



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Αν. Καθηγήτρια Ευαγγελή Τσιρώνη-Μαλίζου

Διδακτορική Διατριβή

**«Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια σε Έλληνες καυκάσιους πάσχοντες
από διαβήτη τύπου 2, συσχέτιση με τον πολυμορφισμό στο γονίδιο του
αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 (PAI-1)».**

υπό

ΣΟΚΟΛΑΚΗ ΘΩΜΑ

ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΟΥ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2017

© 2017 ΣΟΚΟΛΑΚΗΣ ΘΩΜΑΣ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής
(12η/14-06-2017ΓΣΕΣ):**

- 1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπων)** **Δρ. Δημήτριος Χατζούλης**
Ομ. Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 2^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Ευαγγελή Τσιρώνη-Μαλίζου**
Αναπλ. Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 3^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Γεώργιος Χατζηγεωργίου**
Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 4^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Ασπασία Τσέζου**
Καθηγήτρια Γενετικής Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 5^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Σοφία Ανδρούδη**
Επικ. Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 6^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Ευθύμιος Δαρδιώτης**
Επικ. Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 7^{ος} Εξεταστής** **Δρ. Αλεξάνδρα Μπαργιώτα**
Επικ. Καθηγήτρια Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θέλω να εκφράσω την βαθιά ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα της διδακτορικής μου διατριβής Ομότιμο Καθηγητή Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Δημήτριο Χατζούλη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση του θέματος της έρευνας και την καθοδήγηση του.

Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας κα. Ευαγγελή Τσιρώνη-Μαλίζου, τωρινή διευθύντρια της Οφθαλμολογικής Κλινικής, για την καθοριστική της επίδραση στην ερευνητική μου πορεία, για τον χρόνο που μου αφιέρωσε, παρακολουθώντας, ελέγχοντας και καθοδηγώντας όλα τα στάδια αυτής της έρευνας και συμβάλλοντας στην τελική συγγραφή του κειμένου.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Καθηγητή Νευρολογίας κ. Γεώργιο Χατζηγεωργίου, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για το ενδιαφέρον και την υποστήριξη στην εκπόνηση αυτής της διατριβής.

Επίσης, ολόθερμες ευχαριστίες οφείλω στον Επίκουρο Καθηγητή Νευρολογίας κ. Ευθύμιο Δαρδιώτη για την βοήθεια του στην εκπόνηση του εργαστηριακού μέρους της διατριβής μου όπως και στον κ. Βασίλειο Σιώκα και την Βιοχημικό Παυλίνα Αλμπανίδου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ για την διευθύντρια ΕΣΥ του Π.Γ.Ν Λάρισας, κα Μαρία Κότουλα, την κα Άννα Φωτιάδου και την κα Σοφία Ταχμιτζή για την αμέριστη βοήθειά τους στην συλλογή του υλικού της έρευνας.

Παράλληλα, ευχαριστώ ολόψυχα την κα Κατερίνα Σατήρα, γραμματέα του τμήματος οφθαλμολογίας, για την ευγενική της υποστήριξη.

Τελος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την υποστήριξή τους και την αγάπη τους και να αφιερώσω στον πατέρα μου αυτή την εργασία που ήταν και η αφορμή για να την ξεκινήσω. Δυστυχώς, έφυγε νωρίς πριν βρεθεί μια πιο αποτελεσματική θεραπεία για την ασθένειά του. Με πολλή αγάπη αυτή η διατριβή αφιερώνεται και στην συζυγό μου Εύα Αττάρτ και στα δύο νέα μέλη της οικογένειάς μας που περιμένουμε σύντομα.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ:

Επίθετο: Σοκολάκης
Όνομα: Θωμάς
Ημ. Γεν.: 22 Μαρτίου 1976 Θεσσαλονίκη
e-mail: tsokolakis@gmail.com

ΠΡΟΣΟΝΤΑ:

12/06/2000 Δίπλωμα Ιατρικής από το Πανεπιστήμιο, UPJSSafarikKosice Slovakiaόπου μου απονεμήθηκε ο τίτλος MedicalUniversityDoctor (**MUDr**).

23/09/2002 Διαπανεπιστημιακό Κέντρο Αναγνώρισης Τίτλων Σπουδών της Αλλοδαπής (ΔΙ.ΚΑ.Τ.Σ.Α. νυν ΔΟΑΤΑΠ). Αναγνώριση τίτλου σπουδών Doctor of Medicine ως ισότιμος και αντίστοιχος προς τα χορηγούμενα πτυχία απο τα τμήματα ιατρικής των σχολών επιστημών υγείας των Ελληνικών Ανωτάτων Εκπαιδευτικών.

17/07/2013 Χορήγηση τίτλου Ιατρικής ειδικότητας Οφθαλμολογίας.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ:

11/11/2002 – 11/02/2003 Ειδικότητα στο Αχιλλοπούλειο νοσοκομείο του Βόλου στην παθολογία, καρδιολογία και χειρουργική.

12/02/2003 – 12/02/2004 Αγροτικός ιατρός στο Κέντρο Υγείας Αργαλαστής Πηλιου Νομού Μαγνησίας.

16/06/2004 – 16/06/2005 Σμηνίας με ειδικότητα υγειονομικόςιατρός στην 111 πτέρυγα μάχης.

20/09/2005 – 30/11/2006 Επιστημονικός συνεργάτης στο νοσοκομείο Γ.Γεννηματάς Αθηνών.

02/12/2008-02/09/2012 Ειδικότητα στην οφθαλμολογία στο Γενικό Νοσοκομείο Μελισσίων Α.Φλεμινγκ.

02/09/2012-02/09/2013 Παράταση ειδικότητας στην οφθαλμολογία στο Γενικό Νοσοκομείο Μελισσίων Α.Φλεμινγκ.

15/12/2013-02/02/2016 Ιδιωτικό ιατρείο στο Βόλο και συνεργάτης ιδιωτικών κλινικών στην Αθήνα.

10/02/2016-Σήμερα Επιμελητής στο πανεπιστημιακό νοσοκομείο της Λιμόζ στη Γαλλία.

ΕΡΕΥΝΑ-ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ:

1. Siokas V, Dardiotis E, Sokolakis T, Kotoula M, Tachmitzi SV, Chatzoulis DZ, Almpanidou P, Stefanidis I, Hadjigeorgiou GM, Tsironi EE. Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 Tag Single-Nucleotide Polymorphisms in Patients with Diabetes Mellitus Type 2 and Diabetic Retinopathy. *Curr Eye Res.* 2017 Jul;42(7):1048-1053.
2. SOKOLAKIS, T., TSIRONI, E., DARDIOTIS, E., CHATZOULIS, E. and ZINZARAS, E. (2012), Diabetic retinopathy in Greek Caucasian type 2 diabetic patients, relationship with polymorphism in the plasminogen activator inhibitor 1 and 2 genes. *Acta Ophthalmologica, Special Issue: Abstracts from the 2012 European Association for Vision and Eye Research Conference*
3. Συμμετοχή στη μελέτη ADVICE (Novartis) απο τον Σεπτέμβριο του 2013.
4. 44^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο Μάιος 2010: παρουσίαση εργασιών με τίτλο: «ενδοουλοειδική έγχυση anti-VEGF παραγόντων σε διαβητικούς ασθενείς πριν από την επέμβαση του καταρράκτη» και «παρουσίαση περιστατικών του νοσοκομείου Α.Φλεμινγκ πριν και μετά την έγχυση anti- VEGF παραγόντων».
5. EVER(European Association for Vision and Eye Research) 2010: δημοσίευση εργασίας στο *actaophthalmologica* με τίτλο «ενδοουλοειδική έγχυση anti-VEGF παραγόντων σε διαβητικούς ασθενείς πριν από την επέμβαση του καταρράκτη».
6. *British Medical Journal* 2014 δημοσίευση εργασίας με τίτλο « Έγχυση anti-VEGF Παραγόντων σε ασθενή με Waldenstrom Μακροσφαιριναιμία με πρωτοεμφανιζόμενη εκδήλωση της νόσου από τους οφθαλμούς.

«Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια σε Έλληνες καυκάσιους πάσχοντες από διαβήτη τύπου 2, συσχέτιση με τον πολυμορφισμό στο γονίδιο του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 (PAI-1)»

ΣΟΚΟΛΑΚΗΣ ΘΩΜΑΣ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2017

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

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

Περίληψη

Ιστορικό: Υπάρχουν συσσωρεύμενα στοιχεία για την ύπαρξη γενετικής ευαισθησίας στην ανάπτυξη διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας (ΔΑ). Ο ρόλος του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 (PAI-1) στον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ παραμένει αμφιλεγόμενος.

Σκοπός: Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε για να διερευνήσει την πιθανή επίδραση των πολυμορφισμών της περιοχής του γονιδίου PAI-1 στον κίνδυνο ανάπτυξης της ΔΑ και στον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ πρώιμα έναντι καθυστερημένα κατά τη διάρκεια του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2).

Μέθοδοι: Συνολικά 138 ασθενείς με ΔΑ, 107 ασθενείς με ΣΔ2 χωρίς ΔΑ και 315 υγιείς μάρτυρες προσλήφθηκαν. Για να καλυφθεί η πλειοψηφία της γενετικής μεταβλητότητας στην εκτεταμένη περιοχή του γονιδίου PAI-1, πέντε πολυμορφισμοί μονού νουκλεοτιδίου (single-nucleotide polymorphisms SNPs) από το HarMap χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση ανά ζεύγη και $r^2 > 0,8$ και μία μικρή συχνότητα αλληλόμορφων (minor allele frequency MAF) $> 0,05$ εντοπίστηκαν. Χρησιμοποιώντας αναλύσεις λογιστικής παλινδρόμησης, ετικέτες SNPs και απλότυποι δοκιμάστηκαν για ενώσεις με κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ και με κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ νωρίς ή αργά κατά τη διάρκεια του ΣΔ2. Ο γενικευμένος λόγος πιθανότητας (generalized odds ratio ORG) υπολογίστηκε για την εκτίμηση της επίδρασης μεταλλακτικού φορτίου στην ανάπτυξη ΔΑ μεταξύ όλων των συμμετεχόντων. Διενεργήθηκαν διορθώσεις για πολλαπλές συγκρίσεις (p -τιμή $< 0,01$).

Αποτελέσματα: Ένα σημαντικό αποτέλεσμα του rs2070682 στον κίνδυνο πρόωρης έναρξης ΔΑ βρέθηκε στο συνκυρίαρχο μοντέλο κληρονομικότητας [αναλογία πιθανότητας, OR (95% διάστημα εμπιστοσύνης, CI): 5.04 (1.47-17.28), $p = 0.018$]. Ωστόσο, αυτή η σχέση οριακά δεν επιβίωσε πολλαπλών διορθώσεων και δοκιμών. Δεν αποκαλύφθηκε καμία άλλη σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επισημάνσεων-SNPs και των απλοτύπων PAI-1. Επιπλέον, δεν βρέθηκε σημαντική επίδραση του μεταλλακτικού φορτίου της ετικέτας SNPs στον PAI-1 στον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ στη διάρκεια του ΣΔ2.

Συμπεράσματα: Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη δεν παρέχει καμία ισχυρή απόδειξη ότι οι παραλλαγές του γονιδίου PAI-1 εμπλέκονται στον κίνδυνο ανάπτυξης της ΔΑ στην ανάπτυξη της ΔΑ κατά τη διάρκεια του ΣΔ2.

Abstract

Background: There is accumulating evidence for genetic susceptibility to the development of diabetic retinopathy (DR). The role of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in DR risk remains controversial.

Objective: The present study was designed to investigate possible influence of PAI-1 gene region polymorphisms on the risk of DR and on the risk of developing DR early vs late in the course of type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Methods: A total of 138 patients with DR, 107 patients with T2DM without DR, and 315 healthy controls were recruited. To cover the majority of the genetic variability across the extended region of PAI-1 gene, five tag single-nucleotide polymorphisms (SNPs) from the HapMap using a pairwise approach and an $r^2 \geq 0.8$ and a minor allele frequency (MAF) of >0.05 were identified. Using logistic regression analyses, tag SNPs and haplotypes were tested for associations with DR risk and risk of DR development early or late in the course of T2DM. The generalized odds ratio (OR_G) was calculated to estimate the mutational load effect on DR development among all participants. Corrections for multiple comparisons were carried out (p -value < 0.01).

Results: A significant effect of rs2070682 on the risk of early DR onset was found in the codominant model of inheritance [odds ratio, OR (95% confidence interval, CI): 5.04 (1.47–17.28), $p = 0.018$]. However, this association marginally did not survive multiple testing corrections. No other significant association between PAI-1 tag-SNPs and haplotypes was revealed. Furthermore, no significant mutational load effect of PAI-1 tag SNPs on the risk of DR development in T2DM course was found.

Conclusions: In conclusion, the present study does not provide any strong evidence that *PAI-1* gene variants are implicated in the risk of DR or the development of DR during T2DM course.

Πίνακας Περιεχομένων

Κεφάλαιο 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1.1 ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ.....	14
1.2 ΟΡΙΣΜΟΣ	14
1.3 ΜΟΡΦΕΣ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ.....	14
1.4 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ.....	18
1.5 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ	19
1.6 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ	20
1.7 ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ.....	20
1.8 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ	25
Κεφάλαιο 2 ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ	
2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	28
2.2 ΟΡΙΣΜΟΣ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	30
2.3 ΜΟΡΦΕΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ.....	34
2.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ	35
2.5 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ	44
2.6 ΑΙΜΟΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ	45
2.7 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ	47
2.8 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ	49
2.9 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ	50
2.10 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ	51
Κεφάλαιο 3 ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟ	
3.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ	56
3.2 ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟ	56
3.3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ	58
3.4 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ	60
3.5 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ PAI-1.....	64
3.6 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΟΥ PAI-1.....	65
Κεφάλαιο 4 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
4.1 ΣΚΟΠΟΣ	68

Κεφάλαιο 5 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	
5.1 ΥΛΙΚΑ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	69
5.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	70
5.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	77
5.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	79
Κεφάλαιο 6 ΣΥΝΟΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	81
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ -ΙΣΤΟΓΡΑΦΙΑ.....	89

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η συχνότερη μικροαγγειακή επιπλοκή του σακχαρώδη διαβήτη είναι η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (1).

Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια αποτελεί σημαντικό κοινωνικό πρόβλημα, καθώς είναι ήδη παρούσα σε διαβητικούς ασθενείς που έχουν εμφανίσει τη νόσο εδώ και 20 έτη και συγκεκριμένα, στο 99% των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και περίπου στο 80% των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (2). Επιπρόσθετα, με την αλλαγή των διατροφικών συνηθειών και τη κατανάλωση επιβλαβών τροφών από την παιδική ηλικία, ο σακχαρώδης διαβήτης προσβάλλει όλο και μικρότερες ηλικίες, με αποτέλεσμα η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια να αποτελεί σήμερα την κύρια αιτία τύφλωσης στον εργασιακά ενεργό πληθυσμό στο δυτικό κόσμο (3).

Ο περιορισμός της βαρύτητας της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας προϋποθέτει αποτελεσματικές θεραπείες, που με τη σειρά τους εισάγονται και εφαρμόζονται χάρη στην καλύτερη κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών της νόσου. Όμως, παρά την ανάπτυξη μεθόδων για την πρόληψη και τη καταπολέμηση της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, ο αριθμός των ασθενών δεν έχει περιοριστεί και για το λόγο αυτό επιβάλλεται επινόηση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή προσπαθεί να συμβάλλει στις γενετικές μελέτες που αφορούν στη νόσο, μελετώντας το συσχετισμό του πολυμορφισμού του γονιδίου του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 (PAI-1) και της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

ΟΡΙΣΜΟΣ

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) είναι μία χρόνια νόσος και περιλαμβάνει μία ομάδα μεταβολικών νόσων με κοινό χαρακτηριστικό την αύξηση της γλυκόζης στο αίμα (υπεργλυκαιμία), που προκύπτει είτε από ελαττωματική έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας, είτε από διαταραγμένη δράση της ινσουλίνης στα όργανα-στόχους με αύξηση της ηπατικής παραγωγής της γλυκόζης, είτε σε συνδυασμό των δύο, με αποτέλεσμα την απόλυτη ή σχετική έλλειψη της (4).

ΜΟΡΦΕΣ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Οι περισσότερες μορφές του ΣΔ μπορούν να ταξινομηθούν κυρίως σε δύο κατηγορίες: στο διαβήτη τύπου 1 και στο διαβήτη τύπου 2. (Πίνακας 1). Ο τύπος του διαβήτη συχνά δεν μπορεί να καθοριστεί εύκολα, επειδή η ταυτοποίηση γίνεται με βάση κλινικά κριτήρια (ιστορικό, φυσική εξέταση) και όχι με παθοφυσιολογικά κριτήρια (5).

➤ **Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1**

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔ1) προκαλείται από την προοδευτική καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος, με αυτοάνοσο μηχανισμό, που οδηγεί συνήθως σε απόλυτη έλλειψη ινσουλίνης(6). Ο ΣΔ1 περιλαμβάνει περίπου το 5-10% όλων των μορφών διαβήτη, ενώ παλιότερα ονομάζονταν νεανικός σακχαρώδης διαβήτης ή ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης.

Τα συμπτώματα του ΣΔ1 συνήθως εμφανίζονται και εξελίσσονται σε σύντομο χρονικό διάστημα και τις περισσότερες φορές είναι θορυβώδη. Τα κλασικά συμπτώματα περιλαμβάνουν πολυδιψία, πολουρία, πολυφαγία, απώλεια βάρους, καταβολή δυνάμεων και αφυδάτωση. Σε περίπτωση που η νόσος δεν διαγνωσθεί έγκαιρα και δεν αντιμετωπισθεί κατάλληλα, με τη χορήγηση ινσουλίνης, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι η πρόκληση του διαβητικού κετοοξεωτικού κώματος, μια κατάσταση που είναι απειλητική για τη ζωή.

Στα αρχικά στάδια του ΣΔ1 εμφανίζεται μεταγευματική υπεργλυκαιμία, γιατί η μειωμένη ποσότητα ινσουλίνης που παράγεται από το πάγκρεας δεν μπορεί να εμποδίσει την παραγωγή σακχάρου από το ήπαρ (φυσιολογικά μετά τη λήψη τροφής δεν παράγει γλυκόζη). Με την εξέλιξη της καταστροφής των β-κυττάρων και άρα με την ολοένα και μεγαλύτερη ένδεια ινσουλίνης, παρουσιάζεται υπεργλυκαιμία ακόμα και σε κατάσταση νηστείας. Αυτό συμβαίνει γιατί αφού δεν υπάρχει ινσουλίνη, το σάκχαρο παραμένει στην κυκλοφορία και συγχρόνως, λόγω της έλλειψης ινσουλίνης, δεν καταστέλλεται η παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ (7).

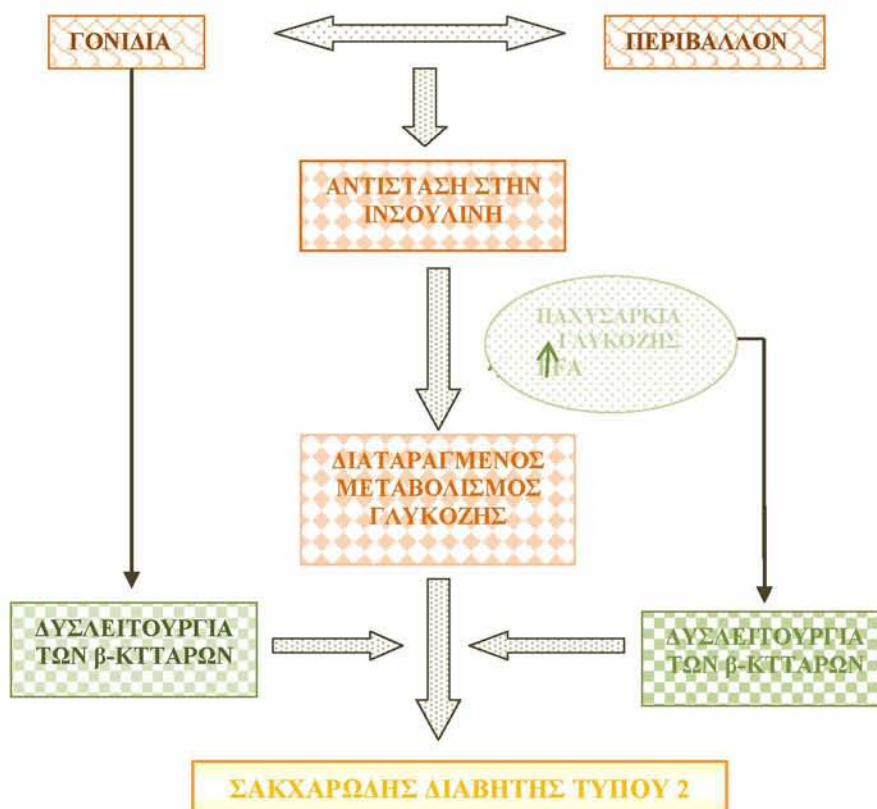
ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Αιτιολογική ταξινόμηση ΣΔ

<p>I. ΣΔ τύπου 1 (καταστροφή των β-κυττάρων, που συνήθως οδηγεί σε πλήρη ανεπάρκεια ινσουλίνης)</p> <p><i>IA. Απαικώς</i> <i>IB. Ιδιοπαθής</i></p> <p>II. ΣΔ τύπου 2 (κατακείμενος από κυρίαρχη ινσουλινοαντίσταση με σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης μέχρι κυρίαρχη διαταραχή στην έκκριση ινσουλίνης με συνυφισμένη ινσουλινοαντίσταση)</p> <p>III. Ειδικό τύπο ΣΔ <i>III.A. Γενετικές λειτουργικές διαταραχές του β-κυττάρου</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Χρωμόσωμα 12, HNF-1α (MODY 3) 2. Χρωμόσωμα 7, ανεπάρκεια γλυκοκινάσης (MODY 2) 3. Χρωμόσωμα 20, HNF-4α (MODY 1) 4. Χρωμόσωμα 13, προκαρσιόγος ινσουλίνης (IPF-1, MODY 4) 5. Χρωμόσωμα 17, HNF-1β (MODY 5) 6. Χρωμόσωμα 2, NeuroD1 (MODY 6) 7. Μιτοχονδριακό DNA 8. Άλλες διαταραχές <p><i>III.B. Γενετικές διαταραχές δράσης της ινσουλίνης</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Αντίσταση στην ινσουλίνη τύπου A 2. Λέπρος 3. Σύνδρομο Rabson-Mendenhall 4. Ακρομετροφικός διαβήτης 5. Άλλες διαταραχές <p><i>III.C. Παθήσεις εξωκρινούς μύκρας παγκρέατος</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Παγκρεατίτιδα 2. Τραύμα/παγκρεατεκτομή 3. Νεοπλασία 4. Κυστική ίνωση 5. Αιμοχρωμάτωση 6. Ινσουλινογενετική ανεπάρκεια 7. Άλλες παθήσεις 	<p><i>III.D. Ενδοκρινολογικές</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ακρομεγαλία 2. Σύνδρομο Cushing 3. Γλουκοκινόμα 4. Φαιοχρωμοκύττωμα 5. Υπερθυρεοειδισμός 6. Σοματοστατίνωμα 7. Αλδοστερόνωμα 8. Άλλες παθήσεις <p><i>III.E. Φαρμακευτικός ή χημικός ΣΔ</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Vacor 2. Πενταμιδίνη 3. Νικοτινικό οξύ 4. Γλυκοκορτικοειδή 5. Θυροειδικές ορμόνες 6. Διαξοξίδη 7. β-αδρενεργικοί αγωνιστές 8. Θειαζίδες 9. Dilantin 10. α-ιντερφερόνη 11. Άλλοι περιόντες <p><i>III.F. Αιμοφόροι</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Συγγενής ερυθρά 2. Κοπταρομεγαλιός 3. Άλλες <p><i>III.G. Σπάνιες μορφές αυτοάνοσου ΣΔ</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Σύνδρομο "stiff-man" 2. Αντισώματα έναντι του υποδοχέα της ινσουλίνης 3. Άλλες μορφές <p><i>III.H. Άλλα γενετικά σύνδρομα σχετιζόμενα με ΣΔ</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Σύνδρομο Down 2. Σύνδρομο Klinefelter 3. Σύνδρομο Turner 4. Σύνδρομο Wolfram 5. Αποξίμ Friedreich 6. Χορεία Huntington 7. Σύνδρομο Laurence-Moon-Biedl 8. Μυοτονική δυστροφία 9. Πορφυρία 10. Σύνδρομο Prader-Willi 11. Άλλα σύνδρομα <p>IV. ΣΔ κήσης</p>
---	--

➤ Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2) είναι ο συχνότερος τύπος και χαρακτηρίζεται από τη συνύπαρξη διαταραχής της έκκρισης και της δράσης της ινσουλίνης(8). Ο ΣΔ2 αποτελεί μία πολυπαραγοντική νόσο και η παθογένεση απεικονίζεται συνοπτικά στο Σχήμα 1(64). Παλιότερα ονομάζονταν και σακχαρώδης διαβήτης των ενηλίκων ή μη ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης.

