoma course. *J Cell Physiol.* 2015 Mar;230(3):510-25.
108. Chrysostomou V, Rezania F, Trounce IA, Crowston JG. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Curr Opin Pharmacol.* 2013 Feb;13(1):12-5.
109. Benoist d'Azy C, Pereira B, Chiambaretta F, et al. Oxidative and Anti-Oxidative Stress Markers in Chronic Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016 Dec 1;11(12):e0166915.
110. Barbosa AM, Frare AB, Costa NB, et al. GSTM1 polymorphism in patients with primary open-angle glaucoma. *Genet Mol Res.* 2012 Sep 13;11(3):3256-62.
111. Rocha AV, Talbot T, Magalhães da Silva T, Almeida MC, Menezes CA, Di Pietro G, Rios-Santos F. Is the GSTM1 null polymorphism a risk factor in primary open angle glaucoma? *Mol Vis.* 2011;17:1679-86.
112. Unal M, Güven M, Devranoğlu K, et al. Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a Turkish population. *Br J Ophthalmol.* 2007 Apr;91(4):527-30.
113. Abu-Amero KK, Morales J, Mohamed GH, Osman MN, Bosley TM. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Arab glaucoma patients. *Mol Vis.* 2008 Mar 4;14:425-30.
114. Jansson M, Rada A, Tomic L, et al. Analysis of the Glutathione S-transferase M1 gene using pyrosequencing and multiplex PCR--no evidence of association to glaucoma. *Exp Eye Res.* 2003 Aug;77(2):239-43.
115. Izzotti A, Saccà SC. Glutathione S-transferase M1 and its implications in glaucoma pathogenesis: a controversial matter. *Exp Eye Res.* 2004 Jul;79(1):141-2.

116. Lu Y, Shi Y, Yin J, et al. Are glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1) associated with primary open angle glaucoma? A meta-analysis. *Gene*. 2013 Sep 15;527(1):311-5.
117. Rice-Evans CA, Gopinathan V. Oxygen toxicity, free radicals and antioxidants in human disease: biochemical implications in atherosclerosis and the problems of premature neonates. *Essays Biochem*. 1995;29:39-63.
118. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*. 1969 Nov 25;244(22):6049-55.
119. Wan XS, Devalaraja MN, St Clair DK. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene. *DNA Cell Biol*. 1994 Nov;13(11):1127-36.
120. Rosenblum JS, Gilula NB, Lerner RA. On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Apr 30;93(9):4471-3.
121. Sutton A, Imbert A, Igoudjil A, et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*. 2005 May;15(5):311-9.
122. Nomiya T, Tanaka Y, Piao L, et al. The polymorphism of manganese superoxide dismutase is associated with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *J Hum Genet*. 2003;48(3):138-41.
123. Hiroi S, Harada H, Nishi H, et al. Polymorphisms in the SOD2 and HLA-DRB1 genes are associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy in Japanese. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 Aug 2;261(2):332-9.
124. Wang LI, Miller DP, Sai Y, et al. Manganese superoxide dismutase alanine-to-valine polymorphism at codon 16 and lung cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 2001 Dec 5;93(23):1818-21.
125. Abu-Amero KK, Morales J, Bosley TM. Mitochondrial abnormalities in patients with primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006 Jun;47(6):2533-41.
126. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, et al. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. *Am J Ophthalmol*. 2004 Jan;137(1):62-9.
127. Zanon-Moreno V, Marco-Ventura P, Lleo-Perez A, et al. Oxidative stress in primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma*. 2008 Jun-Jul;17(4):263-8.