Σε αντίθεση με το ΣΔ1, απαντάται κυρίως σε παχύσαρκους ενήλικες, χωρίς όμως να αποκλείονται άτομα ισχνά ή νεαρής ηλικίας. Τα επίπεδα της ινσουλίνης είναι φυσιολογικά υψηλά και η εμφάνιση του αποδίδεται κυρίως σε κληρονομικότητα. Το πάγκρεας παράγει ινσουλίνη, η οποία δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά από τον οργανισμό. Τελικά και η μορφή αυτή του διαβήτη, μπορεί να καταλήξει σε αδυναμία του σώματος να χρησιμοποιήσει τη γλυκόζη σαν την κύρια πηγή ενέργειας.



ΣΧΗΜΑ 1 Παθογένεση του ΣΔ2

Στη πρόκληση ινσουλινοαντίστασης συμβάλλουν η γενετική προδιάθεση, η ηλικία, η παχυσαρκία και σταδιακά η ίδια η υπεργλυκαιμία, η οποία συνοδεύεται από εκτεταμένη συγκέντρωση λίπους, δυσλιπιδαιμία και υπέρταση (93). Άλλα συνοδά ευρήματα

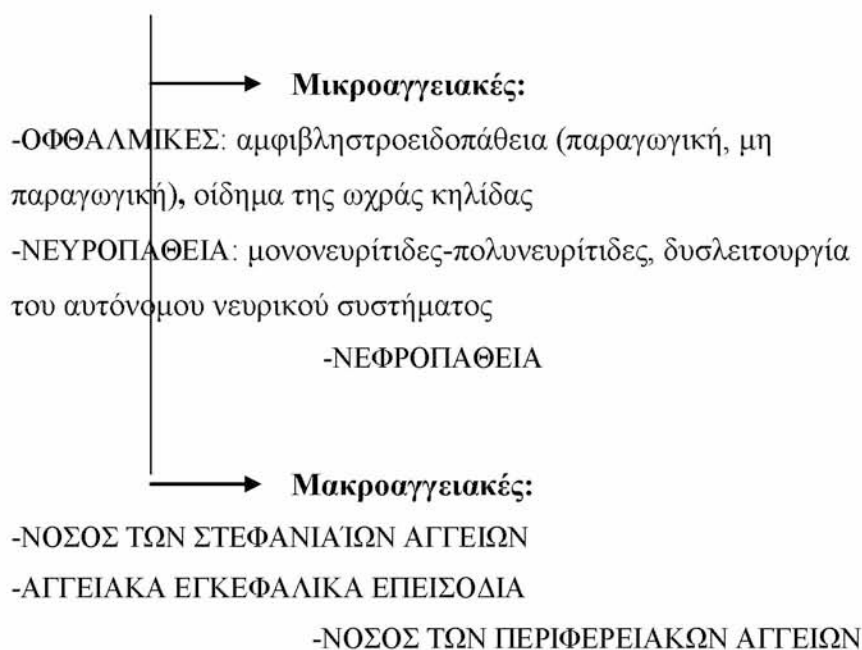
αποτελούν η διαταραγμένη ινωδόλυση, η αυξημένη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων, η αγγειακή φλεγμονή, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τελικά πρόωρη αθηροσκλήρωση (94).

Η κληρονομικότητα είναι ιδιαίτερα σημαντική, αφού συγγενείς 1^{ου} βαθμού ατόμων με ΣΔ2, εμφανίζουν τη νόσο σε ποσοστό 40%, με δεδομένο ως μέσο όρο επιβίωσης τα 80 έτη. Σε μελέτες με μονοζυγωτικά δίδυμα βρέθηκε ότι η πιθανότητα αμφοτέρης νόσησης πλησιάζει το 80% αν το πρώτο εμφανίσει ΣΔ2 (95).

Τα συμπτώματα στο ΣΔ2 εισβάλλουν σταδιακά και δεν είναι τόσο θορυβώδη, όπως εκείνα του ΣΔ1. Όταν πλέον η ποσότητα της ινσουλίνης που κυκλοφορεί στον οργανισμό καταστεί ανεπαρκής, τότε αρχίζουν οι κλινικές εκδηλώσεις του ΣΔ2. Τα αρχικά συμπτώματα περιλαμβάνουν αδυναμία, κόπωση, αδιαθεσία, συχνουρία (ειδικά το βράδυ), πολυδιψία, συχνές λοιμώξεις, διαταραχές της όρασης, λόγω δυσκολιών στην προσαρμογή ή θόλωση του κρυσταλοειδούς φακού (96).

Οι χρόνιες επιπλοκές του ΣΔ2 διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες (14):

1) Αγγειακές



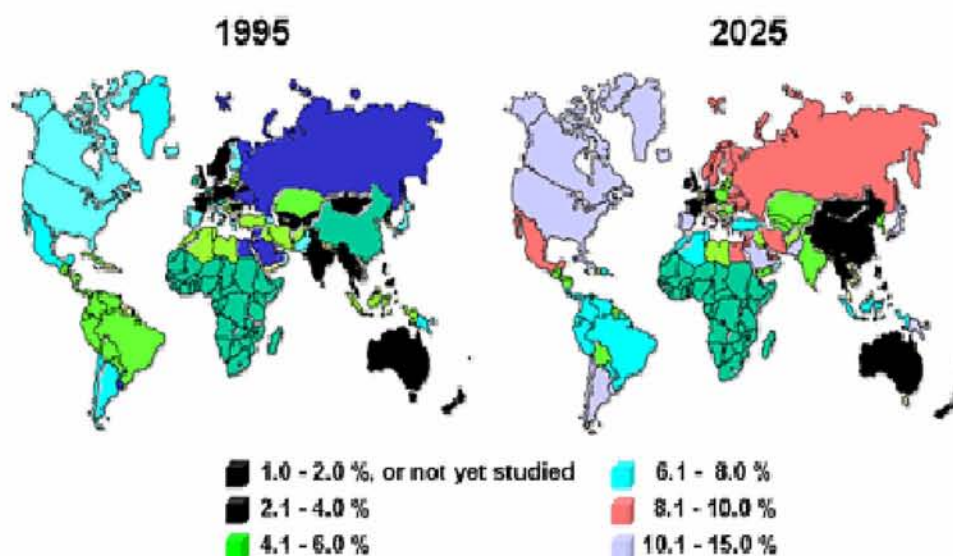
2) Μη αγγειακές

- ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ: διάρροια.
- ΟΥΡΟΠΟΙΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ: διαταραχές κένωσης της ουροδόχου κύστης.
- ΟΦΘΑΛΜΙΚΕΣ: καταρράκτης, γλαύκωμα.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) έχει χαρακτηρίσει το ΣΔ ως παγκόσμια επιδημία. Το 1998 περισσότεροι από 143 εκατομμύρια άνθρωποι, παγκοσμίως, είχαν ΣΔ2, ενώ το 2025 αναμένεται να εμφανίσουν τη νόσο 300 εκατομμύρια άνθρωποι (Εικόνα 1). Η νόσος έχει υψηλότερο επιπολασμό στο δυτικό κόσμο (ιδιαίτερα ο ΣΔ2) και αυτό αποτελεί μια σαφή ένδειξη για τη συσχέτιση της νόσου με το σύγχρονο τρόπο ζωής, τις διατροφικές συνήθειες και την έλλειψη σωματικής άσκησης(10) και (11).

Σύμφωνα με μία πρόσφατη μελέτη στην οποία εκτιμήθηκε ο αριθμός των ατόμων με ΣΔ, ηλικίας 20-79 ετών στο σύνολο 216 χωρών, αναφέρθηκε ότι για το 2010 ο επιπολασμός του ΣΔ είναι της τάξης του 6,4% επηρεάζοντας 285 εκατομμύρια ενήλικες, ενώ ο αριθμός αυτός υπολογίστηκε ότι τα αυξηθεί στο 7,7% μέχρι το τέλος του 2030 (101). Επίσης, αναμένεται αύξηση κατά 69% των ασθενών με ΣΔ στις αναπτυγμένες χώρες και 20% στις αναπτυσόμενες. Όμως, ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι παραμένει υψηλό το ποσοστό των ατόμων με ΣΔ που δε γνωρίζουν ότι πάσχουν από τη νόσο (103).



ΕΙΚΟΝΑ 1. Πρόβλεψη εξάπλωσης ΣΔ

Η συχνότητα του σακχαρώδους διαβήτη στην Ελλάδα είναι της τάξης του 7%-8% και από το σύνολο των ατόμων με διαβήτη, περίπου το 95% έχει ΣΔ2. Η Ελλάδα χαρακτηρίζεται από τα χαμηλότερα ποσοστά ΣΔ1 στην Ευρώπη, όχι όμως και για το ΣΔ2 (102).

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Η διαδικασία της διάγνωσης του ΣΔ ξεκινά με τη λήψη του ατομικού, αλλά και του οικογενειακού ιατρικού ιστορικού, με την παρατήρηση των συμπτωμάτων, της κλινικής εικόνας του ατόμου και ολοκληρώνεται με την αξιολόγηση των εργαστηριακών ευρημάτων (Πίνακας 2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.Εργαστηριακές εξετάσεις για τη διάγνωση του ΣΔ

-σακχαρουρία (ύπαρξη σακχάρου στα ούρα)
-κετονουρία (ύπαρξη κετονικών σωμάτων στα ούρα)
-υπεργλυκαιμία (μέτρηση σακχάρου του αίματος μετά από μικρής διάρκειας νηστεία και μετά από γεύμα)
-ινσουλίνης στο αίμα (πριν από λήψη τροφής)

Άλλες εργαστηριακές μέθοδοι για την ανίχνευση του ΣΔ είναι η δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη, η ανίχνευση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) και ο προσδιορισμός του C – πεπτιδίου(9).

Η διάγνωση του σακχαρώδους διαβήτη τίθεται όταν:

- Η τιμή του σακχάρου αίματος σε οποιαδήποτε στιγμή της ημέρας είναι $\geq 11,1$ mmol/l (200 mg/dl), με ή χωρίς συμπτώματα διαβήτη.
- Η τιμή του σακχάρου αίματος νηστείας (μη λήψη θερμίδων για διάρκεια τουλάχιστον 8 ωρών) είναι ≥ 7 mmol/l (126 mg/dl).
- Η τιμή του σακχάρου αίματος είναι $\geq 11,1$ mmol/l (200 mg/dl) 2 ώρες μετά από τη λήψη 75 γρ γλυκόζης κατά την εκτέλεση δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη.

Όταν απουσιάζουν τα κλασικά συμπτώματα της υπεργλυκαιμίας, αυτά τα κριτήρια πρέπει να επιβεβαιώνονται με επανάληψη της μέτρησης της γλυκόζης σε μια διαφορετική ημέρα, ενώ για τη διάγνωση του διαβήτη της κύησης ισχύουν διαφορετικά διαγνωστικά κριτήρια.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΣΑΚΧΑΡΩΔΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΗ

Οι κύριοι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση του σακχαρώδους διαβήτη σε ενήλικες είναι:

- Δείκτης μάζας σώματος $\geq 30 \text{ kg/m}^2$
- Καθιστική ζωή
- Συγγενείς πρώτου βαθμού με διαβήτη
- Γυναίκες με ιστορικό γέννησης τέκνου $> 4 \text{ kg}$
- Γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών
- Ιστορικό διαταραγμένης γλυκόζης νηστείας ή/και διαταραγμένης (παθολογικής) ανοχής στη γλυκόζη
- Υπέρταση (αρτηριακή πίεση $\geq 140/90 \text{ mmHg}$) ή ιστορικό λήψης αντιυπερτασικών φαρμάκων
- HDL $< 35 \text{ mg/dl}$ ή τριγλυκερίδια νηστείας $> 250 \text{ mg/dl}$
- Καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη (σοβαρού βαθμού παχυσαρκία, μελανίζουσα ακάνθωση)
- Ιστορικό καρδιαγγειακού επεισοδίου

Όταν οι ανωτέρω παράγοντες απουσιάζουν, ο προσυμπτωματικός έλεγχος για τη διάγνωση του διαβήτη συνιστάται να αρχίζει σε ηλικία ≥ 45 ετών. Όταν οι τιμές της γλυκόζης είναι στα φυσιολογικά όρια, συνιστάται επανέλεγχος σε άτομα < 45 ετών με αυξημένο σωματικό βάρος ή με άλλον παράγοντα κινδύνου για ΣΔ.

ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Ο ΣΔ κατατάσσεται στην τέταρτη πιο σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας στον κόσμο. Οι επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη διακρίνονται σε οξείες και σε χρόνιες(13).

➤ **Οξείες**

Μπορούν να συμβούν σε οποιοδήποτε σημείο της πορείας του ΣΔ και απαιτούν άμεση αντιμετώπιση. Οι κυριότερες είναι:

1. Διαβητική κετοξέωση

Η διαβητική κετοξέωση είναι μία επείγουσα κατάσταση που μπορεί να συμβεί σε ασθενείς με πλήρη ή σχεδόν πλήρη έλλειψη ινσουλίνης. Μπορεί να αποτελέσει και την πρώτη εκδήλωση του ΣΔ1, όταν οι ανάγκες του οργανισμού σε ινσουλίνη ξαφνικά δεν μπορούν να καλυφθούν, επειδή αυξήθηκαν απότομα (π.χ. όταν υπάρχει μια λοίμωξη). Στη διαβητική κετοξέωση το σάκχαρο είναι σε υψηλές τιμές, ο ασθενής είναι αφυδατωμένος, μπορεί να κάνει εμετούς και να πονάει στην κοιλιά και, όχι σπάνια, μπορεί να πέσει σε κώμα. Σε κάθε περίπτωση, πρέπει να μεταφερθεί άμεσα στο νοσοκομείο.

2. Υπερωσμωτική (μη κετωτική) κατάσταση

Είναι επίσης επείγουσα κατάσταση που έχει αρκετά κοινά με την κετοξέωση. Συμβαίνει συνήθως σε ηλικιωμένους ασθενείς με ΣΔ2, πάλι με αφορμή συνήθως κάποια οξεία νόσηση. Το σάκχαρο είναι κι εδώ πολύ υψηλό (οι μετρητές σακχάρου δεν φτάνουν καν να το μετρήσουν), η αφυδάτωση είναι ακόμα μεγαλύτερη και το κώμα είναι επίσης η φυσική εξέλιξη, αν δεν αντιμετωπιστεί άμεσα σε νοσοκομείο.

➤ Χρόνιες

Είναι αρκετά συχνές και συμβαίνουν συνήθως μετά από αρκετά χρόνια από την έναρξη του διαβήτη. Στην περίπτωση όμως του ΣΔ2, δεν μπορεί κανένας να είναι σίγουρος πότε ακριβώς πραγματικά ξεκίνησε (μπορεί να υπάρχει για πολλά χρόνια πριν τη διάγνωση), με αποτέλεσμα κάποιες από αυτές να υπάρχουν ήδη κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Ο καλύτερος τρόπος για να τις αποφύγει κάποιος είναι να παραμένει πάντα καλά «ρυθμισμένος». Οι κυριότερες χρόνιες επιπλοκές (Εικόνα 2) είναι:

1. Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια

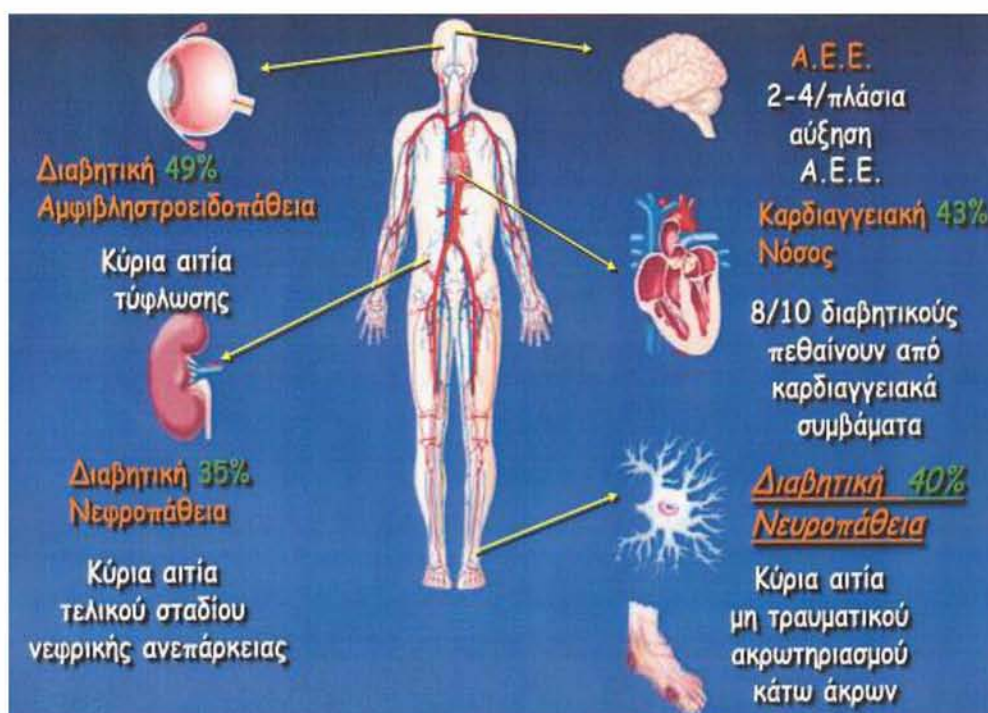
Είναι βλάβη του αμφιβληστροειδή χιτώνα. Είναι επιπλοκή που εξελίσσεται προοδευτικά σε διάφορα στάδια και αν δεν αντιμετωπιστεί κατάλληλα, μπορεί τελικά να οδηγήσει και σε τύφλωση. Ο προληπτικός έλεγχος της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας είναι

σημαντικός και πρέπει να γίνεται νωρίς μετά από τη διάγνωση του διαβήτη και να επαναλαμβάνεται κάθε χρόνο.

2. Διαβητική νεφροπάθεια

Είναι βλάβη των νεφρών, εξελίσσεται σταδιακά και δεν δίνει κανένα σύμπτωμα, παρά μόνο όταν πια είναι πολύ αργά για να αναστραφεί η πορεία της. Σε πρώιμο στάδιο εκδηλώνεται με σπειραματική υπερδιήθηση και στη συνέχεια με την παρουσία μικρολευκωματινουρίας (απέκκριση λευκωματίνης >30 mg/ημέρα αλλά <300 mg/ημέρα). Το επόμενο στάδιο χαρακτηρίζεται από μακρολευκωματινουρία (απέκκριση λευκωματίνης >300mg/ημέρα) ή πρωτεϊνουρία (απέκκριση λευκωματίνης >500 mg/ημέρα) και από προοδευτική μείωση της νεφρικής λειτουργίας.

Ένα θετικό αποτέλεσμα πρέπει να επιβεβαιώνεται και στη συνέχεια να συνοδεύεται από εντατικές μετρήσεις για την προστασία της νεφρικής λειτουργίας.



ΕΙΚΟΝΑ 2. Επιπλοκές του ΣΔ

3. Διαβητική νευροπάθεια

Ο διαβήτης προσβάλλει τα νεύρα, τόσο του περιφερικού όσο και του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Η περιφερική νευροπάθεια εκδηλώνεται συνηθέστερα με συμπτώματα από τα πόδια, όπως μούδιασμα, τσιμπήματα, κάψιμο, πόνο κ.ά. και είναι πολύ σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη «διαβητικού ποδιού».

Η νευροπάθεια του αυτόνομου είναι σπανιότερη και μπορεί να εκδηλωθεί με διάφορα συμπτώματα, όπως διαταραχές στο στομάχι, διάρροιες ή δυσκοιλιότητα, ορθοστατική υπόταση-λιποθυμία, ιδρώτες, σεξουαλική ανικανότητα, ακράτεια ούρων κ.ά.

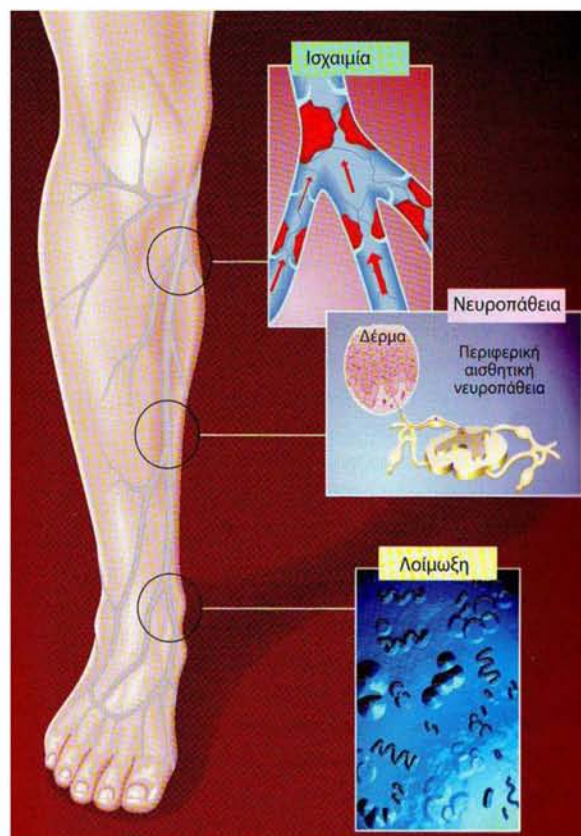
4. Μακροαγγειοπάθεια

Με αυτόν τον όρο εννοούμε τις βλάβες που γίνονται στα αγγεία της καρδιάς, του εγκεφάλου και στις περιφερικές αρτηρίες, λόγω αθηροσκλήρυνσης. Η αθηροσκλήρυνση στους διαβητικούς εμφανίζεται πολύ συχνότερα και νωρίτερα και μπορεί να είναι τελικά η αιτία της συντριπτικής πλειοψηφίας (έως και 80%) των θανάτων στους ασθενείς αυτούς. Εκδηλώνεται κυρίως ως στεφανιαία νόσος και έμφραγμα, ως εγκεφαλικό επεισόδιο και ως «διαλείπουσα χωλότητα» (πόνος στη γάμπα κατά το περπάτημα, που αναγκάζει τον ασθενή να σταματήσει μετά από κάποια μέτρα). Η πρόληψη αυτών των επιπλοκών είναι ο λόγος που πρέπει να αντιμετωπίζονται επιθετικά και συνολικά όλοι οι παράγοντες κινδύνου για αθηρωμάτωση σε κάθε διαβητικό. Εκτός αυτών, η μακροαγγειοπάθεια είναι και αυτή παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη «διαβητικού ποδιού».

5. Διαβητικό πόδι

Με τον όρο αυτό περιγράφονται οι βλάβες που μπορεί να δημιουργηθούν στο πόδι ενός διαβητικού (από τον αστράγαλο και κάτω), ως αποτέλεσμα της περιφερικής νευροπάθειας ή/και περιφερικής αρτηριοπάθειας, σε συνδυασμό με κάποιο τραυματισμό του ποδιού που δεν έγινε αντιληπτός (Εικόνα 3).

Ο ασθενής με περιφερική νευροπάθεια δεν αισθάνεται τα επώδυνα ερεθίσματα, αλλά κάποιος μικροτραυματισμός, π.χ. από ένα στενό παπούτσι, μπορεί να δημιουργήσει πολύ μεγάλη και βαθιά πληγή (έλκος). Μια τέτοια πληγή, ειδικά σε ασθενείς που έχουν και κακή κυκλοφορία, λόγω αρτηριοπάθειας, μπορεί να επιμένει για πολλούς μήνες, να μολυνθεί ή και να προκαλέσει οστεομυελίτιδα (λοίμωξη στο οστό που βρίσκεται από κάτω). Για τη θεραπεία των ελκών αυτών απαιτείται πρώτα απ' όλα «αποφόρτιση» (ουσιαστικά να μην πιέζεται η περιοχή), τακτική τοπική περιποίηση, τακτικός χειρουργικός καθαρισμός από τον ειδικό και κατά περίπτωση, χρήση αντιβιοτικών. Δυστυχώς, η κατάληξη δεν είναι πάντα καλή και ο ακρωτηριασμός δεν μπορεί πάντοτε να αποφευχθεί. Γι' αυτό είναι πολύ σημαντική η πρόληψη, η οποία βασίζεται σε ειδικά παπούτσια και πάτους για διαβητικούς, καθώς και στη σωστή εκπαίδευση του διαβητικού πάνω στην καθημερινή φροντίδα των ποδιών του.



ΕΙΚΟΝΑ 3. Διαβητικό πόδι

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Η θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη περιλαμβάνει το συνδυασμό φαρμακευτικής αγωγής, ειδικής διατροφικής διαίτας και ειδικών συστάσεων αλλαγής του τρόπου ζωής.

Η αντιμετώπιση του διαβητικού ασθενούς στοχεύει στην πρόληψη των οξέων επιπλοκών του διαβήτη (υπερωσμωτικό σοκ, κετοξέωση), αλλά και των χρόνιων επιπλοκών αυτού, που προσβάλλουν, είτε τη μικροκυκλοφορία (διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, διαβητική νεφροπάθεια, διαβητική νευροπάθεια), είτε τα μεγάλα αγγεία (καρδιαγγειακές επιπλοκές), (12).

Επιπλέον, ο διαβητικός ασθενής θα πρέπει να ακολουθεί τις οδηγίες του θεράποντα ιατρού, να τηρεί το διαιτολόγιό του και είναι ενημερωμένος (να γνωρίζει την σωστή χρήση των αντιδιαβητικών δισκίων, να γνωρίζει την τεχνική των ενέσεων και τις δόσεις της ινσουλίνης, να γνωρίζει τα συμπτώματα της υπογλυκαιμίας και υπεργλυκαιμίας).

➤ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 1

Σε αυτό τον τύπο ΣΔ είναι απαραίτητος ο συνδυασμός ινσουλίνης, ρυθμιστικής διαίτας και άσκησης, τρία στοιχεία τα οποία πρέπει να συμβαδίζουν μεταξύ τους αλλά και με τον τρόπο ζωής του ασθενή (13).

Η αντιμετώπιση του διαβητικού ασθενούς απαιτεί την ενασχόληση μιας ομάδας ιατρών διαφόρων ειδικοτήτων που περιλαμβάνει το γενικό παθολόγο, το διαβητολόγο, τον οφθαλμίατρο, το νευρολόγο, τον καρδιολόγο, το νεφρολόγο και ενίοτε τον ορθοπαιδικό, αλλά επίσης τον διαιτολόγο και τον ειδικό φροντίδας του άκρου ποδός.

ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Ανάλογα με τον χρόνο έναρξης της δράσης και τη διάρκεια της δράσης οι ινσουλίνες διακρίνονται σε ταχείας δράσης, ενδιάμεσης δράσης, βραδείας δράσης και μίγματα ενδιάμεσης και κρυσταλλικής ανθρώπινης ινσουλίνης σε διάφορες συγκεντρώσεις.

Οι βασικοί τρόποι χορήγησής της ινσουλίνης είναι:

- σύριγγες ινσουλίνης (μίας χρήσης των 0,3 ml, των 0,5ml και 1 ml).
- στυλό: προγεμισμένοι με ινσουλίνη (περιορισμένης χρήσης) και αυτοί που γεμίζουν με ειδικά φιαλίδια ινσουλίνης (για πολλαπλές χρήσεις).

Τα κύρια σημεία χορήγησης της ινσουλίνης είναι τα κοιλιακά τοιχώματα, η μέση και έξω επιφάνεια του δελτοειδούς, η περιοχή του μηρού και οι γλουτοί.

ΔΙΑΙΤΑ

Το σωστό διαιτολόγιο κατέχει σημαντική θέση στην προσπάθεια ορθής ρύθμισης του ΣΔ1. Τόσο σε παιδιά, όσο και σε ενήλικες, η κατανομή των γευμάτων ποιοτικά και ποσοτικά πρέπει να ακολουθεί το είδος της χορηγούμενης ινσουλίνης καθώς και το είδος και τη διάρκεια των σωματικών δραστηριοτήτων. Εξέχουσας σημασίας είναι η ακριβής κατανομή των υδατανθράκων, του λίπους και της ενέργειας ανά 24ωρο.

ΑΣΚΗΣΗ

Οι στόχοι της άσκησης του ασθενή με ΣΔ1 είναι η διατήρηση ή βελτίωση της κατάστασης του καρδιαγγειακού συστήματος (πρόληψη ή ελαχιστοποίηση των απώτερων επιπλοκών), η βελτίωση της μυϊκής ευκαμψίας (η οποία επηρεάζεται στον ΣΔ από τη γλυκοζυλίωση του μυϊκού κολλαγόνου), η βελτίωση μυϊκής ισχύος (η οποία επιδεινώνεται από τη νευροπάθεια) και η δυνατότητα του διαβητικού να συμμετέχει σε δραστηριότητες αθλητικές και σωματικές με ασφάλεια.

Οι παρενέργειες της άσκησης του ασθενή με ΣΔ1 περιλαμβάνουν: υπογλυκαιμία, υπεργλυκαιμία, επιδείνωση σιωπηλής καρδιοπάθειας (στηθάγχη, κ.ά.), επιδείνωση επιπλοκών του διαβήτη (κακώσεις αρθρώσεων, αποκόλληση αμφιβληστροειδούς, κ.ά.), ορθοστατική υπόταση, κ.ά.

➤ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2

ΔΙΑΙΤΑ

Σε αυτόν τον τύπο ΣΔ επιβάλλεται η έγκαιρη θεραπεία με ολιγοθερμιδική διαίτα δεδομένου, ότι η πλειοψηφία των ασθενών που ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία είναι παχύσαρκοι (14).

Η ρύθμιση ενός ορθού διαιτολογίου περιλαμβάνει τον υπολογισμό των κανονικών ενεργειακών αναγκών, της σύνθεσης του σώματος, του σωματικού βάρους και της κατανομής του σωματικού λίπους, της επιθυμητής απώλειας βάρους, καθώς και του ρυθμού απώλειας βάρους.

Μέσω της διαιτητικής αγωγής επιτυγχάνεται, συνήθως, η διατήρηση της ομοιοστασίας της γλυκόζης αίματος, αν και η ενδογενής ινσουλίνη είναι ανεπαρκής.

ΑΣΚΗΣΗ

Η άσκηση είναι πρωτεύουσας σημασίας για την πορεία ασθενών με ΣΔ2. Ωστόσο, όπως και στον ΣΔ1, υπάρχουν περιορισμοί, καθώς ενέχονται κίνδυνοι για την υγεία των ασθενών. Επομένως, πρέπει να εξετάζεται προσεχτικά κάθε ασθενής, προτού του δοθούν συμβουλές για τους στόχους και τους τρόπους της άσκησης.

ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΑ ΔΙΣΚΙΑ

Για τον έλεγχο του ΣΔ2 μπορούν να χορηγηθούν αντιδιαβητικά δισκία:

- σουλφονουλουρίες
- διγουανίδες
- αναστολείς της γλυκοσιδάσης
- θειαζολιδινεδιόνες

Τα παραπάνω δισκία χορηγούνται ανάλογα με τις ανάγκες του ασθενούς και μόνο μετά από εντολή του θεράποντα ιατρού, καθώς παρουσιάζουν παρενέργειες και υπάρχουν περιπτώσεις κατά τις οποίες η χρήση τους αντενδείκνυται.

ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Η ινσουλινοθεραπεία στο ΣΔ2 ξεκινά όταν κρίνεται αδύνατη η ρύθμισή του μέσω δίαιτας, άσκησης και χρήσης δισκίων αντιδιαβητικών. Συνήθως, γίνεται συνδυασμένη αγωγή ινσουλίνης με σουλφονουλουρίες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Π

ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Οι πρώτες αναφορές που προσπαθούσαν να συνδέσουν το σακχαρώδη διαβήτη και τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, απαντώνται στις αρχές του 19^{ου} αιώνα. Πολλοί οφθαλμίατροι ασχολήθηκαν με τη μελέτη της νόσου, με αποτέλεσμα πολλές και σημαντικές παρατηρήσεις (Πίνακας 3) που βοήθησαν σταδιακά στη θεραπευτική αντιμετώπιση της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Ιστορικές αναφορές για τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια

		ΑΝΑΦΟΡΕΣ/ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ
1846	Bouchardat	παροδική απώλεια όρασης σε διαβητικούς
1853	Tavignot	διαβητική αμφλωπία
1856	Jaeger	στρογγυλά-οβάλ, κίτρινοπά στίγματα και αιμορραγίες
1869	Noyes	αμφιβληστροειδίτις στη σακχαρουρία
1972	Nettleship	περί οιδήματος ή κυστικής νόσου του αμφιβληστροειδούς
1875	Bouchardat	περί γλυκοζουρίας ή σακχαρώδους διαβήτου
	Leber	γλυκοζουρική αμφιβληστροειδίτιδα
1876	Manz	παραγωγική αμφιβληστροειδίτις
1921	Banting and Best	ανακάλυψη ινσουλίνης
1943	Ballantyne	εξιδρώματα στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια
1948	Michaelson	αγγειογενετικός παράγοντας X
1950-1960	Ashton	αγγειακή απόφραξη σε ασθενείς με ΔΑ
	Meyer-Schwickerath	φωτοπληξία με ηλιακή ακτινοβολία
	Wetzig	Xenon arc
	Beethan and Lloyd	Ruby laser
	L'Esperance and Putz	Argon laser
1968	Arlie House Symposium	Diabetic Retinopathy Study (DRS): PRP
1971	Machemer	Υοαειδεκτομή

Επιπρόσθετα, σημαντικές είναι οι μελέτες DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) που πραγματοποιήθηκε το διάστημα 1983-1998 και UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) που πραγματοποιήθηκε το 1977-1999, οι οποίες διευκρίνισαν τον σημαντικό ρόλο του αυστηρού γλυκαιμικού ελέγχου στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης και εξέλιξης της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας και άλλων μικροαγγειακών επιπλοκών του ΣΔ.

Εκτός από τις μελέτες DCCT και UKPDS και άλλες πολυκεντρικές κλινικές μελέτες, όπως η Diabetic Retinopathy Study(DRS) που πραγματοποιήθηκε το χρονικό διάστημα 1971-1975, η EarlyTreatment Diabetic Retinopathy Study (EDTRS) που πραγματοποιήθηκε το 1980-1989 και η Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study (DRVS) που πραγματοποιήθηκε το διάστημα 1979-1990, έβαλαν τις επιστημονικές βάσεις για τη σύγχρονη αντιμετώπιση της ΔΑ.

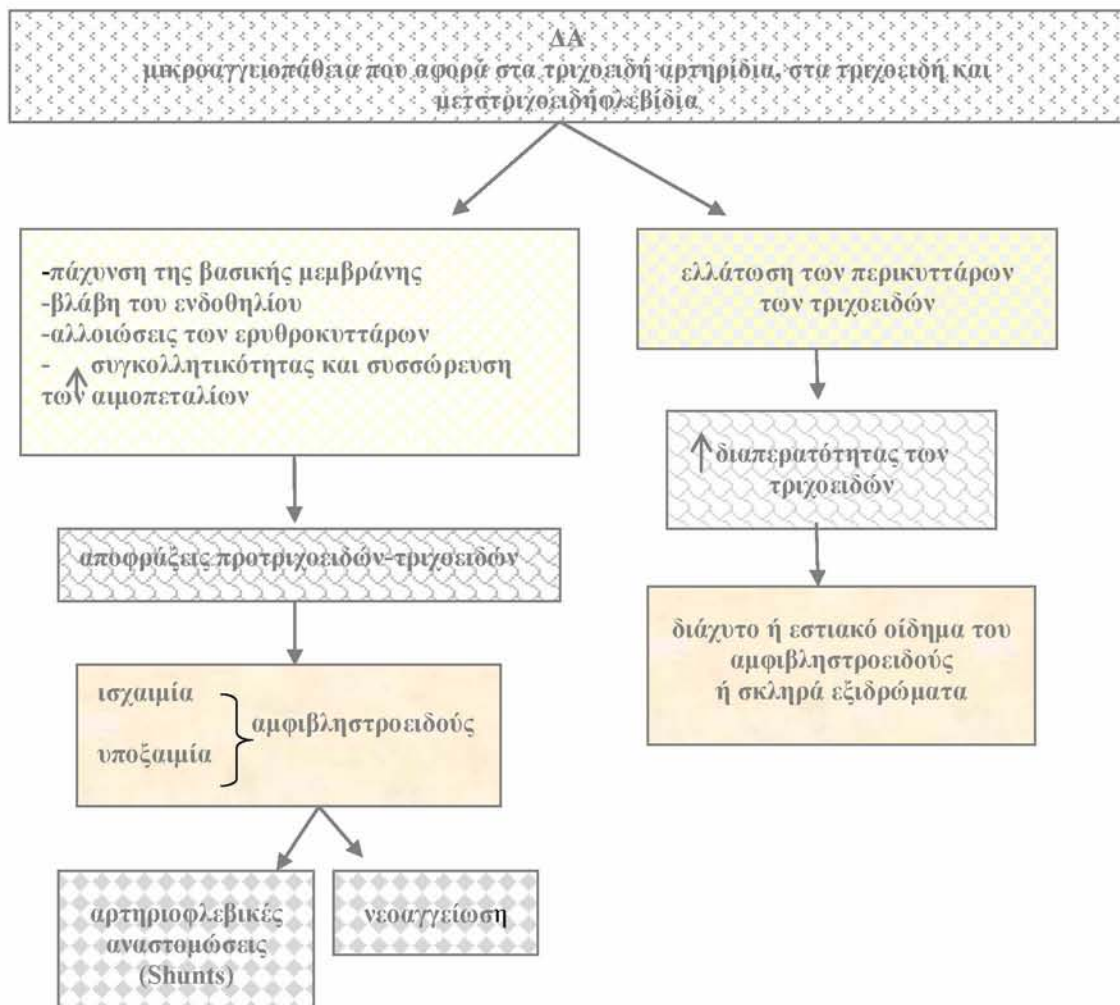
Οι μελέτες αυτές συνέβαλλαν στην:

- ✓ κατανόηση της φυσικής εξέλιξης της ΔΑ
- ✓ καλύτερη σταδιοποίηση της ΔΑ
- ✓ εδραίωση της παναμφιβληστροειδικής φωτοπληξίας (PRP) και της οπίσθιας υαλοειδεκτομής ως θεραπεία της ΔΑ
- ✓ ανάδειξη της σημασίας της τακτικής οφθαλμολογικής παρακολούθησης
- ✓ διερεύνηση της επίδρασης άλλων συστηματικών διαταραχών στην εμφάνιση και εξέλιξη της ΔΑ, όπως της νεφρικής ανεπάρκειας, της συστηματικής υπέρτασης, της δυσλιπιδαιμίας, κ.ά.

ΟΡΙΣΜΟΣ - ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ) ανήκει στις όψιμες επιπλοκές του ΣΔ. Διαβητικοί ασθενείς, που ο διαβήτης τους χρονολογείται πάνω από 10 χρόνια έχουν πιθανότητα να αναπτύξουν ΔΑ σε αναλογία 75%, η οποία αυξάνεται όσο μεγαλώνει και το χρονικό διάστημα από την έναρξη της νόσου.

Η ΔΑ είναι μικροαγγειοπάθεια που προσβάλλει τα προτριχοειδικά αρτηρίδια, τα τριχοειδή και τα μετατριχοειδικά φλεβίδια του αμφιβληστροειδούς. Μπορεί όμως να προσβληθούν και τα μεγάλα αγγεία (Σχήμα 2). Η μικροαγγειοπάθεια της ΔΑ συνίσταται σε μικροαγγειακές αποφράξεις και αυξημένη διαπερατότητα του τοιχώματος των μικροαγγείων. Η πάθηση είναι εξελικτική, αρχικά ως διαβητική μικροαγγειοπάθεια, αργότερα δημιουργεί εκτεταμένες αλλοιώσεις στον αμφιβληστροειδή και ιδιαίτερα στην ωχρά κηλίδα που καταλήγουν σε μείωση της όρασης και τύφλωση (Εικόνα 4).



ΣΧΗΜΑ2. Παθογένεια της ΔΑ



ΕΙΚΟΝΑ 4. Παθογένεια της ΔΑ. α. Φυσιολογική όραση β. Όραση με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια

➤ Μικροαγγειακή απόφραξη

Η απόφραξη των τριχοειδών του αμφιβληστροειδούς οφείλεται σε διάφορους παράγοντες (Πίνακας 4) και οδηγεί σε αμφιβληστροειδική ισχαιμία, η οποία με τη σειρά της δημιουργεί αμφιβληστροειδική υποξία. Τα δύο κύρια αποτελέσματα της υποξίας που προκύπτει είναι η δημιουργία αρτηριοφλεβικών αναστομώνσεων και η νεοαγγείωση.

➤	πάχυνση της βασικής μεμβράνης των τριχοειδών
➤	βλάβες και πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων των τριχοειδών
➤	αλλοιώσεις στα ερυθρά αιμοσφαίρια που έχουν σαν αποτέλεσμα την ελλιπή μεταφορά οξυγόνου
➤	αυξημένη συγκολλητικότητα και αύξηση της συσώρευσης των αιμοπεταλίων

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Κύριοι παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για τις μικροαγγειακές αποφράξεις

Οι αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις μεταφέρουν αίμα απευθείας από το αρτηρίδιο προς το φλεβίδιο, παρακάμπτοντας έτσι τα αποφραγμένα τριχοειδή και συνοδεύονται από σημαντική τριχοειδική απόφραξη, που εκτείνεται από τα φλεβίδια προς τα αρτηρίδια. Δεν έχει όμως, διευκρινιστεί εάν οι αναστομώσεις αυτές αποτελούν νέα αμφιβληστροειδικά αγγεία (νεοαγγεία) ή είναι προϋπάρχοντα τριχοειδή που διαστέλλονται και για τον λόγο αυτό ονομάζονται ενδοαμφιβληστροειδικές μικρο-αγγειακές ανωμαλίες (intraretinal micro vascular abnormalities- IRMA).

Στη νεοαγγείωση αντίστοιχα προς τις υποξαιμικές περιοχές του αμφιβληστροειδούς, παράγονται αγγειοπαραγωγικές ουσίες (όπως ο αυξητικός παράγοντας VEGF), οι οποίες παράγονται από τον υποξαιμικό αμφιβληστροειδή, με σκοπό την ανάπτυξη νέων αγγείων για να αυξηθεί η ροή του αίματος προς τις περιοχές αυτές (1). Οι ουσίες αυτές προκαλούν νεοαγγείωση στον αμφιβληστροειδή, στην οπτική θηλή, αλλά και στην ίριδα (ερύθρωση ίριδας-rubeosis iridis).

➤ Μικροαγγειακή διαρροή

Τα κυτταρικά στοιχεία του τοιχώματος των τριχοειδών του αμφιβληστροειδούς αποτελούνται από ενδοθηλιακά κύτταρα και από τα περικύτταρα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την ανατομική ακεραιότητα του τοιχώματός τους. Η αύξηση της διαπερατότητας του τοιχώματος των μικροαγγείων πιστεύεται ότι οφείλεται στην ελάττωση των περικυττάρων των τριχοειδών.

Στα φυσιολογικά τριχοειδή σε κάθε ενδοθηλιακό κύτταρο αντιστοιχεί ένα περικύτταρο. Όταν όμως, επέλθει ελάττωση των περικυττάρων, όπως συμβαίνει στους διαβητικούς ασθενείς, αλλοιώνεται η λειτουργικότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων με αποτέλεσμα την αυξημένη διαπερατότητα του τοιχώματος των τριχοειδών, αλλά και τη μείωση της ανθεκτικότητας του τριχοειδικού τοιχώματος. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη διάταση του τοιχώματος των τριχοειδών και τη ρήξη του έσω αιματοαμφιβληστροειδικού φραγμού, η

οποία με τη σειρά της προκαλεί τη διαρροή συστατικών του πλάσματος εντός του αμφιβληστροειδούς (1).

Η διαρροή των συστατικών του αίματος μέσα στον αμφιβληστροειδή δημιουργεί εκκολπώματα στο τοίχωμα των τριχοειδών, τα μικροανευρύσματα, τα οποία διαρρέουν ή θρομβώνονται. Η αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα στο μεσοκυττάριο διάστημα οφθαλμοσκοπικά διαπιστώνεται με την εμφάνιση αιμορραγιών και οιδήματος του αμφιβληστροειδούς, το οποίο είναι:

- διάχυτο, όταν προκαλείται από εκτεταμένη τριχοειδική διάταση και διαρροή και
- εντοπισμένο, όταν προκαλείται από εστιακή διαρροή από μικροανευρύσματα και διεσταλμένα τριχοειδή κατά τμήματα.

Το χρόνια εστιακό οίδημα του αμφιβληστροειδούς καταλήγει στη δημιουργία σκληρών εξιδρωμάτων, τα οποία αποτελούνται από λιποπρωτεΐνες και από μακροφάγα γεμάτα λιπίδια (lipid-laden), στα όρια μεταξύ οιδηματικού και φυσιολογικού αμφιβληστροειδούς και συγκεκριμένα εντοπίζονται στις εν τω βάθει στιβάδες του αμφιβληστροειδούς (έξω δικτυωτή και μεταξύ του κυρίως αμφιβληστροειδούς και του μελαγχρόου επιθηλίου). Σε μερικούς οφθαλμούς απορροφώνται αυτόματα μετά από περίοδο μηνών ή ετών, ενώ σε περίπτωση εκτεταμένου και χρόνιου οιδήματος του αμφιβληστροειδούς παρατηρούνται και εναποθέσεις κρυστάλλων χοληστερίνης.

ΜΟΡΦΕΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ

Η ταξινόμηση των μορφών της ΔΑ βασίζεται στη φυσική πορεία της νόσου (ποιοτική ταξινόμηση), όπως προκύπτει από την κλινική εμπειρία.

Διακρίνουμε τρεις μορφές ΔΑ:

1. Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια υποστρώματος (ΔΑΥ)
2. Προπαραγωγική μορφή διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας (ΠρΠΔΑ)
3. Παραγωγική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΠΔΑ)

Με την πρόοδο όμως, των μεθόδων θεραπείας της ΔΑ και ιδιαίτερα με την εισαγωγή της φωτοπηξίας με λέιζερ ήταν απαραίτητη η ανάπτυξη νέων συστημάτων ταξινόμησης (ημι-ποσοτικών). Το πιο διαδεδομένο σύστημα είναι το σύστημα της μελέτης ETDRS (Πίνακας 5), όπου η ήπια και η μέτρια μορφή μη παραγωγικής ΔΑ αντιστοιχούν αδρά στη ΔΑ υποστρώματος, ενώ η σοβαρή μορφή μη παραγωγικής ΔΑ αντιστοιχεί στην προπαραγωγική ΔΑ (15).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Σύστημα ETDRS ταξινόμησης της ΔΑ

ΣΤΑΔΙΟ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΔΑ	ΟΡΙΣΜΟΣ
Απουσία αμφιβληστροειδοπάθειας	Απουσία διαβητικών αλλοιώσεων
Ήπια μη παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια	Μόνο μικροανευρύσματα, ή μικροανευρύσματα με σκληρά εξιδρώματα, μαλακά εξιδρώματα ή/και ήπιες αιμορραγίες του αμφιβληστροειδούς
Μέτρια μη παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια	Μικροανευρύσματα με ήπιες ή μέτριες IRMA, μέτριες ή σοβαρές αιμορραγίες του αμφιβληστροειδούς, ή κομβολογιοειδείς φλέβες σε μόνο 1 τεταρτημόριο
Σοβαρή μη παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια	Σοβαρές αιμορραγίες του αμφιβληστροειδούς σε 4 τεταρτημόρια, ή κομβολογιοειδείς φλέβες σε τουλάχιστον 2 τεταρτημόρια, ή σοβαρές IRMA σε τουλάχιστον 1 τεταρτημόριο
Ήπια παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια	NVE μεγέθους < επιφάνειας οπτικού δίσκου σε 1 ή περισσότερα τεταρτημόρια
Μέτρια παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια	NVE μεγέθους \geq επιφάνειας οπτικού δίσκου σε 1 ή περισσότερα τεταρτημόρια, ή NVD μεγέθους < 1/4-1/3 της επιφάνειας του οπτικού δίσκου
Παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια υψηλού κινδύνου	NVD μεγέθους \geq 1/4-1/3 της επιφάνειας του οπτικού δίσκου ή/και αιμορραγία στο υαλώδες σώμα

*IRMA = ενδοαμφιβληστροειδικές μικροαγγειακές ανωμαλίες

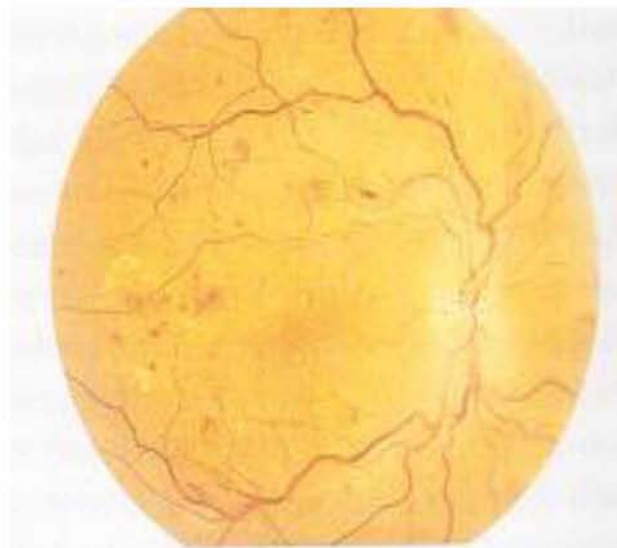
NVE = νεοαγγείωση μακριά από τον οπτικό δίσκο

NVD = νεοαγγείωση πάνω στον οπτικό δίσκο ή μέσα σε 1 διάμετρο δίσκου απόσταση από το δίσκο

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

➤ Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια υποστρώματος (ΔΑΥ)

Αποτελεί μη παραγωγική μορφή ΔΑ. Στη μορφή αυτή υπάρχουν κυρίως μικροανευρύσματα, αιμορραγίες που βρίσκονται είτε, στην επιφάνεια του αμφιβληστροειδή ή και βαθύτερα και εξιδρώματα (λευκά ή κίτρινα). Τα κίτρινα εξιδρώματα είναι αποτέλεσμα κυρίως διήθησης του πλάσματος που περνά μέσα από το τοίχωμα των παθολογικών αγγείων, ενώ τα λευκά είναι αποτέλεσμα της ισχαιμίας του αμφιβληστροειδή (Εικόνα 5). Τα στοιχεία αυτά υπάρχουν κυρίως στον οπίσθιο πόλο και επηρεάζουν άμεσα την ωχρά κηλίδα. Η ωχρά κηλίδα τις περισσότερες φορές έχει οίδημα. Το οίδημα μαζί με τα εξιδρώματα είναι τα κύρια αίτια μείωσης της οπτικής οξύτητας.