128. Abu-Amero KK, Kondkar AA, Mousa A, et al. Association of Mn-SOD mutation (c.47T > C) with various POAG clinical indices. *Ophthalmic Genet.* 2014 Jun;35(2):85-90.
129. Celojevic D, Nilsson S, Kalaboukhova L, et al. Genetic variation of superoxide dismutases in patients with primary open-angle glaucoma. *Ophthalmic Genet.* 2014 Jun;35(2):79-84.
130. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Hudson G, et al. Inherited mitochondrial optic neuropathies. *J Med Genet.* 2009 Mar;46(3):145-58.
131. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Gorman GS, et al. Multi-system neurological disease is common in patients with OPA1 mutations. *Brain.* 2010 Mar;133(Pt 3):771-86.
132. Olichon A, Guillou E, Delettre C, et al. Mitochondrial dynamics and disease, OPA1. *Biochim Biophys Acta.* 2006 May-Jun;1763(5-6):500-9.
133. Cho DH, Nakamura T, Lipton SA. Mitochondrial dynamics in cell death and neurodegeneration. *Cell Mol Life Sci.* 2010 Oct;67(20):3435-47.
134. Mabuchi F, Tang S, Kashiwagi K, et al. The OPA1 gene polymorphism is associated with normal tension and high tension glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 2007 Jan;143(1):125-130.
135. Yu-Wai-Man P, Stewart JD, Hudson G, et al. OPA1 increases the risk of normal but not high tension glaucoma. *J Med Genet.* 2010 Feb;47(2):120-5.
136. Aung T, Ocaka L, Ebenezer ND, et al. A major marker for normal tension glaucoma: association with polymorphisms in the OPA1 gene. *Hum Genet.* 2002 Jan;110(1):52-6.
137. Liu Y, Schmidt S, Qin X, et al. No association between OPA1 polymorphisms and primary open-angle glaucoma in three different populations. *Mol Vis.* 2007 Nov 26;13:2137-41.
138. Powell BL, Toomes C, Scott S, et al. Polymorphisms in OPA1 are associated with normal tension glaucoma. *Mol Vis.* 2003 Sep 22;9:460-4.
139. Yao W, Jiao X, Hejtmancik JF, Leske MC, et al. Barbados Family Study Group.. Evaluation of the association between OPA1 polymorphisms and primary open-angle glaucoma in Barbados families. *Mol Vis.* 2006 Jun 12;12:649-54.

140. Hill PJ, Stewart GS. The polymerase chain reaction in molecular and microbiology. *Biotechnol Genet Eng Rev.* 1992;10:343-77.
141. Kong GY, Van Bergen NJ, Trounce IA, et al. Mitochondrial dysfunction and glaucoma. *J Glaucoma.* 2009;18(2):93-100.
142. Safa FK, Shahsavari G, Abyaneh RZ. Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms in Iranian patients with glaucoma. *Iran J Basic Med Sci* 17(5): 332, 2014.
143. Rasool HA, Nowier SR, Gheith M. The risk of primary open angle glaucoma and glutathione s transferase M1 and T1 polymorphism among Egyptians. *J Am Sci* 6: 375-381, 2010.
144. Izzotti A, Longobardi M, Cartiglia C, et al. Mitochondrial damage in the trabecular meshwork occurs only in primary open-angle glaucoma and in pseudoexfoliative glaucoma. *PLoS One.* 2011 Jan 20;6(1):e14567.
145. McElnea EM, Quill B, Docherty NG, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and calcium overload in human lamina cribrosa cells from glaucoma donors. *Mol Vis.* 2011;17:1182-91.
146. Borrás T. The Pathway From Genes to Gene Therapy in Glaucoma: A Review of Possibilities for Using Genes as Glaucoma Drugs. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila).* 2017 Jan-Feb;6(1):80-93.
147. Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med.* 2015 May 14;372(20):1887-97.
148. Chen B, Tang L. Protective effects of catalase on retinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Exp Eye Res.* 2011 Nov;93(5):599-606.
149. Jiang W, Tang L, Zeng J, Chen B. Adeno-associated virus mediated SOD gene therapy protects the retinal ganglion cells from chronic intraocular pressure elevation induced injury via attenuating oxidative stress and improving mitochondrial dysfunction in a rat model. *Am J Transl Res.* 2016 Feb 15;8(2):799-810.