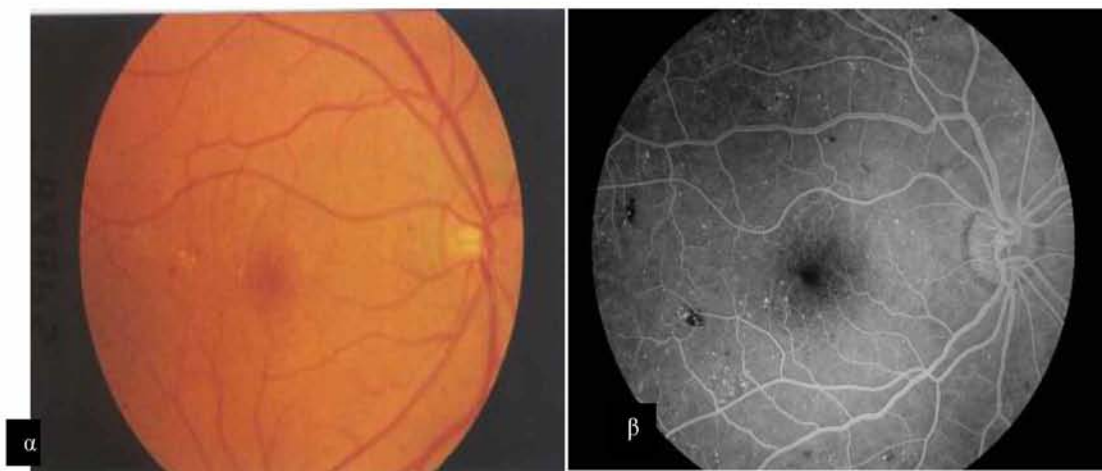
ΕΙΚΟΝΑ 5. Βυθοσκοπικά ευρήματα σε ασθενή με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια υποστρώματος. Διάκρινονται μικροαιμορραγίες, μικροανευρύσματα και σκληρά εξιδρώματα κυρίως στον οπίσθιο πόλο

ΜΙΚΡΟΑΝΕΥΡΥΣΜΑΤΑ

Τα μικροανευρύσματα (Μα) αποτελούν το πρώτο σημείο της ΔΑ και εντοπίζονται στην έσω κοκκώδη στιβάδα του αμφιβληστροειδούς. Αρχικά, εμφανίζονται σαν μικρές διευρύνσεις των τριχοειδών, όπου λείπουν τα περικύτταρα κυρίως προς την πλευρά των φλεβικών τριχοειδών και αργότερα επεκτείνονται και προς τα αρτηριακά τριχοειδή. Στη συνέχεια, οι τοπικές αυτές διευρύνσεις των τριχοειδών υπαλείφονται από ενδοθηλιακά

κύτταρα και συγχρόνως η βασική μεμβράνη γίνεται πολυστρωματική. Έτσι ολοκληρώνεται και παθολογοανατομικά το Μα που αποκτά διάμετρο 20 -200 μ (1).

Στο εσωτερικό των Μα μπορεί να υπάρχει κυκλοφορία του αίματος, ενώ μερικά αποφράσσονται λόγω πήξεως του αίματος στο εσωτερικό τους. Οφθαλμοσκοπικά, δεν είναι δυνατόν να διακρίνουμε τα θρομβωμένα από τα μη θρομβωμένα Μα, ούτε γενικά τα Μα από τις στικτές αιμορραγίες. Τη διαφορική διάγνωση βοηθάει αποτελεσματικά η φλουοραγγειογραφία του βυθού, όπου τα μη θρομβωμένα Μα παραμένουν εμφανή (πληρούμενα από φλουορεσκείνη) ενώ τα θρομβωμένα, καθώς και οι στικτές αιμορραγίες παραμένουν "σκοτεινά" (Εικόνα 6).



ΕΙΚΟΝΑ 6. α. Φωτογραφία βυθού: μικροανευρύσματα, μικροαιμορραγίες και σκληρά εξιδρώματα
β. Φλουοραγγειογραφία: τα μικροανευρύσματα εμφανίζονται ως υπερφθορίζοντα στίγματα, ενώ οι μικροαιμορραγίες και τα σκληρά εξιδρώματα παρουσιάζουν υποφθορισμό

ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΕΣ

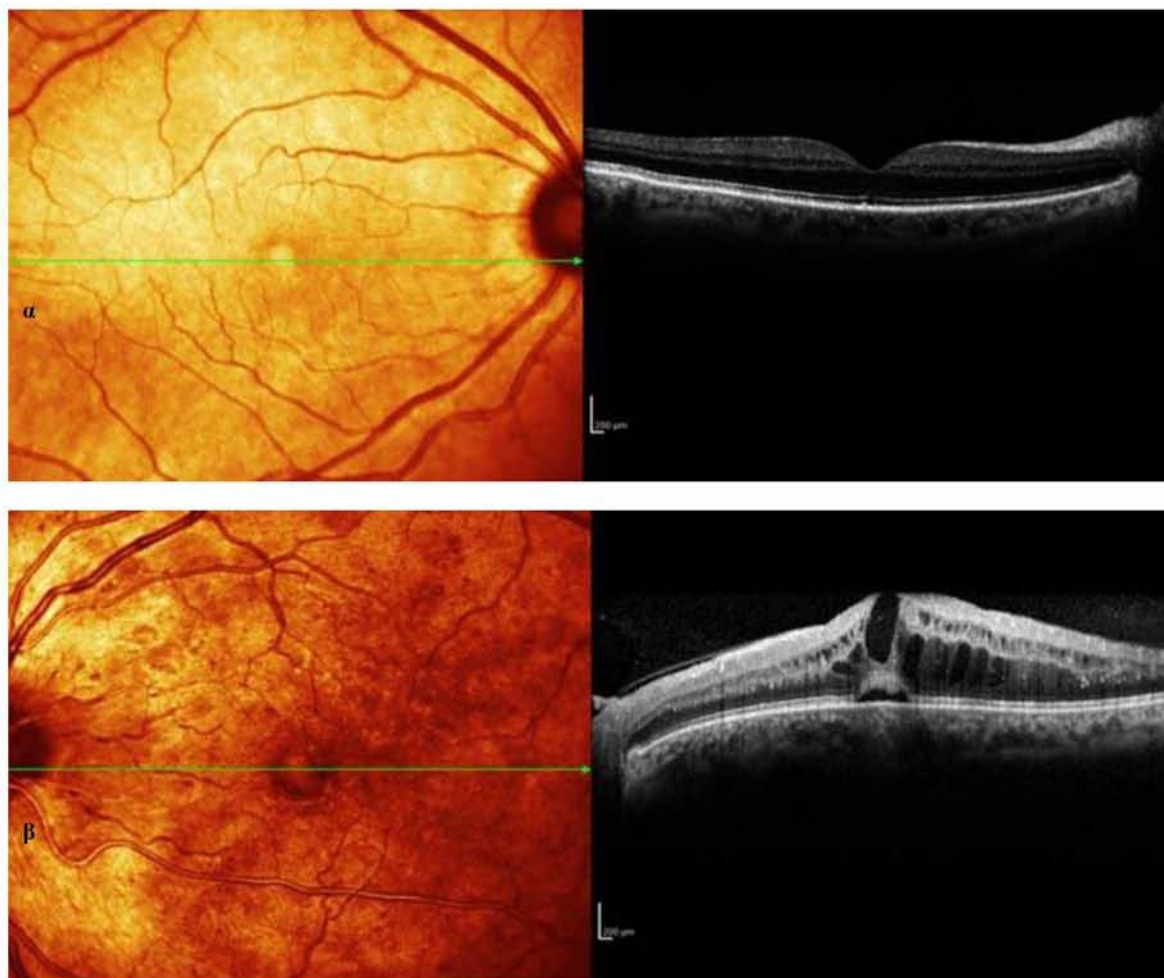
Το τοίχωμα του τριχοειδούς ή του μικροανευρύσματος μπορεί να λεπτυνθεί και να μειωθεί πολύ η ανθεκτικότητά του, με αποτέλεσμα να σπάσει και να δημιουργηθεί ενδοαμφιβληστροειδική αιμορραγία (Εικόνα 6).

Οι αιμορραγίες που προέρχονται από τα μετατριχοειδικά φλεβίδια και εντοπίζονται εν τω βάθει, στις συμπαγείς μεσαιές στιβάδες του αμφιβληστροειδούς, είναι συνήθως στικτές (μικροαιμορραγίες) και προέρχονται από ρήξη τριχοειδών ή μικροανευρυσμάτων που ανήκουν στο αρτηριακό τριχοειδικό πλέγμα και εμφανίζονται υπό μορφή κηλίδων και στιγμάτων. Οι αιμορραγίες που προέρχονται από τα προτριχοειδικά αρτηρίδια, που βρίσκονται πιο επιπολής, και ακολουθούν την πορεία της στιβάδας των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς, εμφανίζονται με το σχήμα φλόγας (φλογοειδείς αιμορραγίες).

ΟΙΔΗΜΑ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΥΣ

Το οίδημα του αμφιβληστροειδούς οφείλεται στην αυξημένη διαπερατότητα του τοιχώματος των τριχοειδών και των μικροανευρισμάτων και εκδηλώνεται σαν πάχυνση του αμφιβληστροειδούς. Εάν η πάχυνση ενδιαφέρει ολόκληρο τον αμφιβληστροειδή, γίνεται πλέον εμφανής στον πρόσθιο πόλο και κυρίως στην ωχρά κηλίδα (διαβητική ωχροπάθεια).

Αυτό γίνεται αντιληπτό με τη βιομικροσκόπηση δια της σχισμοειδούς λυχνίας με την τρικατοπτρική ύαλο ή με το φακό έμμεσης οφθαλμοσκόπησης. Στη φλουοραγγειογραφία διακρίνονται περιοχές αυξημένης διαπερατότητας, ενώ και με την οπτική τομογραφία συνοχής (OCT) επιβεβαιώνεται η αύξηση του πάχους του αμφιβληστροειδούς, ενώ οι συλλογές υγρού εμφανίζονται ως κυστικοί χώροι χαμηλής ανακλαστικότητας (Εικόνα 7).



ΕΙΚΟΝΑ 7. α. φυσιολογική απεικόνιση των στιβάδων του αμφιβληστροειδούς
β. εστιακό οίδημα ωχράς κηλίδας σε διαβητικό ασθενή

Στην αρχή εντοπίζεται μεταξύ της έξω δικτυωτής και έσω κοκκώδους στιβάδας του αμφιβληστροειδούς, ενώ με το χρόνο επεκτείνεται προς την έσω δικτυωτή και τη στιβάδα των νευρικών ινών, μέχρι να καταστεί τελικά ο αμφιβληστροειδής οίδηματικός σε όλο το πάχος του. Με την πάροδο της πάθησης το υγρό που έχει κατακλύσει τον αμφιβληστροειδή της περιοχής της ωχράς είναι δυνατόν να εμφανιστεί σαν κυστεοειδές οίδημα (κυστεοειδές οίδηματης ωχράς), το οποίο γίνεται αντιληπτό κυρίως κατά την εξέταση του οπίσθιου πόλου με τη βοήθεια του φακού επαφής του Goldmann, ενώ συνήθως συνυπάρχειμε πολλαπλές αιμορραγίες και άφθονα εξιδρώματα. Η μεγάλη κλινική σημασία της εμφάνισης του οιδήματος της ωχράς κρίνεται από το γεγονός ότι αποτελεί την πιο συχνή αιτία έκπτωσης της όρασης στους ασθενείς με ΔΑΥ.

ΞΗΡΑ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ

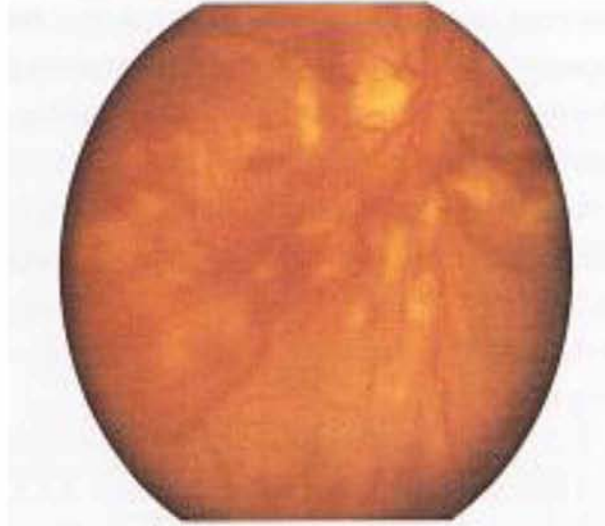
Εντοπίζονται μεταξύ της έσω δικτυωτής και της έσω κοκκώδους στιβάδας τουαμφιβληστροειδούς, όταν η παθολογική διαπερατότητα του τριχοειδικού δικτύου αυξηθεί αρκετά και τα λιπίδια εξέρχονται από την αιματική κυκλοφορία και διαχέονται στον εξωκυττάριο χώρο του αμφιβληστροειδούς.

Ποικίλλουν σε μέγεθος και έχουν κίτρινη κηρώδη εμφάνιση με σχετικά σαφή όρια. Βρίσκονται διασκορπισμένα σε ολόκληρη την ωχρά και τον πρόσθιο πόλο, σε άλλοτε άλλη έκταση, συχνά όμως συκεντρώνονται γύρω από εστίες χρόνιας διαφυγής τριχοειδών με τη μορφή δακτυλίου (circinate αμφιβληστροειδοπάθεια). Στα κέντρα των δακτυλίων των σκληρών εξιδρωμάτων συνήθως υπάρχουν μικροανευρύσματα (Εικόνα 8).



ΕΙΚΟΝΑ 8. Σκληρά εξιδρώματα σε διαβητικό ασθενή με μη παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια
➤ **Προπαραγωγική μορφή διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας (ΠρΠΔΑ)**

Η ΠρΠΔΑ αναπτύσσεται σε μερικά άτομα που αρχικά εμφανίζουν απλή ΔΑΥ. Όλες οι αλλοιώσεις που τη χαρακτηρίζουν οφείλονται στην ισχαιμία του αμφιβληστροειδούς (Εικόνα 9). Τα άτομα που παρουσιάζουν ΠρΠΔΑ πρέπει να παρακολουθούνται στενά από τον οφθαλμίατρο, διότι είναι επιρρεπή στην εμφάνιση ΠΔΑ.



ΕΙΚΟΝΑ 9. Προπαραγωγική μορφή ΔΑ. Διακρίνεται αμφιβληστροειδικές αιμορραγίες, άφθονα βαμβακόμορφα εξιδρώματα και διάταση των φλεβών, κυρίως του κάτω κροταφικού κλάδου.

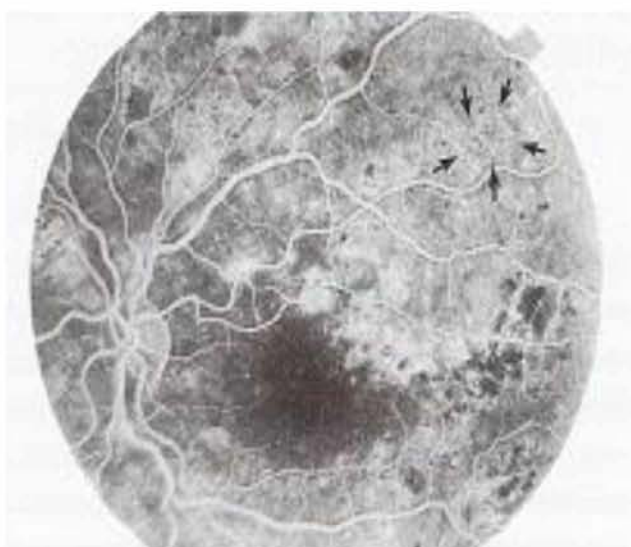
ΜΑΛΑΚΑ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ

Τα μαλακά ή βαμβακόμορφα εξιδρώματα (cotton-woolspots) οφείλονται σε αποφράξεις των προτριχοειδικών αρτηριδίων της στιβάδας των νευρικών ινών. Η διακοπή της αξονοπλασματικής ροής των οπτικών ινών αντίστοιχα προς την περιοχή της ισχαιμίας και η επακόλουθη συσσώρευση του μεταφερομένου υλικού των νευρικών αξόνων είναι υπεύθυνες για τη λευκή και αδιαφανή εμφάνιση αυτών των αλλοιώσεων (Εικόνα 9).

Κατά την έμμεση οφθαλμοσκόπηση τα μαλακά εξιδρώματα βρίσκονται χαρακτηριστικά πολύ κοντά στα αρτηρίδια του αμφιβληστροειδούς, ενώ στη φλουοραγγειογραφία εμφανίζονται υποφθορίζοντα λόγω κάλυψης του υποκείμενου φθορισμού.

ΕΝΔΟΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΙΚΕΣ ΜΙΚΡΟΑΓΓΕΙΑΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Οι ενδοαμφιβληστροειδικές μικροαγγειακές ανωμαλίες (intraretinal microvascular abnormalities-IRMA) είναι διεσταλμένα ενδοαμφιβληστροειδικά τριχοειδή, που βρίσκονται συνήθως στα όρια ισχαιμικών περιοχών και φαίνεται να λειτουργούν σαν παράπλευρα αγγεία. Κλινικά αυτές οι αλλοιώσεις μπορεί να μοιάζουν με τα επιφανειακά νεοαγγεία του αμφιβληστροειδούς, αλλά διαχωρίζονται από την ενδοαμφιβληστροειδική τους εντόπιση, την απουσία έντονης διαρροής στη φλουοραγγειογραφία και την έλλειψη διασταύρωσής τους με τα μεγάλα αγγεία (Εικόνα 10).



ΕΙΚΟΝΑ 10. Φλουοραγγειογραφία μίας περίπτωσης αρχόμενης ΠρΠΔΑ. Μεταξύ των βελών περιλαμβάνεται περιοχή με ενδοαμφιβληστροειδικές μικροαγγειακές ανωμαλίες (IRMA).

ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΛΕΒΩΝ

Οι σπουδαιότερες αλλοιώσεις των φλεβών στην ΠρΠΔΑ είναι η διάταση, η κομβολογοειδής διαμόρφωση, η ελίκωση και οι κατά θέσεις περισφίγγεις «σαν λουκάνικο».

ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΡΤΗΡΙΔΙΩΝ

Στένωση των αρτηριδίων και συχνά αποφράξεις που μοιάζουν με απόφραξη κλάδου της κεντρικής αρτηρίας του αμφιβληστροειδούς (ΚΑΑ). Ακόμη είναι δυνατόν να παρατηρήσουμε εκτεταμένες σκοτεινόχρωμες αιμορραγίες του αμφιβληστροειδούς, οφειλόμενες σε αιμορραγικά έμφρακτα.

➤ Παραγωγική μορφή διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας (ΠΔΑ)

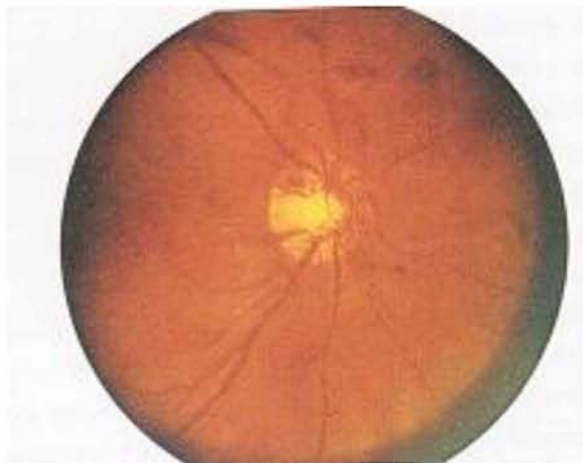
Η μορφή αυτή προσβάλλει περίπου το 5% των διαβητικών ασθενών. Ασθενείς με ινσουλινοεξαρτώμενο διαβήτη κινδυνεύουν περισσότερο να παρουσιάσουν ΠΔΑ, αφού περίπου το 60% των περιπτώσεων μετά από 30 έτη προσβάλλονται από τη μορφή αυτή. Χαρακτηριστικά ευρήματα της ΠΔΑ είναι η νεοαγγείωση και οι ενδοϋαλοειδικές αιμορραγίες.

ΝΕΟΑΓΓΕΙΩΣΗ

Αιτία της ανάπτυξης νεοαγγείων στον αμφιβληστροειδή είναι η ισχαιμία και για να εμφανιστεί νεοαγγείωση επίσης κεφαλής του οπτικού νεύρου πρέπει να παρουσιάζει ισχαιμία περισσότερο από το 1/4 του αμφιβληστροειδούς (16).

Νεοαγγεία μπορούν να αναπτυχθούν στη περιοχή της θηλής (Εικόνα 11) και στην περιοχή των μεγάλων αγγείων κροταφικά της θηλής.

Τα νεόπλαστα αγγεία προέρχονται από τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων των φλεβιδίων. Στην αρχή εξαπλώνονται ενδοαμφιβληστροειδικά και κατόπιν διέρχονται διαμέσου ελλειμμάτων της έσω αφοριστικής μεμβράνης για να απλωθούν στο δυνητικό υαλοειδο-αμφιβληστροειδικό χώρο.



ΕΙΚΟΝΑ 11. Νεοαγγείωση του οπτικού νεύρου σε αρχόμενη ΠΔΑ

Συγχρόνως με τη δημιουργία των νεοαγγείων αναπτύσσονται ινοβλάστες, οι οποίοι περιβάλλουν τα νεοαγγεία, δημιουργώντας μία ινοαγγειακή επιαμφιβληστροειδική μεμβράνη, που καλύπτει τον αμφιβληστροειδή αντίστοιχα προς την περιοχή της νεοαγγείωσης. Στην αρχή η μεμβράνη αυτή δεν διακρίνεται οφθαλμοσκοπικά, αργότερα

όμως θολώνει και γίνεται ορατή. Τα ινώδη συστατικά, τα οποία έχουν την τάση να συστέλλονται, είναι δύσκολο να φανούν στην οφθαλμοσκόπηση, αργότερα όμως καθίστανται περισσότερο εμφανή.

Η περαιτέρω ανάπτυξη της νεοαγγείωσης εξαρτάται από την ύπαρξη ή όχι αποκόλλησης του υαλοειδούς. Η οπίσθια αποκόλληση του υαλοειδούς στους διαβητικούς γίνεται διαφορετικά από ό,τι στα μη διαβητικά άτομα. Συνήθως, η οπίσθια αποκόλληση του υαλοειδούς είναι ατελής, λόγω της ισχυρής πρόσφυσης του φλοιώδους υαλοειδούς με τις περιοχές ινοαγγειακής παραγωγής και επιτελείται βραδέως, λόγω σταδιακής ρίκνωσης ολόκληρου του υαλοειδούς.

Όταν το υαλοειδές αρχίζει να αποκολλάται από τον αμφιβληστροειδή, τα νεοαγγεία το ακολουθούν και αναπτύσσονται, στην αρχή επί της οπίσθιας επιφάνειας της οπίσθιας υαλοειδικής μεμβράνης και στη συνέχεια, εντός του υαλοειδούς, με σύγχρονη ανάπτυξη συνδετικού ιστού. Οινοαγγειακός ιστός συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται κατά μήκος της οπίσθιας επιφάνειας του μερικώς αποκολλημένου υαλοειδούς, με αποτέλεσμα την τοπική αποκόλληση του (ελκτική αποκόλληση) ή τη δημιουργία ρωγμής και στη συνέχεια ρηγματογενή αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς ή ρήξη των εύθραυστων νεοαγγείων και εμφάνιση εκτεταμένων αιμορραγιών μέσα στην υαλοειδική κοιλότητα.

ΗΠΔΑ μέχρι την εμφάνιση της αιμορραγίας του υαλοειδούς είναι εντελώς ασυμπτωματική και μπορεί να αποκαλυφθεί μόνο με οφθαλμολογική εξέταση ρουτίνας.

ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΕΣ

Οι αιμορραγίες από τα νεοαγγεία είναι εκτεταμένες και συμβαίνουν, είτε μέσα στο υαλοειδές (ενδοϋαλοειδική αιμορραγία), είτε στον οπισθοϋαλοειδικό χώρο, δηλαδή ανάμεσα στην οπίσθια υαλοειδική επιφάνεια και την επιφάνεια του αμφιβληστροειδούς (προαμφιβληστροειδική αιμορραγία), που στη συνέχεια διαχέονται μέσα στην υαλοειδική κοιλότητα. Η προαμφιβληστροειδική αιμορραγία έχει μηννοειδές σχήμα και οριοθετεί την έκταση της αποκόλλησης του υαλοειδούς, ενώ μερικές φορές διαπερνά την οπίσθια υαλοειδική επιφάνεια και εισέρχεται εντός του υαλοειδούς.

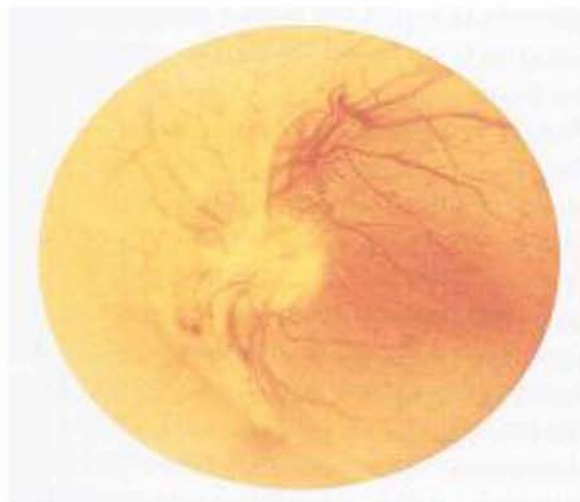
Συχνά παρατηρούνται εκτεταμένες αιμορραγίες κάτω από την έσω αφοριστική μεμβράνη του αμφιβληστροειδούς, όπου παραμένουν για πολύ χρονικό διάστημα, έως ότου ραγεί η εν λόγω μεμβράνη και διαχυθεί η αιμορραγία στην υαλοειδική κοιλότητα.

Η διάχυση εκτεταμένης αιμορραγίας στο υαλοειδές έχει σαν συνέπεια την απώλεια της όρασης. Μετά από μερικές εβδομάδες, όταν απορροφηθεί η αιμορραγία και καθαρίσει το

υαλοειδές, η όραση επανέρχεται. Ο κίνδυνος όμως, επανάληψης της αιμορραγίας είναι μεγάλος και, όταν η αιμορραγία επαναληφθεί μερικές φορές, τότε επέρχεται οργάνωση του υαλοειδούς με την ανάπτυξη άφθονου συνδετικού ιστού και μεμβρανών, με αποτέλεσμα την οριστική και σημαντική έκπτωση της όρασης.

Τελικό στάδιο της ΠΔΑ είναι η πλήρης οργάνωση και ανάπτυξη ινοαγγειακών μεμβρανών εντός του υαλοειδούς (Εικόνα 12) οι οποίες, καθώς συρρικνώνονται καταλήγουν στην καθολική αποκόλληση και καταστροφή του αμφιβληστροειδούς, με τελικό αποτέλεσμα την τύφλωση του ατόμου.

Ακόμη, καταστροφή του οφθαλμού μπορεί να επέλθει από δευτεροπαθές νεοαγγειακό γλαύκωμα λόγω ανάπτυξης νεοαγγείωσης στην ίριδα και τη γωνία του πρόσθιου θαλάμου.



ΕΙΚΟΝΑ 12. Προχωρημένο στάδιο παραγωγικής ΔΑ. Παρατηρούνται νεοαγγείωση και ανάπτυξη ινοαγγειακών μεμβρανών γύρω από τη θηλή και κατά μήκος των μεγάλων αγγείων.

ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΗ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ

➤ Προσβολή των αγγείων

Οι πρώτες αγγειακές μεταβολές εμφανίζονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων που στρέφεται προς τον αυλό του αγγείου, ταυτόχρονα με αλλαγές του ιξώδους και των ρεολογικών ιδιοτήτων του αίματος. Εγκαθίσταται έτσι μία προφλεγμονώδης διεργασία που καταργεί τις αντιθρομβογενετικές ιδιότητες του αίματος και ευνοεί την πρόσφυση στο τοίχωμα λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων. Το προφίλ των κυτταροκινών και των αυξητικών παραγόντων αλλάζει και η διαπερατότητα του έσω αιματο-αμφιβληστροειδικού φραγμού αυξάνεται. Κατά την εξέλιξη της ΔΑ, αυτή η προφλεγμονώδης διεργασία εξελίσσεται προς μία υποξεία αλλά επίμονη φλεγμονή.

Μία από τις πρώτες μεταβολές που παρατηρούνται στο επίπεδο των τριχοειδών του αμφιβληστροειδούς είναι η πάχυνση της βασικής μεμβράνης (26), η οποία είναι εστιακή και περιορίζεται στην επιφάνεια μεταξύ του ενδοθηλιακού κυττάρου και της γλοίας που το περιβάλλει.

➤ Προσβολή του νευρικού και νευρογλοιακού ιστού

Με την ανάπτυξη της ΔΑ, τα κύτταρα του νευρικού παρεγχύματος, δηλαδή οι νευρώνες και τα γλοιακά κύτταρα, υφίστανται επίσης τις συνέπειες της υπεργλυκαιμίας, με πρώτη εκδήλωση τις λειτουργικές μεταβολές, που καταγράφονται με το ηλεκτροαμφιβληστροειδογράφημα και είναι ανιχνεύσιμες πριν από την εμφάνιση των πρώτων σημείων της μικροαγγειοπάθειας, γεγονός που υποδηλώνει ότι η υπεργλυκαιμία ασκεί άμεση τοξική επίδραση στους νευρώνες και τα γλοιακά κύτταρα.

Οι ηλεκτροαμφιβληστροειδογραφικές ανωμαλίες συνίστανται σε δυσλειτουργία των κυττάρων της έσω πυρηνικής στιβάδας και της στιβάδας των γαγγλιακών κυττάρων (37). Επιπλέον, οι διαταραχές της αντίληψης των χρωμάτων (38) και της ευαισθησίας στην αντίθεση (39), που παρατηρούνται στους διαβητικούς ασθενείς, αντανακλούν επίσης μια προσβολή του αμφιβληστροειδικού νευρικού ιστού.

ΑΙΜΟΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΤΗ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ

Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης της ΔΑ οι βιοχημικές και ανατομικές διαταραχές του αμφιβληστροειδικού αγγειακού δικτύου μεταβάλλουν την αιματική ροή στον αμφιβληστροειδή, ανάλογα με τη βαρύτητα της μεταβολικής διαταραχής. Με τη βοήθεια διαφόρων τεχνικών, οι αιμοδυναμικές αυτές διαταραχές έχουν μελετηθεί σε σημαντικό βαθμό.

➤ **Σακχαρώδης διαβήτης χωρίς σημεία ΔΑ**

Η διάμετρος των αγγείων και η ολική αμφιβληστροειδική αιματική ροή φαίνονται να αυξάνονται ήδη σε ασθενείς με αρχόμενο ΣΔ1, παρά την απουσία κλινικών σημείων ΔΑ(40). Η αγγειοδιαστολή στον αμφιβληστροειδή φαίνεται ότι προηγείται της ανάπτυξης των βλαβών της ΔΑ, υπάρχουν όμως, μελέτες τα αποτελέσματα των οποίων δεν δείχνουν μεταβολή της αιματικής ροής (41), ενώ η φλουοραγγειογραφία μπορεί να δείξει καθυστέρηση πλήρωσης του αγγειακού δικτύου (42).

➤ **Μη παραγωγική ΔΑ**

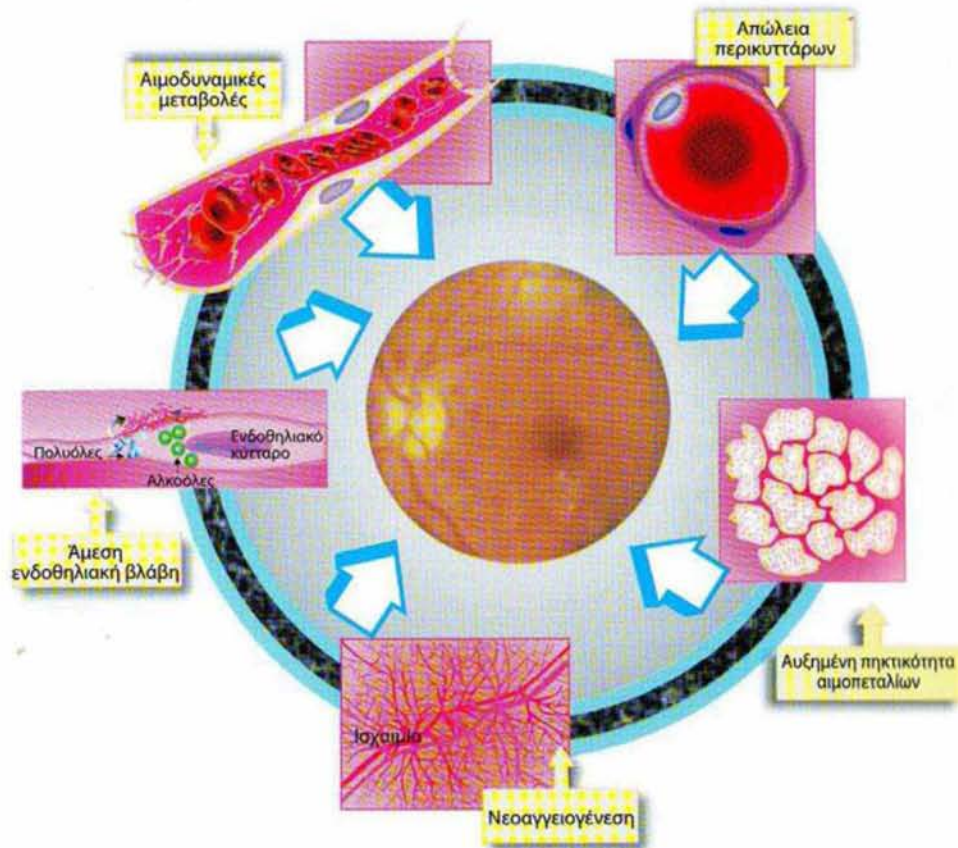
Στο στάδιο της μη παραγωγικής ΔΑ, έχει βρεθεί αύξηση της αμφιβληστροειδικής αιματικής ροής, με τη χρήση της ταχυμετρίας Doppler(43) και της ψηφιακής αγγειογραφίας(44).

Από την άλλη πλευρά, η φλουοραγγειογραφία μπορεί να δείξει παράταση του χρόνου αρτηριοφλεβικής διάβασης (45), που θα μπορούσε να ερμηνευτεί ως επιβράδυνση της κυκλοφορίας και μείωση της αιματικής ροής, αλλά για ασφαλή συμπεράσματα απαιτούνται ταυτόχρονα και μετρήσεις της διαμέτρου των αγγείων.

➤ **Παραγωγική ΔΑ**

Σε ασθενείς με παραγωγική ΔΑ πριν από θεραπεία με λέιζερ, έχει περιγραφεί αύξηση (46), μείωση (47) ή απουσία μεταβολής (48) της αμφιβληστροειδικής αιματικής ροής. Αυτό παρατηρείται γιατί η αιμοδυναμική κατάστασής του αμφιβληστροειδούς εξαρτάται από την έκταση των βλαβών. Έτσι, σημαντική μείωση της αιματικής ροής στον αμφιβληστροειδή, για παράδειγμα, συσχετίζεται με σοβαρή τριχοειδική ερήμωση και ισχαιμία της ωχράς κηλίδας (47).

Όμως, μετά από παναμφιβληστροειδική φωτοπηξία με λέιζερ, οι μελέτες συγκλίνουν στο συμπέρασμα ότι συμβαίνει αγγειοσύσπαση στον αμφιβληστροειδή (49) και μείωση της αμφιβληστροειδικής αιματικής ροής (50), που οφείλεται είτε σε μείωση της κατανάλωσης οξυγόνου στον έξω αμφιβληστροειδή, είτε σε αγγειοσύσπαση στο αμφιβληστροειδικό δίκτυο, λόγω αύξησης της ποσότητας του οξυγόνου που φθάνει στον έσω αμφιβληστροειδή από τη χοριοειδική κυκλοφορία (51).



ΕΙΚΟΝΑ 13. Αιμοδυναμικές διαταραχές

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ

Για ορισμένους τύπους ΔΑ(π.χ. παραγωγική ΔΑ), υπάρχουν αποτελεσματικέςθεραπείες (όπως η φωτοπηξία), αλλά πολλοί ασθενείς προσέρχονται πολύ αργά, όταν η θεραπεία δεν είναι πλέον αποτελεσματική.

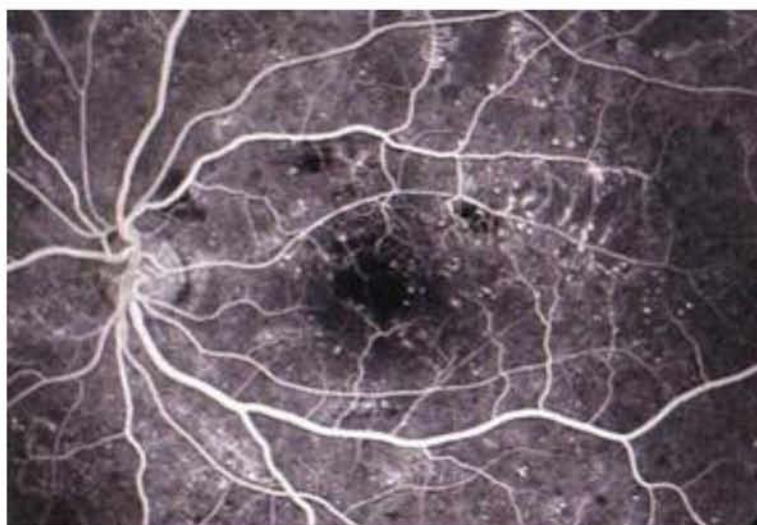
Ο προσυμπτωματικός έλεγχος των διαβητικών ασθενών για πρώιμα σημεία ΔΑ, που είναι θεραπεύσιμα, βελτιώνει την πρόγνωση, όσον αφορά την όρασηκαι αποτελεί αναγκαίο μέτρο για τη βελτίωση των επιδημιολογικών δεικτών της ΔΑ.

Συντηρητικά μέτρα, όπως είναι η καλή ρύθμιση του σακχάρου του αίματος, ο έλεγχος της αρτηριακής υπέρτασης και η ρύθμιση των επιπέδων των λιπιδίων του αίματος θεωρούνται πολύ σημαντικά για την καταπολέμηση της ΔΑ και την πρόληψη των επιπλοκών της (32). Βασικά διαγνωστικά εργαλεία είναι η φλουρορααγγειογραφία αμφιβληστροειδούς και η τομογραφία οπτικού συντονισμού.

➤ **Φλουρορααγγειογραφία αμφιβληστροειδούς**

Η αγγειογραφία με φλουορεσεΐνη βασίζεται στην ιδιότητα του φλουορεσεΐνικού νατρίου να απαντά με φθορισμό στη διέγερση με μονοχρωματικό κυανό φως, με μήκος κύματος 465-490 nm. Το φως που εκπέμπει η φλουορεσεΐνη σε αυτές τις συνθήκες, είναι στο φάσμα του πράσινου-κίτρινου με μήκος κύματος 520-530 nm(36).

Η φλουορεσεΐνη, όπως και ο ορός του αίματος, δεν διαπερνά τους αιματο-αμφιβληστροειδικούς φραγμούς, τόσο τον έξω (μεγάγχρουν επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς) όσο και τον έσω (ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του αμφιβληστροειδούς).



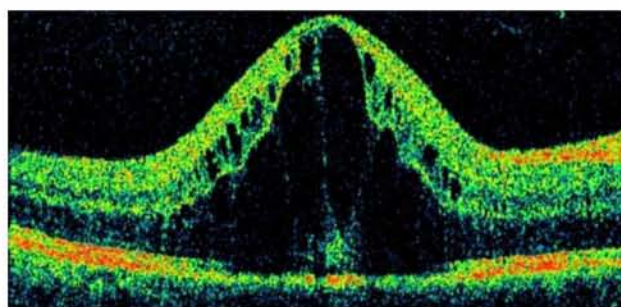
ΕΙΚΟΝΑ 14.Φλουορααγγειογραφία

Κάθε παθολογία του αμφιβληστροειδούς που συνοδεύεται από διάσπαση αυτών των φραγμών παρουσιάζει την φλουροαγγειογραφική εικόνα υπερφθορισμού, όπως παρατηρείται στο διαβητικό οίδημα της ωχράς και στην ΠΔΑ, ενώ υποφθορισμός που μπορεί να οφείλεται σε απόκρυψη του φυσιολογικού φθορισμού από παθολογικά στοιχεία, όπως αιμορραγίες (υποαμφιβληστροειδικές, ενδοαμφιβληστροειδικές και προαμφιβληστροειδικές) και σκληρά εξιδρώματα, παρατηρείται στη τριχοειδική αμφιβληστροειδική απόφραξη.

➤ Τομογραφία οπτικού συντονισμού

Η τομογραφία οπτικού συντονισμού (Optical Coherent Tomography-OCT) βασίζεται στην ιδιότητα του υπέρυθρου φάσματος του φωτός (μήκους 830-850 nm) να υφίσταται μεταβολές στις φυσικές του ιδιότητες όταν περνάει μέσα από έναν ημιδιαφανή ιστό.

Κατά τη μέθοδο αυτή η φωτεινή δέσμη σαρώνει τον αμφιβληστροειδή κατά μήκος της προεπιλεγμένης διαδρομής και σε κάθε σάρωση πραγματοποιείται ένας αριθμός προκαθορισμένων αξονικών λήψεων κάθετα προς το επίπεδο της σάρωσης. Η ένταση του φωτός που ανακλάται από τα στοιχεία του ιστού αναπαριστάται με 16 τόνους του γκριζου, από το λευκό ως το μαύρο. Τα δεδομένα, μετά από ψηφιακή επεξεργασία, αποδίδονται ως διδιάστατη ψευδοχρωματική απεικόνιση, όπου το κόκκινο χρώμα αντιστοιχεί σε υψηλή αντανάκλαστικότητα (Εικόνα 15).



ΕΙΚΟΝΑ 15.OCT

Η OCT θεωρείται απαραίτητη για τη μελέτη και διάγνωση του διαβητικού οιδήματος της ωχράς, αφού πραγματοποιεί τη μέτρηση του πάχους του αμφιβληστροειδούς και την καταγραφή των μεταβολών της δομής στην περιοχή της ωχράς. Η OCT της διαβητικής ωχράς δείχνει κυστικούς χώρους χαμηλής αντανάκλαστικότητας, οι οποίοι αντιστοιχούν σε συσσωρεύσεις εξωκυττάριου υγρού (οίδημα) και εστιακές περιοχές υψηλής αντανάκλαστικότητας, που αντιστοιχούν σε σκληρά εξιδρώματα και αιμορραγίες (15).

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΤΗ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ

Πολλοί παράγοντες κινδύνου ενέχονται στην εμφάνιση και την εξέλιξη της ΔΑ (Πίνακας 6), με πιο σημαντικούς τη διάρκεια του ΣΔκαι την υπεργλυκαιμία(18) & (17).

Σύμφωνα με μελέτες, η καλή ρύθμιση του σακχάρου λειτουργεί ευεργετικά, τόσο στην επίπτωση όσο και στην εξέλιξη της ΔΑ, ενώ συχνά παρατηρείται επιδείνωση της ΔΑ κατά τους πρώτους μήνες βελτίωσης της ρύθμισης του σακχάρου στο αίμα με χορήγηση ινσουλίνης και στους δύο τύπους του διαβήτη (19), (20), (21).

Άλλες μελέτες εμφανίζουν σχέση ανάμεσα στον έλεγχο της αρτηριακής πίεσης και τη ΔΑ (22). Η σωστή ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης στους ασθενείς με ΣΔ2 είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της επίπτωσης των μικροαγγειακών επιπλοκών κατά 37%, της εξέλιξης της ΔΑ κατά 34% και της απώλειας όρασης κατά 47% στα 9 έτη(23). Σύμφωνα με τον Hovind και συν., η σωστή ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης με πρόωμη εγκατάσταση αντιυπερτασικής αγωγής, κυρίως με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης II, οδήγησε σε μείωση της επίπτωσης της ΔΑ στα 10 έτη (24).

Άλλοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης ή εξέλιξης της ΔΑ που αναφέρονται είναι η ύπαρξη νεφροπάθειας (52), η υπερλιπιδαιμία (27), η παχυσαρκία (28), ενώ και η εγκυμοσύνη επιβαρύνει τη φυσική πορεία της ΔΑ (53), ιδιαίτερα το δεύτερο τρίμηνο της κύησης, ενώ ο κίνδυνος μειώνεται μετά τον τοκετό(25).

Ο χρόνος, ως ηλικία έναρξης του σακχαρώδη διαβήτη, ως διάρκεια (κυρίως μετά την εφηβεία) και ως προσδόκιμο επιβίωσης

Η υπεργλυκαιμία

Η εγκυμοσύνη (ιδίως στην παραγωγική ΔΑ και το διαβήτη τύπου 1)

Η αυξημένη γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη

Η υπέρταση (ιδιοπαθής ή νεφρογενής)

Η λευκοματινουρία και η προσβολή των νεφρών

Η θεραπεία με ινσουλίνη

Το βάρος και η παχυσαρκία

Η υπερλιπιδαιμία

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Παράγοντες κινδύνου στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (Κολιόπουλος, 2000)

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ

Η εμφάνιση της ΔΑ σε ασθενείς με ΣΔ, των οποίων ο ΣΔ έχει διαγνωστεί πριν από τα 30 έτη είναι 47%-75%, ενώ η συχνότητα της ΠΔΑ κυμαίνεται από 10% -23% (28) &(29).

Στους ασθενείς με ΣΔ1 και για διάρκεια της νόσου 5-10 χρόνια η συχνότητα της ΔΑ ανέρχεται στο 27% και για διάρκεια >10 ετών ανέρχεται στο 7%. Όταν όμως η διάρκεια της νόσου ξεπεράσει τα 30 χρόνια, τότε η συχνότητα της ΔΑ αυξάνεται σημαντικά και ανέρχεται στο 90%-95%.

Στους ασθενείς με ΣΔ2 που λαμβάνουν υπογλυκαιμικά φάρμακα από τοστόμα, ο επιπολασμός της ΔΑ κυμαίνεται από 17% -65%, ενώ της ΠΔΑ είναι 1,4%-8,8%. Αντίθετα, στους ασθενείς με ΣΔ2 που λαμβάνουν ινσουλίνη, ο επιπολασμός της ΔΑ και της ΠΔΑ είναι αυξημένος.

Η διαβητική ωχροπάθεια και ιδιαίτερα το διαβητικό οίδημα της ωχράς κηλίδας είναι η κύρια αιτία μείωσης της όρασης στους διαβητικούς ασθενείς και ανευρίσκεται περίπου στο 10% του διαβητικού πληθυσμού (30).

Σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες δεν υπάρχουν αξιόπιστες πληροφορίες για τον επιπολασμό και την επίπτωση της τύφλωσης από σακχαρώδη διαβήτη, κυρίως εξαιτίας της έλλειψης καταχώρησής της. Εντούτοις, η πλειοψηφία των επιδημιολογικών μελετών αναφέρει τη ΔΑ ανάμεσα στις πέντε πρώτες αιτίες τύφλωσης, μαζί με την ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας, το γλαύκωμα, τον καταρράκτη και την εκφυλιστική μυωπία. Η ΔΑ εμφανίζεται ως η πρώτη αιτία τύφλωσης πριν από την ηλικία των 50 ετών (31) και θεωρείται η κύρια αιτία μόνιμης τύφλωσης στους ασθενείς της εργασιακά ενεργής ηλικίας στο βιομηχανοποιημένο κόσμο (54).

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ

➤ Συντηρητική θεραπεία

Η συντηρητική και φαρμακευτική θεραπεία της ΔΑ είναι ουσιαστικά η ίδια με εκείνη του ΣΔ.

Η αυστηρή ρύθμιση της γλυκαιμίας στους διαβητικούς προφυλάσσει ή τουλάχιστον αναβάλλει την εμφάνιση της ΔΑ. Μελέτες έχουν δείξει την ευνοϊκή επίδραση της σωστής ρύθμισης του σακχάρου κατά της εξέλιξης της ΔΑ, τόσο σε ασθενείς με ΣΔ1 όσο και σε ασθενείς με ΣΔ2. Συγκεκριμένα, ρύθμιση του σακχάρου με εντατική ινσουλinoθεραπεία σε ασθενείς με ΣΔ1 κατά τη διάρκεια 9 ετών επιτρέπει μείωση κατά 27% του κινδύνου εμφάνισης ΔΑ και κατά 76% του κινδύνου εξέλιξης της (19), ενώ στους ασθενείς με ΣΔ2 η σωστή ρύθμιση του σακχάρου κατά της επίπτωσης μικροαγγειακών επιπλοκών και κατά της εξέλιξης της ΔΑ, μείωσε την εμφάνιση της κατά 20%, (23).

Επίσης, ευνοϊκή επίδραση στην εξέλιξη της ΔΑ στους ασθενείς με ΣΔ2 έχει και η σωστή ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (23). Συγκεκριμένα, η ελάττωση της αρτηριακής πίεσης και η φυσιολογική πίεση οδήγησε σε μείωση της εξέλιξης της ΔΑ, ανεξάρτητα από το αντιυπερτασικό φάρμακο που χρησιμοποιήθηκε (αναστολέας μετατροπτικού ενζύμου ή αναστολέας ασβεστίου), (35).

Δεδομένου ότι ορισμένοι συστηματικοί παράγοντες, όπως η καρδιοπάθεια, η βλάβη των νεφρών, η υποπρωτεϊναιμία, η αναιμία και η υπερλιπιδαιμία, είναι παράγοντες επικινδυνότητας για τη ΔΑ, κρίνεται απαραίτητη η αντιμετώπιση τους σε συνεργασία με ειδικούς παθολόγους.

➤ Φαρμακευτική θεραπεία

Εκτός από τα φάρμακα που είναι απαραίτητα για τη συντηρητική αντιμετώπιση και τον έλεγχο της γλυκαιμίας, της αρτηριακής πίεσης και των λιπιδίων που αναφέρθηκαν πιο πάνω, έχουν αναπτυχθεί και δοκιμάζονται ειδικές θεραπείες (Πίνακας 7), αλλά τα κλινικά αποτελέσματα δεν είναι εντυπωσιακά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.Φαρμακευτικές αγωγές για τη ΔΑ

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ	ΦΑΡΜΑΚΟ
Αναστολείς της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC)	PKC412 Ρουβοξισταυρίνη
Αναστολείς της ρεδοκτάσης της αλδόζης	Σορβινίλη Τολρεστάτη Αμινογουανιδίνη
Αναστολείς του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης	Λισινοπρίλης Καντεσαρτάνης
Αναστολείς αυξητικών παραγόντων	Οκτρεοτίδη Αναστολέα των υποδοχέων της αυξητικής ορμόνης Pegvisomant

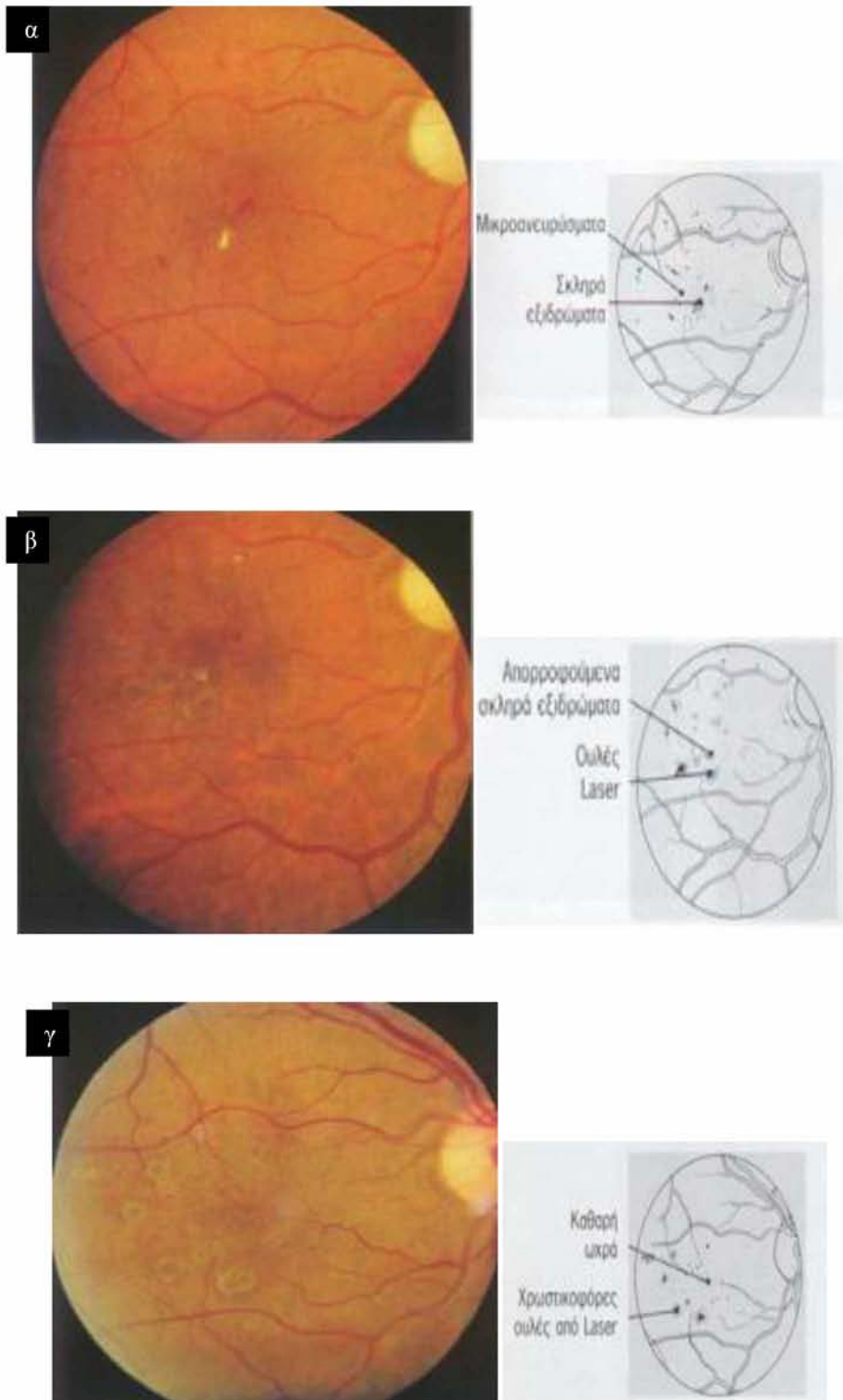
➤ Χειρουργική θεραπεία

Τα τελευταία χρόνια η εφαρμογή μεθόδων, όπως είναι η φωτοπηξία με Argon-laser, η κρυοπηξία και η βιτρεκτομή στην αντιμετώπιση των διαφόρων μορφών ΔΑ, έδωσαν ελπίδες στους πάσχοντες διαβητικούς.

Laser θεραπεία της παραγωγικής ΔΑ - παναμφιβληστροειδική φωτοπηξία

Ο ακριβής μηχανισμός δράσης της φωτοπηξίας (PKP) δεν είναι γνωστός, αλλά υποστηρίζεται ότι με την τέλεια καταστροφή των υποξαιμικών περιοχών του αμφιβληστροειδούς, μεταφέρεται περισσότερο οξυγόνο στις υπόλοιπες περιοχές του αμφιβληστροειδούς.

Η φωτοπηξία μπορεί να αυξάνει τη διάχυση του οξυγόνου από τη χοριοτριχοειδική στοιβάδα του χοριοειδούς προς τον αμφιβληστροειδή. Η βελτίωση της οξυγόνωσης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της υδροστατικής πίεσης στα προτριχοειδή και στα τριχοειδή και την ελάττωση της παραγωγής του VEGF. Ο συνδυασμός της ελάττωσης της υδροστατικής πίεσης και της συγκέντρωσης του VEGF συμβάλλει στον περιορισμό της διαπερατότητας των αγγείων και του οιδήματος και στην υποστροφή της νεοαγγείωσης, (55&58).



ΕΙΚΟΝΑ 16.Εικόνα ασθενούς με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια: (α) πριν, (β) αμέσως μετά και (γ) πολύαργότερα της εφαρμογής Laser φωτοπηξίας.

Η τεχνική της παναμφιβληστροειδικής φωτοπηξίας έχει ως στόχο να προκληθούν εγκαύματα με το laser στη μέση περιφέρεια του αμφιβληστροειδούς, δηλαδή στην περιοχή που εκτείνεται ανάμεσα σε κεντρική περιοχή και τον ισημερινό του βολβού. Ο ισημερινός ορίζεται στην βιομικροσκοπική εικόνα του βυθού από τις περιδίνητες φλέβες. Η παναμφιβληστροειδική φωτοπηξία ολοκληρώνεται, συνήθως, σε τρεις συνεδρίες:

- 1^η: Στο κάτω τριτημοριο του αμφιβληστροειδούς
- 2^η: Στις περιοχές ρινικά της οπτικής θηλής και κροταφικά της ώχρας
- 3^η: Στο άνω τριτημοριο του αμφιβληστροειδούς

Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατό να συνεχιστεί η θεραπεία, ακόμα και σε περιπτώσεις όπου ανάμεσα σε συνεδρίες εμφανίζονται καινούριες ενδοϋαλοειδικές αιμορραγίες, αφού το αίμα κατακάθεται στο κάτω τμήμα της υαλοειδικής κοιλότητας. Η εκτέλεση της θεραπείας σε τρεις συνεδρίες έχει ως σκοπό την μείωση της δυσφορίας του ασθενούς και τον περιορισμό των μετεγχειρητικών επιπλοκών (56, 59 &60).

Υαλοειδεκτομή

Με την πρόοδο που έχει σημειώσει η μικροχειρουργική του υαλοειδούς τα τελευταία χρόνια, η βιτρεκτομή, έχει σκοπό την αφαίρεση του οργανωμένου υαλοειδούς, των έλξεων επί του αμφιβληστροειδούς, καθώς και των επαμφιβληστροειδικών μεμβρανών (Πίνακας 8). Η βιτρεκτομή μπορεί να συνδυαστεί και με έγχυση ελαίου σιλικόνης εντός της υαλοειδικής κοιλότητας.

- σοβαρή και επίμονη ενδοϋαλοειδική αιμορραγία
- ελκτική αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς που αποκόλλά την ωχρά κηλίδα
- συνδεδασμένη ελκτική/ρηγματογενής αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς
- πυκνή αιμορραγία της ωχράς κηλίδας
- ελκτικό οίδημα της ωχράς κηλίδας
- γλαύκωμα από αιμολυμένα «σκιώδη» ερυθροκύτταρα (πιο σπάνια)
- νεοαγγείωση του προσθίου ημιμορίου με θολά μέσα (πιο σπάνια)

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Κλασικές ενδείξεις της υαλοειδεκτομής στη ΔΑ (Στάγκος 2002,Ρουμαρας 2008)

Παρά το γεγονός ότι οι καινούριες τεχνικές και ο σύγχρονος εξοπλισμός καθιστούν την οπίσθια υαλοειδεκτομή πιο ασφαλή απ' ότι πριν από μια δεκαετία, η επιλογή των ασθενών πρέπει να γίνεται πολύ προσεκτικά, αφού οι επιπλοκές της επέμβασης μπορεί να είναι πολύ σοβαρές και αφορούν: παραμονή της ενδοϋαλοειδικής αιμορραγίας, γλαύκωμα από ερυθροκύτταρα, αποκόλληση αμφιβληστροειδούς, πολλαπλασιασμός του ινώδους και αγγειακού στοιχείου στο πρόσθιο υαλοειδές σώμα, σύνδρομο αμφιβληστροειδικής ίνωσης, επιαμφιβληστροειδική μεμβράνη και ενδοφθαλμίτιδα (57).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟ

ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ

Το σύστημα της ινωδόλυσης είναι οικοδομημένο πάνω στην ίδια αρχή, όπως και το σύστημα της πήξεως.

Η ινωδόλυση περιλαμβάνει ένα σύνολο ενζυμικών αντιδράσεων με τελικό προϊόν του συστήματος τη δημιουργία πλασμίνης. Η πλασμίνη είναι το κεντρικό ένζυμο της ινωδόλυσης και το σύστημα αυτό ευθύνεται για την αποδόμηση της ινώσης, όταν η λειτουργία της ως επιδιορθωτής της αγγειακής βλάβης τελειώσει. Με τον μηχανισμό αυτό αποκαθίσταται η κυκλοφορία στο προσβεβλημένο αγγείο που είχε αποφραχτεί από τον αιμοστατικό θρόμβο (100).

Το σύστημα της ινωδόλυσης εκτός της κύριας πρωτεΐνης που είναι το πλασμινογόνο, περιλαμβάνει και τη λειτουργία των μηχανισμών ενεργοποίησης του πλασμινογόνου (όπως, tPA, ουρικινάση, κ.ά.) καθώς και το μηχανισμό καταστολής της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου (όπως, PAI-1, TAFI, α₂-AP, κ.ά.).

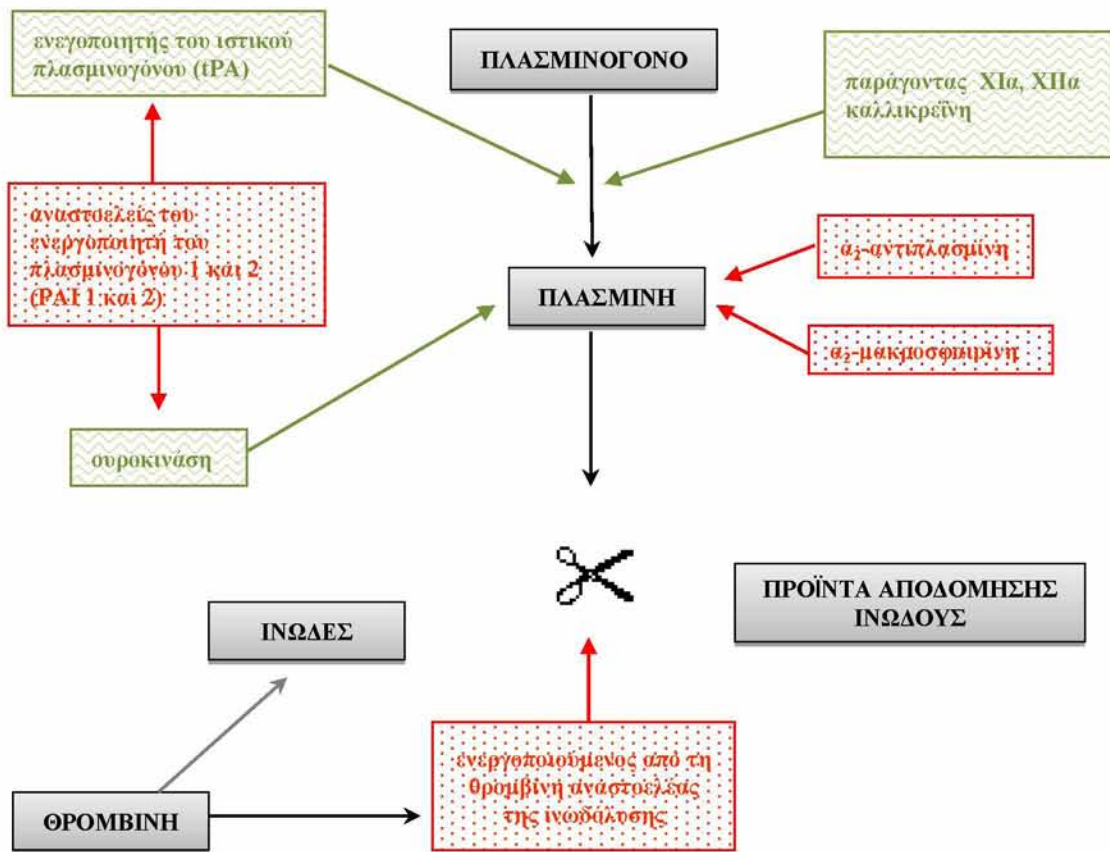
Η πορεία της ινωδόλυσης καθορίζεται αυστηρά από μία σειρά ενεργοποιητών, αναστολέων, υποδοχέων και συνενζύμων (Σχήμα 3).

ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟ

Το πλασμινογόνο συντίθεται κυρίως στο ήπαρ. Είναι προένζυμο που αποτελείται από μία αλυσίδα με ΜΒ 92 kDa, η οποία έχει 791 αμινοξέα που σχηματίζουν 24 δισουλφιδικούς δεσμούς. Το γονίδιο του πλασμινογόνου εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6 στη θέση 6q26 και αποτελείται από δίκλωνο DNA 52,2 kb, που περιέχει 19 εξόνια και 17 ιντρόνια (81).

Η ενεργοποίηση του πλασμινογόνου γίνεται με αποκοπή ενός διπεπτιδίου (Arg-Val στις θέσεις 560-561) και έτσι παράγεται η ενεργός πρωτεΐνη πλασμίνη, η οποία συμμετέχει σε πληθώρα βιολογικών φαινομένων (όπως, η θρομβόλυση), σε φαινόμενα ιστικής ανακατασκευής και στη μετακίνηση των κυττάρων (63).

Η συγκέντρωση του πλασμινογόνου στο πλάμα είναι ~1,5 μmol/l και εμπλέκεται κυρίως στη διατήρηση της αγγειακής ομοιόστασης (83).



ΣΧΗΜΑ3. Το σύστημα της ινωδόλυσης

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ

Οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου διακρίνονται κυρίως σε δύο κατηγορίες: τους ιστικούς ή εξωγενείς και τους πλασματικούς ή ενδογενείς.

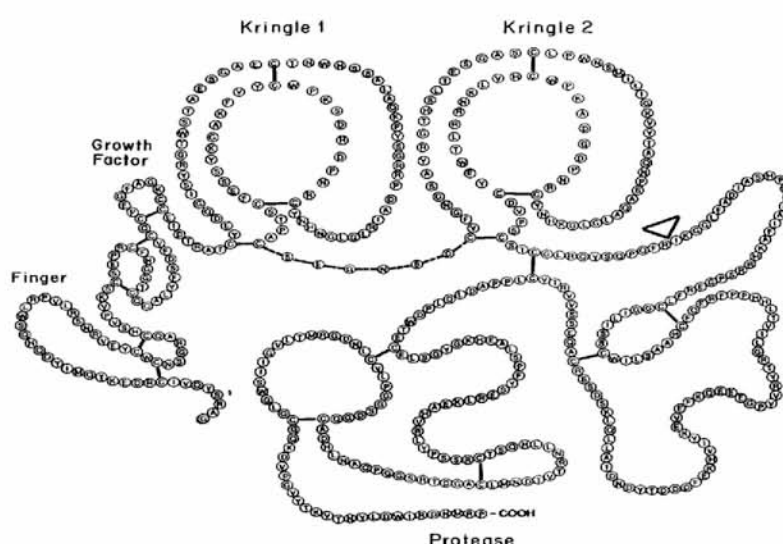
ΙΣΤΙΚΟΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ

➤ Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου

Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (TissuePlasminogenActivator-tPA) είναι ένας ενδογενής ενεργοποιητής του πλασμινογόνου που παράγεται από το αγγειακό ενδοθήλιο και αποτελείται από 527 αμινοξέα, τα οποία σχηματίζουν μία γλυκοπρωτεΐνη με ΜΒ ~72 kDa (Εικόνα 17). Το γονίδιου του ανθρώπινου tPA εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 8q12 και κωδικοποιείται από 14 εξόνια και 13 ιντρόνια (85).

Το tPA σχηματίζεται και εκκρίνεται από τα αρχικά από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και απελευθερώνεται στη κυκλοφορία από ερεθίσματα όπως, η θρομβίνη, η ισταμίνη, αλλά και η μυϊκή άσκηση, η οξεία φλεβική απόφραξη, κ.ά. (85).

Περιορισμένη υδρόλυση από την πλασμίνη μετατρέπει τον tPA σε μία δίλωνη μορφή με δισουλφιδικό δεσμό (α μορφή με 278 αμινοξέα και β μορφή με 253 αμινοξέα και το C-τελικό άκρο).



ΕΙΚΟΝΑ 17. Δομή tPA

Ο χρόνος ημίσειας ζωής του είναι εξαιρετικά μικρός (~5 λεπτά) και με την παρουσία της ινικής αυξάνει η καταλυτική δράση της tPA-εξαρτώμενης πλασμίνης, λόγω αύξησης της συγγένειας με το υπόστρωμά του.

➤ Σρεπτοκινάση

Η σρεπτοκινάση είναι μη ενζυμική πρωτεΐνη με MW 47 kDa που αποτελείται από μία μονή πολυπεπτιδική αλυσίδα, χωρίς δισουλφιδικούς δεσμούς. Παράγεται από την ομάδα C του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου και ενεργοποιεί έμμεσα το σύστημα της ινωδολύσης, σχηματίζοντας σύμπλεγμα με το πλασμινογόνο (Εικόνα 18).

Η ημιπερίοδος ζωής της σρεπτοκινάσης είναι 30 λεπτά και καταβόλιζεται σε μορφές απλών πολυπεπτιδίων ή και αμινοξέων, τα οποία αποβάλλονται με τα ούρα(61).



ΕΙΚΟΝΑ 18. Δομή σρεπτοκινάσης

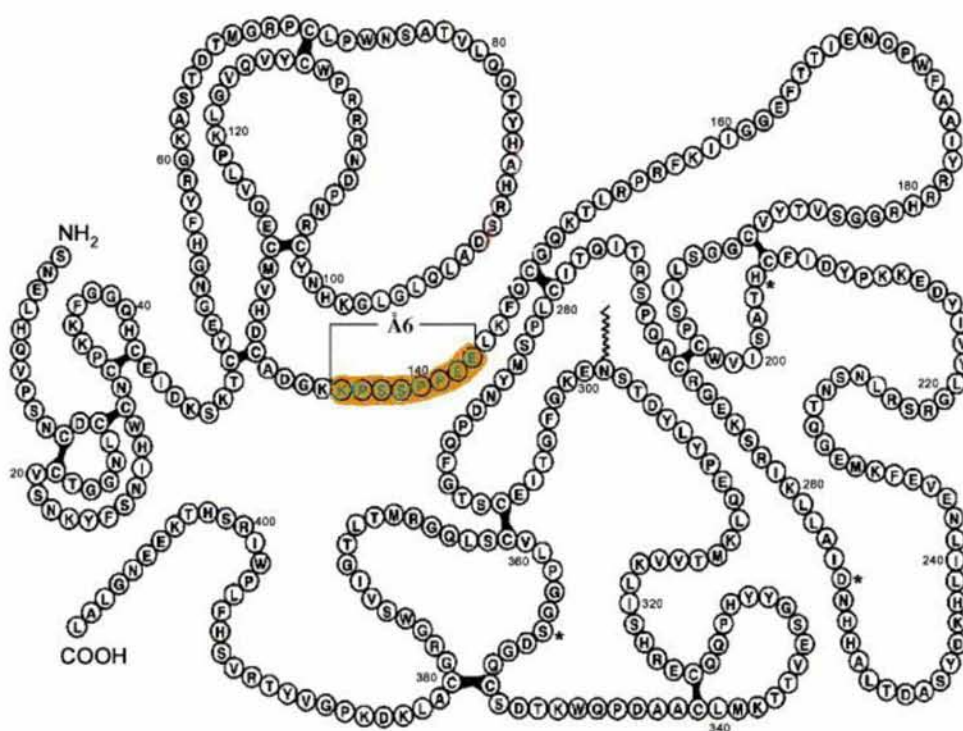
ΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ

➤ Ουροκινάση

Η ουροκινάση (urokinase-type Plasminogen Activator- u-PA) είναι μία σερινική πρωτεάση που αποτελείται από 411 αμινοξέα, τα οποία σχηματίζουν τη γλυκοπρωτεΐνη με MW 54 kDa (Εικόνα 19). Το γονίδιο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10 στη θέση 10q24 και αποτελείται από 11 εξόνια και 10 ιντρόνια. Η u-PA παράγεται στους νεφρούς και

απαντάται κυρίως στα ούρα και μετατρέπει άμεσα το πλασμινογόνο σε πλασμίνη (86)&(62).

Η u-Pa έχει πολύ χαμηλότερη συγγένεια για την ινική από τον tPA, αποτελεί όμως έναν αποτελεσματικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου με την παρουσία ή την απουσία ινικής.



ΕΙΚΟΝΑ 19. Δομή u-Pa

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΛΑΣΜΙΝΗΣ

➤ α_2 -Αντιπλασμίνη

Η α_2 -Αντιπλασμίνη (α_2 -AP) είναι μία γλυκοπρωτεΐνη μονής αλυσού με MB 70 kDa, που αποτελείται από 452 αμινοξέα. Η α_2 -AP παράγεται στο ήπαρ και δρα κυρίως στο αίμα, όπου κυκλοφορεί στο πλάσμα σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις (~0,9 $\mu\text{mol/l}$) και έχει χρόνο ημίσειας 2,4 ημέρες (87).

Η πλασμίνη που εκκρίνεται στο κυκλοφορούν αίμα ή γύρω από ένα θρόμβο ουδετεροποιείται άμεσα με το σχηματισμό ενός μη-αντιστρεπτού συμπλόκου με την α_2 -AP. Η αντίδραση αυτή είναι ταχύτατη, με αποτέλεσμα να εξουδετερώνεται άμεσα κάθε

μόριο πλασμίνης που δημιουργείται στη κυκλοφορία. Τελικά, η πρωτεολυτική δράση της πλασμίνης πορφυλάσσει έτσι τις πρωτεΐνες του πηκτικού μηχανισμού που κυκλοφορούν στο αίμα (όπως το ινωδογόνο). Το σύμπλοκο πλασμίνης-α₂-AP απομακρύνεται γρήγορα από τη κυκλοφορία μέσω του ήπατος (98).

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΗΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ

➤ Αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1

Ο αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1- PAI-1) ανήκει στην κατηγορία των αναστολέων της πρωτεάσης της σερίνης. Είναι μία γλυκοπρωτεΐνη μονής αλυσού (χωρίς κυστεΐνη) με MB 52 kDa, που εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα ηπατοκύτταρα, τα λιποκύτταρα και τα αιμοπετάλια (88). Το γονίδιο του PAI-1 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7 στη θέση 7q21.3-q22 και κωδικοποιείται από 9 εξόνια και 8 ιντρόνια (89). Ο PAI-1 ρυθμίζεται από δύο συμπαραγόντες, τη βιτρονεκτίνη που τον σταθεροποιεί στην ενεργό μορφή του και την ηπαρίνη, που αυξάνει την ενεργότητά του ως προς τη θρομβίνη. Η έκκριση του PAI-1 ενεργοποιείται από πολλές κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και λιποπρωτεΐνες, κοινές στη γενική φλεγμονώδη απόκριση (90).

Ο ρόλος του PAI-1 αφορά στην αναστολή της δράσης του ενζύμου το οποίο μετατρέπει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη και καταλύει τη διάλυση των ινικών στοιχείων των θρόμβων. Επομένως, ο PAI-1 είναι ο βασικός αναστολέας της ινωδόλυσης, αναστέλλοντας τη δράση των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου, tPA και uPA (Εικόνα 20).

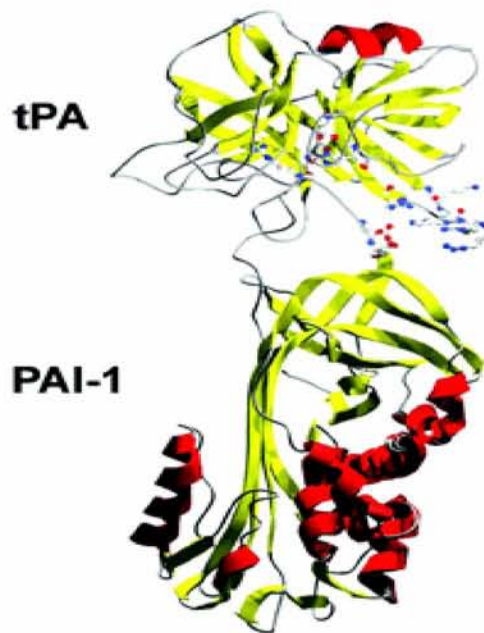
Υψηλά επίπεδα PAI-1 αναστέλλουν την ινωδόλυση και αυξάνουν τον κίνδυνο αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης.

Τα επίπεδα του PAI-1 παροσιάζουν διακύμανση στη διάρκεια της ημέρας, ανάλογα με την ινωδολυτική δραστηριότητα, με αποτέλεσμα τις πρωινές ώρες να παρατηρούνται τα χαμηλότερα επίπεδα, ενώ τις απογευματικές τα υψηλότερα. Μείωση της ινωδόλυσης οφειλόμενη στην υψηλή συγκέντρωση στο πλάσμα του PAI-1, μπορεί να προκαλέσει αυξημένη εναπόθεση ινώδους και στη συνέχεια σχηματισμό θρόμβου (69).

Στην προοπτική πολυκεντρική μελέτη European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities (70) υψηλά επίπεδα δραστηριότητας PAI-1 και αντιγόνου σχετίστηκαν σε ασθενείς με στηθάγχη με την εμφάνιση στεφανιαίων επεισοδίων, αλλά η συσχέτιση αυτή έπαυε να ισχύει μετά τον συνυπολογισμό και παραγόντων αναφερόμενων στην

αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως ο δείκτης βάρους σώματος και η συγκέντρωση στον ορό των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης.

Καταστολή της ινωδολύσης, οφειλόμενη στην υψηλή συγκέντρωση στο πλάσμα του PAI-1, παρατηρείται και σε νορμογλυκαιμικά άτομα με αντίσταση στην ινσουλίνη και σε ασθενείς με τύπου 2 διαβήτη.



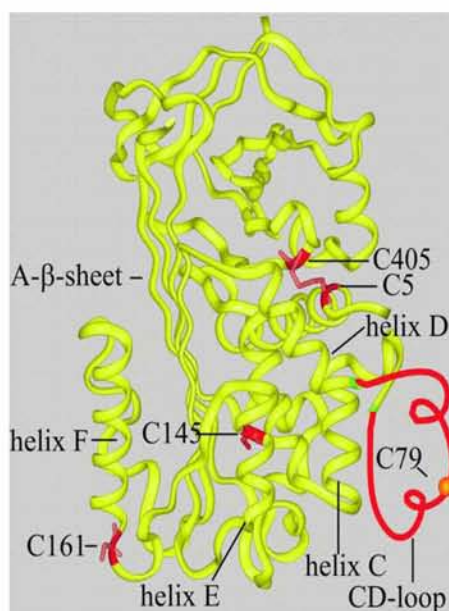
ΕΙΚΟΝΑ 20. Δημιουργία συμπλέγματος PAI-1 και tPA

Ο ΣΔ2 συσχετίζεται εκτός από την υπερινσουλιναιμία ή τη σχετική ανεπάρκεια σε ινσουλίνη με διαταραχή της λειτουργίας του συστήματος ινωδολύσης. Οι παράγοντες του συστήματος εμπλέκονται, όπως έχει αναφερθεί στην παθογένεση αγγειοπάθειας και θρομβοεμβολικών φαινομένων, ενώ η δραστηριότητά του ρυθμίζεται σε μεταγραφικό και μεταφραστικό επίπεδο από μεγάλο αριθμό αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών. Άλλωστε ο ΣΔ αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα πρόκλησης αθηροσκλήρωσης και στεφανιαίας νόσου, με ισχυρό σύνδεσμό τους τον PAI-1.

➤ **Αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου-2**

Ο αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου-2 (PlasminogenActivatorInhibotor 2- PAI-2) είναι μία πρωτεΐνη μήκους 415 αμινοξέων, (Εικόνα 21). Παράγεται κυρίως στον πλακούντα και κυκλοφορεί στο πλάσμα κατά τη διάρκεια της κύησης και του τοκετού (91). Απαντάται σε δύο μορφές, η μία είναι ενδοκυττάρια, μη γλυκοζυλιωμένη με MB 45 kDa, ενώ η δεύτερη είναι εξώκυττάρια γλυκοζυλιωμένη με MB 60 kDa, (Εικόνα 21).

Το γονίδιο του PAI-2 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 18 στη θέση 18q21-23 και κωδικοποιείται από 8 εξόνια και 7 ιντρόνια και η έκφρασή του ρυθμίζεται από πολλούς παράγοντες, όπως αρκετών μεσολαβητών της φλεγμονής, (92).



ΕΙΚΟΝΑ 21. Δομή του PAI-2

Ο PAI-2 αναστέλλει τα διπλής αλυσού u-Pa και tPA. Όμως, το μόριο της μονής αλυσίδας του tPA είναι το επικρατέστερο στο αίμα και σε συνδυασμό με την προστασία που του παρέχει η πρόσδεση του στο ινωδογόνο, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο PAI-2 δε διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ινωδόλυσης μέσω του tPA. Ο ρόλος του επομένως περιορίζεται κυρίως στη ρύθμιση του u-Pa σε καταστάσεις, όπως η εγκυμοσύνη και η φλεγμονή (99).

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ PAI-1

Σημαντικές ενδείξεις δείχνουν ότι υπάρχει μία άμεση λειτουργική συσχέτιση μεταξύ του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης και του ινωδολυτικού συστήματος. Η αγγειοτενσίνη-II διεγείρει την παραγωγή του PAI-1 σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών αγγειακών κυττάρων, ενώ η αναστολή του μετατρεπτικού ενζύμου σχετίζεται με μείωση και της συγκέντρωσης στο πλάσμα του PAI-1 και της δραστηριότητας αυτού(72).

Επίσης, μελέτες δείχνουν την επίδραση των οιστρογόνων στην παραγωγή του PAI-1, αφού οι μετα εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία υποκατάστασης οιστρογόνων εμφανίζουν χαμηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα του PAI-1, σε σχέση με αυτές που δεν λαμβάνουν θεραπεία, ενώ και οι προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες έχουν χαμηλότερα επίπεδα PAI-1 στο πλάσμα από τις μετα εμμηνόπαυσιακές γυναίκες(78).

➤ Επίδραση της γλυκόζης και της ινσουλίνης στην παραγωγή του PAI-1

Τα επίπεδα ορού του PAI-1 σχετίζονται με το σπλαχνικό λίπος, τις μικρές και πυκνές LDL, τα τριγλυκερίδια (TGs), τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, και την HDL χοληστερόλη. Αυξημένα επίπεδα PAI-1 παρατηρούνται στην παχυσαρκία, στο ΣΔ και στα καρδιαγγειακά νοσήματα (65). Ο PAI-1 εμπλέκεται στην εμφάνιση της παχυσαρκίας, πιθανόν μέσω τροποποίησης της αγγειογένεσης (67). Επιπλέον, η παχυσαρκία έχει συνδεθεί με την αυξημένη παραγωγή PAI-1, σχέση που μάλλον αντανακλά την επίδραση λιποκυτοκινών όπως οπαράγοντας-α νέκρωσης του όγκου (TNF-α), η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) και ο τροποποιητικός αυξητικός παράγοντας-β (TGF-β), οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση του γονιδίου PAI-1, παρά την άμεση έκφραση του PAI-1 στο λιπώδη ιστό (69). Η γλυκόζη και η ινσουλίνη αυξάνουν, *in vitro*, τη σύνθεση και έκκριση του PAI-1 από τα ανθρώπινα αγγειακά ενδοθηλιακά και τα λεία μυϊκά κύτταρα. Σύμφωνα με μελέτες του γονιδίου του PAI-1 και συγκεκριμένα της περιοχής του προαγωγέα, έδειξαν ότι η υπεργλυκαιμία διεγείρει τη μεταγραφή του γονιδίου, ακριβώς αντίθετα στο ρεύμα από τη μεταγραφική θέση έναρξης. Αποτέλεσμα της μείωσης της γλυκόζης στο αίμα είναι η μείωση της μεταγραφής του γονιδίου του PAI-1 και η αύξηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας στους αγγειακούς ιστούς (71).

Σε ασθενείς με ΣΔ2 η ρύθμιση της υπεργλυκαιμίας μειώνει τη δραστηριότητα στο πλάσμα του PAI-1. Η θεραπεία με ινσουλίνη καταστέλλει την έκκριση της ενδογενούς

ινσουλίνης και των προδρόμων μορίων της (όπως της προϊνσουλίνης) και οδηγεί σε μείωση στο πλάσμα της δραστηριότητας του PAI-1 (82). Επίσης, σε ασθενείς ΣΔ2 η θεραπεία με ινσουλίνη προκαλεί μεγαλύτερη μείωση στο πλάσμα της συγκέντρωσης του PAI-1 σε σύγκριση με τη θεραπεία με σουλφονουρίες(84).

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΟΥ PAI-1

Η έκφραση του γονιδίου του PAI-1 είναι επαγωγίμη παρά βασική, ενώ ο TNF- α , η IL-1, TGF- β , οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS), τα γλυκοκορτικοειδή, οι LDL, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, η γλυκόζη, και η αγγειοτασίνη II (Ang II) ενεργοποιούν την παραγωγή του PAI-1(66).

Σύμφωνα με έρευνες που έγιναν σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων, οι VLDL ή τα ακόρεστα λιπαρά οξέα βρέθηκε ότι αυξάνουν την έκκριση του PAI-1 (76). Επίσης, αν τα ενδοθηλιακά κύτταρα καλλιεργηθούν μαζί με αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα, τότε παράγουν περισσότερο PAI-1, από ό,τι ενδοθηλιακά κύτταρα που καλλιεργούνται μόνα τους. Η υπερ-ρύθμιση της έκκρισης και του ενδοκυτταρικού PAI-1, σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα, διαπιστώνεται και μετά από επώασή τους σε μέσο στο οποίο έχουν καλλιεργηθεί λεία μυϊκά κύτταρα (97). Τέλος, η χορήγηση ηπαρίνης μειώνει την παραγωγή του PAI-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (73).

ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ PAI-1

Το γονίδιο του PAI-1 απαντάται σε δύο αλληλόμορφα. Έχει αναγνωριστεί ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο του PAI-1 και συγκεκριμένα στον υποκινητή του γονιδίου PAI-1, όπου η απαλοιφή μιας μόνο γουανίνης έχει ως αποτέλεσμα την ύπαρξη των 4G και 5G αλληλόμορφων.

Από τους πολυμορφισμούς που έχουν περιγραφεί, η παρουσία του 4G/4G γονοτύπου, δηλαδή τα άτομα που είναι ομόζυγα για το 4G αλληλίο (74), εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα του PAI-1 στο πλάσμα, περίπου 25 φορές υψηλότερες από ό,τι τα άτομα που είναι ομόζυγα για το 5G αλληλίο (5G/5G γονότυπος) (75).

Οι ομοζυγώτες 4G/4G έχουν υψηλά επίπεδα PAI-1, μειωμένη ινωδολυτική ικανότητα και επομένως αυξημένο κίνδυνο αθηρομάτωσης και αρτηριατής υπέρτασης. Στην εγκυμοσύνη το αλληλόμορφο 4G έχει συσχετιστεί με επιπλοκές, όπως πρόωρη αποβολή,

την προεκλαμψία, την αυξημένη πίεση της εγκύου και την καθυστέρηση της εμβρυικής ανάπτυξης.

Ο πολυμορφισμός 4G/5G επηρεάζει την έκφραση του PAI-1 στο ενδοθήλιο, αφού μελέτες προτείνουν ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ισχαιμία του μυοκαρδίου, που οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο φλεβικής θρομβοεμβολικής νόσου.

Μεταξύ των ασθενών με υπερχοληστερολαιμία, αυτοί με γονότυπο 4G/4G (συχνότητα της 4G αλληλίου 60%) εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις στοπλάσμα PAI-1, από ό,τι αυτοί με γονότυπο 5G/5G, δείχνοντας μία ειδική αλληλοεπίδραση του γονότυπου με τα τριγλυκερίδια (77).

Τα ευρήματα αυτά ενισχύονται από την αναγνώριση στην περιοχή «promoter» του γονιδίου μία ευαίσθητη θέση για τα VLDL-TG, σε γεινίαση με τη θέση 4G/5G(76). Επιπρόσθετα, βρέθηκε ότι τα τριγλυκερίδια αυξάνουν την παραγωγή του PAI-1 από τα ηπατοκύτταρα, *in vitro*, μία δράση που γίνεται μέσω του υποδοχέα της LDL και αυξάνεται επί παρουσία ινσουλίνης (80). Αυτές οι κλινικές και εργαστηριακές παρατηρήσεις δείχνουν ότι το σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη, δια μέσου της δράσης των τριγλυκεριδίων, μεταβάλλει τη σύνθεση και έκκριση του PAI-1 και οι μεταβολές αυτές αυξάνουν τον αθηρωματικό κίνδυνο (79).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Είναι η πρώτη φορά που ασθενείς από την περιοχή της Θεσσαλίας με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια υποβάλλονται σε τόσο λεπτομερή κλινικό και γενετικό έλεγχο με σκοπό την διερεύνηση και καταγραφή τυχόν πολυμορφισμών σε γονίδια που σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου.

Όλοι οι συμμετέχοντες εξετάστηκαν στην οφθαλμολογική και νεφρολογική κλινική στα εξωτερικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λάρισας στην Ελλάδα. Η διάγνωση της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας έγινε από ειδικό οφθαλμίατρο με εξέταση του βυθού του οφθαλμού και φλουοροαγγειογραφίας όταν χρειαζόταν.

ΣΚΟΠΟΣ

Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ) είναι μια κύρια μικροαγγειακή επιπλοκή του σακχαρώδους διαβήτη (ΣΔ) (104) και η κύρια αιτία τύφλωσης στον πληθυσμό κατά την παραγωγική ηλικία (105). Η παθοφυσιολογία που αποτελεί τη βάση της ανάπτυξης της ΔΑ είναι πολύ περίπλοκη και περιλαμβάνει δυσλειτουργία και ανωμαλίες των τριχοειδών, βλάβη των κυττάρων του αμφιβληστροειδούς και φλεγμονώδεις διεργασίες (106). Πολλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες φαίνεται να συμβάλλουν στην ανάπτυξη της ΔΑ (107, 108). Ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας της ανάπτυξης και εξέλιξης της ΔΑ είναι η διάρκεια του ΣΔ (109), καθώς περισσότεροι από ένας στους τρεις ασθενείς με ΣΔ εμφανίζουν οποιοδήποτε τύπο ΔΑ μετά από 10 χρόνια της νόσου (110).

Παρόλο που τα αποτελέσματα σχετικά με συγκεκριμένες γενετικές αιτίες παραμένουν αντικρουόμενα (111), υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι οι γενετικές παραλλαγές μπορεί να αυξήσουν την ευαισθησία στην ανάπτυξη της ΔΑ. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν αναφορές για γονιδιακές περιοχές που σχετίζονται με τη ΔΑ για τον ΣΔ1 (112) και επίσης ισχυρές ενδείξεις κληρονομικότητας σε επιπλοκές ΣΔ, υποστηρίζοντας την ύπαρξη γενετικών επιδράσεων (113). Επιπλέον, η τρέχουσα πρόοδος στην κατανόηση της γενετικής του ΣΔ2 (114) προσφέρει μια ευκαιρία προσέγγισης της γενετικής της ΔΑ(115).

Ο αναστολέας ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 (PAI-1), επίσης γνωστός ως Serpine-1, είναι μια γλυκοπρωτεΐνη 50-kDa της οικογένειας αναστολέων πρωτεάσης σερίνης που

ρυθμίζει την ινωδολύση και την αποικοδόμηση του θρόμβου με την αναστολή του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου ουροκινάσης (uPA) στο σύστημα πλασμινογόνου / πλασμίνης (116). Λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει το ρόλο του PAI-1 στον κίνδυνο ανάπτυξης της ΔΑ, αλλά τα αποτελέσματα παραμένουν αντιφατικά (117, 118). Η πειραματική υπερέκφραση του PAI-1 στα τριχοειδή του αμφιβληστροειδούς των ποντικών βρέθηκε ότι οδηγεί σε αλλοιώσεις παρόμοιες με εκείνες της ΔΑ (119).

Ένας αριθμός μελετών έχει εξετάσει την επίδραση των παραλλαγών του γονιδίου PAI-1 στον κίνδυνο ανάπτυξης της ΔΑ (118, 120 & 122). Οι περισσότερες από τις μελέτες επικεντρώθηκαν σε ένα λειτουργικό πολυμορφισμό, το 4G / 5G (rs1799889), που βρίσκεται στον προαγωγό του γονιδίου PAI-1. Ο γονότυπος 4G / 4G έχει συσχετιστεί με υψηλότερο PAI-1 ορού σε σύγκριση με τον γονότυπο 5G / 5G (123). Ωστόσο, ο ρόλος της περιοχής του υποκινητή του γονιδίου PAI-1 στην ανάπτυξη της ΔΑ παραμένει ασαφής, καθώς τα αποτελέσματα σχετικά με το rs1799889 παραμένουν αμφιλεγόμενα (121, 122). Είναι πιθανό ότι και άλλα μέρη του γονιδίου μπορεί να ασκήσουν επιρροή στον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ.

Επομένως, η παρούσα μελέτη διεξήχθη για να ελεγχθεί η επίδραση των πολυμορφισμών γενετικής επισήμανσης, καλύπτοντας ολόκληρη τη μεταβλητότητα του γονιδίου PAI-1, στον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ. Ενδιαφερθηκαμε επίσης να εξετάσουμε την πιθανή επίδραση των παραλλαγών του γονιδίου PAI-1 στην ανάπτυξη της ΔΑ νωρίς ή αργά κατά τη διάρκεια του ΣΔ2.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πληθυσμός της μελέτης

Συνολικά 138 ασθενείς με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (53,6% γυναίκες), 107 περιπτώσεις σακχαρώδους διαβήτη τυπου 2 χωρίς μικροαγγειακές επιπλοκές (49% γυναίκες) και 315 υγιείς μάρτυρες (48% γυναίκες) είχαν προσληφθεί κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης.

Όλοι οι συμμετέχοντες εξετάστηκαν στην οφθαλμολογική και νεφρολογική κλινική στα εξωτερικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λάρισας στην Ελλάδα.

Η διάγνωση της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας έγινε απο ειδικό οφθαλμίατρο με εξέταση του βυθού του οφθαλμού και φλουοροαγγειογραφίας, όταν χρειαζόταν (124).

Όλες οι περιπτώσεις διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας είχαν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2). Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν περαιτέρω αν είχε αναπτυχθεί διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ) νωρίς (μέσα στα πρώτα 10 έτη), ή αργά (μετά τα πρώτα 10 έτη) κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του ΣΔ2.

Διαβητική νεφροπάθεια (ΔΝ) διαγνώστηκε σε 99 περιπτώσεις ΔΑ, βάση μιας επίμονης λευκωματουρίας, ουρική απέκκριση λευκωματίνης > 300 mg / 24h (> 200 μg / min παρουσιάζοντας εμφανή σπειραματική πρωτεϊνουρία) ανεξάρτητα από τα αυξημένα ή οχιπέπεδα κρεατινίνης ορού(125).

Μετρήθηκε η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c%) και οι ασθενείς κατανεμήθηκαν σε μία από τις δύο κατηγορίες με βάση τα επίπεδα της HbA1c% δηλαδή σε ασθενείς με φτωχό γλυκαιμικό έλεγχο (HbA1c \geq 7%) και σε ασθενείς με καλό γλυκαιμικό έλεγχο (HbA1c <7%).

Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστήμιου Θεσσαλίας και ενημερωμένη συγκατάθεση λήφθηκε από όλους τους συμμετέχοντες.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

1. Απομόνωση DNA
2. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction)
3. Γονοτύπηση με τη μέθοδο κατά Taqman

1. Απομόνωση DNA

Στο συγκεκριμένο πείραμα εφαρμόστηκε η μέθοδος της εξαλάτωσης (126). Είναι σημαντικό το DNA να είναι ελεύθερο προσμίξεων και να μην είναι διασπασμένο σε πολύ μικρά κομμάτια που δεν μπορούν να ενισχυθούν και να αναλυθούν. Η απομόνωση γενωμικού DNA γίνεται από εμπύρηννα κύτταρα περιφερικού αίματος (πυρήνες λευκοκυττάρων). Για τη διαδικασία αυτή λαμβάνονται 10ml αίματος που τοποθετούνται σε σωληνάριο, παρουσία αντιπηκτικού Na₂EDTA. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση του γενωμικού DNA είναι:

- 1) Διάλυμα διάσπασης των πυρήνων [Lysis I: NH_4Cl (155mM), KHCO_3 (10mM), EDTA (1mM), pH=7.4 και Lysis II : Tris (10mM), NaCl (400mM), di-Na EDTA (2mM), pH=8.2],
- 2) διάλυμα πρωτεΐνάσης K (10mg/ml),
- 3) Διάλυμα 10% w/v SDS (sodium dodecyl sulfate: δωδεκακυλοθειικό νάτριο),
- 4) κορεσμένο διάλυμα NaCl (6M),
- 5) απόλυτη αιθανόλη,
- 6) CH_3COONa (3M),
- 7) πηκτή αγαρόζης 1%

Για την απομόνωση του DNA με τη μέθοδο της εξαλάτωσης ακολουθούμε τα παρακάτω στάδια παρουσιάζονται παρακάτω:

1η μέρα

1. Τοποθετούμε το αίμα σε σωληνάριο πολυπροπυλενίου των 15ml και αραιώνουμε ως 12ml με ddH₂O (δix αποσταγμένο νερό). Ακολουθεί καλή ανάδευση (με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων).
2. Φυγοκεντρούμε για 15min στις 3500rpm, στους 40C (απομόνωση των εμπύρηνων κυττάρων).
3. Μετά την ολοκλήρωση της φυγοκέντρωσης, το υπερκείμενο απορρίπτεται και η διαδικασία συνεχίζεται με το ίζημα. Τα κύτταρα αραιώνονται σε ddH₂O έως 12ml και ανακινούμε σε vortex.
4. Φυγοκεντρούμε για 15min στις 3500rpm, στους 40C.
5. Αφαιρούμε το υπερκείμενο και συνεχίζουμε με το ίζημα. Προσθέτουμε το διάλυμα lysis I μέχρι τα 12ml.
6. Φυγοκεντρούμε για 15min στις 3500rpm, στους 40C.
7. Επαναλαμβάνουμε τα στάδια 5 και 6 με lysis I.
8. Αφαιρούμε το υπερκείμενο και συνεχίζουμε με το ίζημα. Προσθέτουμε το διάλυμα lysis II μέχρι τα 6ml (τα λυτικά διαλύματα lysis I και lysis II διευκολύνουν τη διάσπαση των πυρηνικών μεμβρανών για την απελευθέρωση του DNA. Επίσης, όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, περιέχουν EDTA που δεσμεύει τα δυσθενή κατιόντα (Ca^{2+} , Mg^{2+}) που θεωρούνται απαραίτητα για τη δράση των νουκλεασών. Έτσι, τα ένζυμα αυτά απενεργοποιούνται, γεγονός που εξυπηρετεί στην αποφυγή της διάσπασης του DNA). Ανακινούμε ισχυρά και επωάζουμε για 15-30min, σε θερμοκρασία δωματίου.

9. Προσθέτουμε 750μl SDS (10% w/v) και 100μl πρωτεΐνάσης K (10mg/ml) (το SDS είναι ένα ανιονικό αποδιατακτικό που δεσμεύει τα λιπίδια και καταστρέφει τη δομή της μεμβράνης του πυρήνα, ενώ συμμετέχει στην αποδιάταξη της χρωματίνης και των πρωτεϊνών. Επίσης, με την πρωτεΐνάση K επιτυγχάνεται η διάσπαση και η πέψη των πρωτεϊνών, με τις οποίες είναι συνδεδεμένο το DNA).

10. Επώαση στους 370C για 16-18hrs (overnight-O/N).

2η μέρα

Προσθέτουμε 2ml 6M κεκορεσμένου διαλύματος NaCl. Αναδεύουμε ισχυρά για 15sec (με τη διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα η κατακρήμνιση των αποδιαταγμένων πρωτεϊνών).

1. Φυγοκεντρούμε για 15min στις 3500rpm, στους 40C.
2. Στο υπερκείμενο υπάρχει το DNA. Μεταγγίζουμε το υπερκείμενο σε καθαρό σωληνάριο και απορρίπτουμε το ίζημα. Αναδεύουμε ισχυρά.
3. Φυγοκεντρούμε για 15min στις 3500rpm, στους 40C.
4. Μεταγγίζουμε το υπερκείμενο σε καθαρό σωληνάριο των 50ml και απορρίπτουμε το ίζημα.
5. Ακολουθεί καταβύθιση του νουκλεϊκού οξέος, που βρίσκεται στο υπερκείμενο διάλυμα, με 2 όγκους απόλυτης αιθανόλης (2πλάσιο όγκο σε σχέση με το αρχικό διάλυμα) και CH₃COONa σε ποσότητα ίση με το 1/10 του όγκου του αρχικού διαλύματος. Σε περίπτωση που η αρχική ποσότητα του δείγματος του αίματος είναι αρκετή, δεν χρειάζεται να προσθέσουμε CH₃COONa
6. Επώαση στους 200C O/N.

3η μέρα

1. Φυγοκεντρούμε για 50min στις 3500rpm, στους 40C.
2. Απορρίπτουμε το υπερκείμενο. Το DNA που συλλέγεται «ξεπλένεται» με διάλυμα αιθανόλης 70% και εισάγεται σε σωληνάριο τύπου erpendorf (το συγκεκριμένο βήμα καθαρισμού χρειάζεται για την απομάκρυνση του άλατος που έχει παραμείνει στο διάλυμα).
3. Φυγοκεντρούμε για 30min στις 12000rpm, στους 40C.
4. Επαναλαμβάνουμε το στάδιο 2 άλλες δύο φορές, με τη διαφορά ότι η διάρκεια της φυγοκέντρωσης είναι 20min.
5. Αφαιρούμε όλο το υπερκείμενο (αιθανόλη) προσεκτικά, (αφήνουμε μόνο το ίζημα-DNA) και καλύπτουμε το σωληνάριο με παραφίλμ, το οποίο τρυπάμε με μικροσκοπική

καρφίτσα (με τον τρόπο αυτό διευκολύνεται η εξάτμιση της αιθανόλης που έχει παραμείνει στο σωληνάριο).

6. Επώαση σε θερμοκρασία ψυγείου.

7. Το DNA φυλάσσεται στους 40C (για συχνή χρήση) ή στους -200C (για μεγάλο χρονικό διάστημα).

Προσδιορισμός ποιότητας και συγκέντρωσης του DNA

A. Έλεγχος σε πηκτή αγαρόζης

Με μικρή ποσότητα DNA πραγματοποιείται ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης (1%) παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου (EtBr) και το DNA γίνεται ορατό με υπεριώδη ακτινοβολία σε συσκευή UV. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ο έλεγχος της ποιότητας του DNA.

B. Μέτρηση συγκέντρωσης

Μετά το πέρας της διαδικασίας απομόνωσης του DNA ακολουθεί ο προσδιορισμός της συγκέντρωσής του. Το DNA ανιχνεύεται και προσδιορίζεται ποσοτικά με πολλούς τρόπους. Η απλούστερη μέθοδος περιλαμβάνει τον υπολογισμό της συγκέντρωσής του με φωτομέτρηση σε φασματοφωτόμετρο. Η τεχνική αυτή βασίζεται στην ιδιότητα του DNA να απορροφά εκλεκτικά ακτινοβολία μήκους κύματος 260nm.

Συγκεκριμένα, μετράται η οπτική πυκνότητα (OD) υδατικού διαλύματος DNA (αραιωμένο διάλυμα DNA 1:100) σε μήκος κύματος 260nm και 280 nm σε κυψελίδα χαλαζία με διαδρομή φωτός 1cm. Η απορρόφηση στα 260nm αντιστοιχεί στο νουκλεϊκό οξύ που περιέχεται στο διάλυμα, ενώ η απορρόφηση στα 280 nm αντιστοιχεί στις πρωτεΐνες και άλλες προσμίξεις που έχουν παραμείνει στο διάλυμα.

Η καθαρότητα του DNA εκτιμάται με βάση το λόγο OD₂₆₀/OD₂₈₀. Τιμές του λόγου μεταξύ 1,7 και 1,9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA, τιμές μικρότερες του 1,7 φανερώνουν ότι το διάλυμα του DNA περιέχει πρωτεΐνες, ενώ τιμές μεγαλύτερες του 1,9 υποδηλώνουν πρόσμιξη με RNA.

Έχει αποδειχθεί ότι σε μήκος κύματος 260nm τιμή OD ίση με 1 αντιστοιχεί σε συγκέντρωση 50μg/ml δίκλωνου DNA. Βάσει αυτού του δεδομένου μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση του DNA μετά τη φωτομέτρηση ως εξής:

$$\text{Συγκέντρωση DNA (}\mu\text{g/ml)} = \text{αραιώση} \times 50 \times \text{τιμή OD}_{260}$$

Η μέθοδος αυτή είναι αρκετά ευαίσθητη και μπορεί να ανιχνεύσει ποσότητες DNA μέχρι και 0,2μg DNA/ml διαλύματος.

2. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction)

Ο ενζυμικός πολλαπλασιασμός (in vitro) επιλεγμένων αλληλουχιών DNA (DNA-στόχου), από ελάχιστη αρχική ποσότητα δείγματος γίνεται με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction), η οποία ουσιαστικά, εκμεταλλεύεται δύο χαρακτηριστικά της αντιγραφής του DNA:

1. ότι μονόκλωνο DNA χρησιμοποιείται ως εκμαγείο από την Taq DNA πολυμεράση για τη σύνθεση ενός νέου συμπληρωματικού κλώνου και για το λόγο αυτό καθίσταται απαραίτητη η αποδιάταξη του DNA και
2. ότι για να τη σύνθεση η Taq DNA πολυμεράση χρειάζεται ένα μικρό τμήμα δίκλωνου DNA, πράγμα που σημαίνει ότι αν μετά το διαχωρισμό των δύο αλυσίδων ενός μορίου DNA χρησιμοποιηθεί ένας εκκινητής που υβριδίζεται σε ένα σημείο της μιας αλυσίδας, τότε θα αρχίσει η σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας από το σημείο που υβριδίστηκε ο εκκινητής (primer).

Με επιλογή λοιπόν δύο εκκινητών που υβριδίζονται εκατέρωθεν της αλληλουχίας-στόχου (όπου ο κάθε εκκινητής είναι συμπληρωματικός προς κάθε μια από τις δύο αλυσίδες DNA και οι δύο μαζί καθορίζουν τα άκρα του επιθυμητού προϊόντος) μπορούμε να ενισχύσουμε οποιοδήποτε τμήμα δίκλωνου DNA. Η τεχνική της PCR αποτελείται από επαναλαμβανόμενους κύκλους, όπου ο κάθε κύκλος περιλαμβάνει τρία στάδια. Η όλη διαδικασία πραγματοποιείται εξολοκλήρου in vitro, σε ένα σωληνάριο τύπου erpendorf με τη χρήση θερμικού κυκλοποιητή.

Στάδια των κύκλων της PCR

Στάδιο 1: θερμική αποδιάταξη του DNA-εκμαγείου, όπου το δίκλωνο DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο (denaturation).

Στάδιο 2: σύνδεση εκκινητών, όπου οι δύο εκκινητές υβριδίζονται με τις δύο συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA-στόχου (primer annealing).

Στάδιο 3: σύνθεση DNA, όπου παρουσία Taq DNA πολυμεράσης και dNTPs, οι συμπληρωματικές βάσεις προστίθενται στα 3' άκρα των εκκινητών με βάση την αλυσίδα DNA-εκμαγείο και οι νέες πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες επεκτείνονται (extension). Η σύνθεση DNA γίνεται πάντοτε προς την κατεύθυνση 5'→3'.

Η τεχνική της PCR περιλαμβάνει μία επαναλαμβανόμενη εναλλαγή θερμοκρασιών (υψηλή, σχετικά χαμηλή και ενδιάμεση). Αναλυτικότερα, υψηλή θερμοκρασία για το διαχωρισμό των αλυσίδων του DNA, μια σχετικά χαμηλή θερμοκρασία για τον υβριδισμό των εκκινητών με συμπληρωματικές περιοχές του DNA-στόχου και μια ενδιάμεση θερμοκρασία για την επέκταση των εκκινητών.

3. Γονοτύπηση με τη μέθοδο κατά Taqman

Για τον προσδιορισμό πολυμορφισμών σε συγκεκριμένο τμήμα του DNA, χρησιμοποιείται η γονοτύπηση με τη μέθοδο κατά Taqman, η οποία στη ουσία είναι μια Real-Time PCR. Ένας Taqman ιχνηθέτης (ο οποίος είναι συμπληρωματικός με τον υπό έλεγχο πολυμορφισμό) περιέχει δύο χρωστικές. Η μία χρωστική είναι φθορίζουσα και η δεύτερη χρωστική απορροφά και εξουδετερώνει το σήμα που προέρχεται από την πρώτη όταν είναι σε εγγύτητα. Αν τώρα, ο υπό εξέταση πολυμορφισμός υπάρχει, ο ιχνηθέτης θα υβριδισθεί στο αντίστοιχο τμήμα του DNA αλλά κατά τη διάρκεια της επέκτασης (extension) του PCR προϊόντος ο ιχνηθέτης θα υδρολυθεί από την Taq πολυμεράση. Συνέπεια αυτού είναι η αποκοπή του άκρου του, και κατ' επέκταση η διακοπή της αλληλεξουδετέρωσης του σήματος, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή φθορισμού. Αν ο υπό εξέταση πολυμορφισμός δεν υπάρχει, ο ιχνηθέτης θα παραμείνει ανέπαφος και έτσι δεν θα παρατηρηθεί φθορισμός. Με αυτό τον τρόπο και ανάλογα με την ένταση φθορισμού καθίσταται φανερός ο γονότυπος στο συγκεκριμένο σημείο. Η γονοτύπωση με τη μέθοδο κατά Taqman πραγματοποιήθηκε σε ABI PRISM® 7900 Sequence Detection System και η ανάλυση έγινε με το SDS λογισμικό (Applied Biosystems, Foster City, USA).

Απομόνωση του DNA, επιλογή Πολυμορφισμού Μονού νουκλεοτιδίου [SingleNucleotidePolymorphism (SNP)] γονοτύπησης

Το γενωμικό DNA εκχυλίστηκε από δείγματα περιφερικού αίματος χρησιμοποιώντας εξαλάτωσήπως περιγράφηκε προηγουμένως(126).

Σε μια προσπάθεια να καλύψει το μεγαλύτερο μέρος της γενετικής ποικιλομορφίας των PAI-1 γονιδίου (μια περιοχή 11,86 kbp, που αποτελείται από 9 εξώνια σε chr7: θέσεις από 100,557,172 έως 100569026) η ετικετα SNP προσδιορίστηκε βάσει των μπλοκ με ανισορροπία σύνδεσης (Linkagediequilibrium LD) σύμφωνα με το HarMap (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>) χρησιμοποιώντας το γενετικό πρόγραμμα Tagger (<Http://www.broadinstitute.org/mpg/tagger>). Η επιλογή των ετικετών SNPs έγινε με βάση την HarMap-CEU βάση δεδομένων πληθυσμού για τον πληθυσμό CEU (Release 27, Φάση II + III, Feb09, για συναρμολόγηση B36 NCBI, dbSNP B126) με χρήση των κριτηρίων του r^2 μεγαλύτερη από ή ίση με 0,8 και μικροτερη συχνότητα αλληλόμορφου (MAF) περισσότερο από 0.05. Συνολικά εντοπίστηκαν πέντε SNPs ετικέτες, σε τέσσερις διακριτές γονιδιακές περιοχές: στην ιντρονική περιοχή μεταξύ εξώνια 3-4 (rs2227667), στο ιντρόνιο 5-6 (Rs2070682, rs2227690), το ιντρόνιο 7-8 (rs2227692) και στην περιοχή 3'UTR(rs1050813).

Οι ληφθείσες SNPs ετικέτες διανεμήθηκαν σε δύο συγκεκριμένα μπλοκ με ανισορροπία σύνδεσης (LD): rs2227667 στο μπλοκ 1, και rs2070682, rs2227690, rs2227692 και rs1050813 στο μπλοκ 2.

Οι θέσεις των SNPs ετικετών σε ολόκληρη την περιοχή του γονιδίου PAI-1 φαίνεται στο συμπληρωματικό σχήμα 1 και οι λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με την ετικετα PAI-1 SNPs παρουσιάζεται στον συμπληρωματικό πίνακα 1.

Η γονοτύπηση της ετικετας SNP διεξήχθη με μια συγκεκριμένη μέθοδο TaqMan αλληλόμορφη διάκριση αναλύσης σε ABI PRISM 7900 Sequence Detection System και αναλύθηκαν με SDS λογισμικό (Applied Biosystems, Foster City, California, USA)(126) (Pharmacogenet Genomics. 2015;25(10):485-90), απο εργαστηριακό προσωπικό που δεν γνώριζε την κλινική κατάσταση.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE) αξιολογήθηκε με την ακριβή δοκιμή. Οι μετρήσεις ζευγών D 'και r^2 μεταξύ των SNP και της δομής των μπλοκ LD, που κατασκευάστηκαν από τον αλγόριθμο προεπιλεγμένων διαστημάτων εμπιστοσύνης, υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας την πλατφόρμα Haploview version 4.2 (<https://www.broadinstitute.org/scientific-community/science/programs/medical-and-population-genetics/haploview/haploview>) (127,128).

Η στατιστική ισχύς εκτιμήθηκε με τη χρήση του CaTS Power Calculator (http://csg.sph.umich.edu/abecasis/cats/gas_power_calculator/index.html), (129).

Η μελέτη μας είχε 80,0% ισχύ για να ανιχνεύσει μια συσχέτιση SNP με ένα γενετικό σχετικό κίνδυνο 1,81, υπό την προϋπόθεση ενός πολλαπλασιαστικού μοντέλου, μικρής συχνότητας αλληλίου 11% (το χαμηλότερο στις περιπτώσεις ΔΑ για το rs2227692), το επίπεδο σφάλματος τύπου I 0,05, σε ένα δείγμα αποτελούμενο από 315 μάρτυρες και 138 περιπτώσεις ΔΑ.

Ακατέργαστη και προσαρμοσμένη για την ηλικία, το φύλο, την παρουσία ή όχι διαβητικής νεφροπάθειας και την κατάσταση του γλυκαιμικού ελέγχου δυαδική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογήσει τις πιθανές συσχετίσεις μεταξύ μεμονωμένων SNPs ετικέτων ή απλοτύπων και του κινδύνου διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας σύγκρινοντας περιπτώσεις διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας και υγιείς ελέγχους.

Εξετάστηκε επίσης, ο κίνδυνος της πρόωρης ενάντια της καθυστερημένης ανάπτυξης ΔΑ κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του διαβητη τυπου 2 χρησιμοποιώντας την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης μεταξύ των περιπτώσεων διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Οι αναλογίες πιθανοτήτων και διαστήματα εμπιστοσύνης 95% (ΠΙ) υπολογίστηκαν με το λογισμικό SNPStats (<Http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats/>) (130), αν υποθεθεί ότι το συν-κυρίαρχο (γονοτυπικό) μοντέλο της κληρονομικότητας, μια γενίκευση που καλύπτει το κυρίαρχο, υπολειπόμενο, και το πρόσθετο μοντέλο κληρονομικότητας χωρίς την ανάγκη διόρθωσης για πολλαπλές δοκιμές των τριών γενετικών μοντέλων(131) . Στο συν-κυρίαρχο μοντέλο,

μια συνολική τιμή p με 2 βαθμούς ελευθερίας και δύο αναλογίες πιθανοτήτων εκτιμήθηκαν για κάθε SNP [ένα για την ετεροζυγωτία για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο σε σύγκριση με την ομοζυγωτία για το άγριο αλληλόμορφο (mt / Wt vs wt / wt) και ένα από την ομοζυγωτία για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο σε σχέση με την ομοζυγωτία για το άγριο αλληλόμορφο (mt / mt vs wt / wt)] (130) .

Εμείς πραγματοποιήσαμε επίσης μια ανάλυση σύμφωνα με το πρόσθετο μοντέλο προκειμένου να ανιχνευθεί οποιοδήποτε αποτέλεσμα αλληλόμορφης δόσης. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, κάθε αντίγραφο του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου τροποποιεί τον κίνδυνο σε μια πρόσθετη μορφή, έτσι ώστε η ομόζυγη mt / mt έχουν διπλό κίνδυνο σε σχέση με ετερόζυγη mt / Wt (130). Η κατασκευή SNPs και η ανάλυση απλοτύπων διεξήχθησαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό SNPStats(130).Μόνο συχνοί (συχνότητα > 0,05) απλότυποι χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις(130).

Για την εκτίμηση του κινδύνου ανάπτυξης διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας χρησιμοποιήσαμε τη δοκιμή Chi-square και τη γενικευμένη αναλογία πιθανοτήτων (ORG)(132,133) με τη χρήση του λογισμικού γενετικού μοντέλου ελεύθερης προσέγγισης ORGGASMA (www.biomath.uth.gr), μεταξύ των υγιών μαρτύρων, των ασθενών με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και των ασθενών με διαβήτη τύπου 2 χωρίς διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια. Το ORGGASMA εκφράζει την πιθανότητα ενός συμμετέχοντος να είναι άρρωστος σε σύγκριση με την πιθανότητα να μην είναι, δεδομένου ότι το φορτίο μετάλλαξης είναι υψηλότερο σε νοσούντες από τους μηνοσούντες (132,133)

Η στατιστική σημαντικότητα διορθώθηκε για πολλαπλές συγκρίσεις χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Bonferroni. Το όριο σημαντικότητας ορίστηκε σε 0,05 διαιρούμενο με τον αριθμό των υπό δοκιμή SNPs ή απλοτύπων ($p = 0,05 / 5 = 0,01$). Η στατιστική ανάλυση έγινε με SPSS έκδοση 17.0 για Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η ανάλυση HWE έδειξε ότι τα rs1050813 παρουσίασαν απόκλιση από την HWE στις περιπτώσεις διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας ($p = 0.048$), αλλά όχι στους μάρτυρες ($p = 0,072$) και, συνεπώς, είχε συμπεριληφθεί στις περαιτέρω αναλύσεις (134). Κανένας άλλος πολυμορφισμός SNP δεν έδειξε απόκλιση από την HWE ($p > 0.05$). Το αλληλόμορφο και οι συχνότητες γονοτύπου σε περιπτώσεις διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, σε περιπτώσεις με πρόιμη ή όψιμη έναρξη διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, σε περιπτώσεις διαβήτη τύπου 2 χωρίς διαβητική αμφιβληστροειδοπαθεια και σε υγιείς μάρτυρες δίνονται στον συμπληρωματικό πίνακα 2. Ζεύγη LD (D' , r^2) μεταξύ των μελετημένων PAI-1 SNPs και των μπλοκ LD καταδεικνύονται στο συμπληρωματικό Σχήμα 2.

Στον πληθυσμό μας, η ετικέτα SNPs δημιούργησε ένα ενιαίο μπλοκ LD με ισχυρή LD ($D = 1$), σε αντίθεση με τα δύο μπλοκ που περιγράφονται στη βάση δεδομένων HarMap. Ένα σημαντικό αποτέλεσμα του rs2070682 σχετικά με τον κίνδυνο πρόωρης εμφάνισης διαβητικής αμφιβληστροειδοπαθειας βρέθηκε στο κυρίαρχο μοντέλο κληρονομικότητας [OddsRatio, OR (95% confidence interval, C.I.): 5.04 (1.47-17,28), $p = 0.018$].

Συγκεκριμένα, ο γονότυπος TC υπερεκπροσωπούσαν σε άτομα με πρόιμη εμφάνιση διαβητικής αμφιβληστροειδοπαθειας σε σύγκριση με την όψιμη έναρξη διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή οριακά δεν κατάφερε να επιβιώσει πολλαπλών διορθώσεων δοκιμών. Η ετικέτα PAI-1 SNP σε ενιαία ανάλυση για την πιθανή επίδραση στον κίνδυνο αναπτυξης διαβητικής αμφιβληστροειδοπαθειας απέτυχε να αποκαλύψει οποιοδήποτε σημαντικό συσχετισμό. Το ακατέργαστο και το προσαρμοσμένο OR και 95% C.I.s κάθε SNP ετικέτας, σε συν κυρίαρχο τρόπο, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**.

Η επίδραση της αλληλόμορφης δόσης για το rs2070682 C αλληλόμορφο σχετικά με τον κίνδυνο πρόωρης εμφάνισης διαβητικής αμφιβληστροειδοπαθειας επίσης ανιχνεύθηκε [OR (95%, C.I.): 2.12 (1.04-4,33), $p = 0.033$]. Το ακατέργαστο και το προσαρμοσμένο OR και 95% C.I.s κάθε SNP ετικέτας σύμφωνα με την προσθετική λειτουργία κληρονομικότητας παρουσιάζονται στο συμπληρωματικό **Πίνακα 3**.

Η ανάλυση του απλότυπου πολλών θέσεων των 5 ετικετών SNPs αποκάλυψε την παρουσία των πέντε κοινών απλοτύπων (ACACG, GTGCG, ATACA, ATACG και GTATG) με συχνότητα μεγαλύτερη από 5%. Ο ACACG ήταν ο πιο συχνοσ απλότυπος (38,73% σε ελέγχους και 38,69% σε ασθενείς με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια).

Η ανάλυση για πιθανή επίδραση των ανιχνεύθεντων απλοτύπων στον κίνδυνο ανάπτυξης διαβητικής αμφιβληστροειδοπαθειας, απέτυχε να φθάσει το όριο σημαντικότητας. Οι συχνότητες των απλοτύπων σε περιπτώσεις διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας και υγιών μαρτύρων φαίνονται στον **Πίνακα 2**.

Τέλος, η ανάλυση της δράσης των μεταλλάξεων του φορτίου του PAI-1 SNPs στον κίνδυνο ο διαβήτης τύπου 2 να οδηγήσει σε διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια χρησιμοποιώντας το ORG επίσης δεν αποκάλυψε καμία σημαντική συσχέτιση. Αυτά τα δεδομένα φαίνονται στον **Πίνακα 3**.

ΣΥΝΟΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Η παρούσα μελέτη στοχεύει να διερευνήσει πιθανή συσχέτιση μεταξύ των γενετικών παραλλαγών του PAI-1 γονιδίου και την ανάπτυξη διαβητικής αμφιβληστροειδοπαθειας. Η ανάλυσή μας αποκάλυψε μια υπόθεση μόνο δημιουργίας σύνδεσης μεταξύ της ετικέτας rs2070682 PAI-1 SNP και πρώιμης έναρξης ΔΑ κατά τη διάρκεια του διαβητη τυπου 2. Ωστόσο, πρέπει να έχουμε υπόψιν ότι αυτή η σύνδεση αποκαλύφθηκε σε ένα μικρό σε μέγεθος δείγμα (n = 28) και εξαφανίστηκε μετά από διόρθωση σε πολλαπλές δοκιμές. Ως εκ τούτου, είναι μάλλον απίθανο ότι οι γενετικές παραλλαγές του γονιδίου PAI-1 δημιουργούν μεγαλύτερη ευαισθησία στην ανάπτυξη ΔΑ. Το αποτέλεσμα αυτό χρειάζεται περαιτέρω αναπαραγωγή σε μεγαλύτερες και εθνικά διαφορετικές ομάδες. Είναι πιθανό ότι η πολυπλοκότητα της παθοφυσιολογίας της ΔΑ(106) και η πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ των διαφόρων περιβαλλοντικών και γενετικών παράγοντων κινδύνου(107,108), θα μπορούσε να εξηγήσει τη δυσκολία στην ανίχνευση σημαντικών συσχετισμών σε απομονωμένες εθνικές ομάδες.

Το σύστημα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 είναι γνωστό ότι παίζει ένα κεντρικό ρόλο σε έναν αριθμό διαδικασιών, συμπεριλαμβανομένων της ινωδόλυσης και της αποδομησης των θρόμβων με την αναστολή του tPA στο σύστημα πλασμινογόνου / πλασμίνης. Τα χαμηλά επίπεδα πλασμίνης αποτέλεσμα της αυξημένης δραστηριότητας του PAI-1 οδηγούν σε ενισχυμένη εξωκυτταρική συσσώρευση πρωτεϊνών και κατά συνέπεια μπορεί να οδηγήσει σε ΔΑ(135). Κάθε πιθανή συσχέτιση μεταξύ του PAI-1 και της ΔΑ θα μπορούσε να έχει φαρμακογενετικές επιπτώσεις, επειδή ο PAI-1 θα μπορούσε να θεωρηθεί ως πιθανός θεραπευτικός παράγοντας(137). Η ανάπτυξη ανταγωνιστών του PAI-1(138), θα μπορούσε να προσφέρει ένα πολύτιμο εργαλείο για να παρεμβαίνει στο σύστημα της ινωδόλυσης, καθιστώντας την διαχείριση συγκεκριμένων ασθενών πιο αποτελεσματική. Ένας αριθμός μελετών ευρείας συσχέτισης γονιδιώματος (GWASs) απέτυχε να εντοπίσει ένα συγκεκριμένο σημείο που να εμπλέκεται στην ανάπτυξη κινδύνου ΔΑ(139-142). Προηγούμενες μελέτες υποψήφιων γονιδίων (CGASs) έχουν αναλύσει μια σειρά γονιδίων που εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας συμπεριλαμβανομένων αρκετών μεταβολικών οδών, υπεργλυκαιμία, υποξία, την αγγειογένεση και ωσμωτικές διεργασίες, αλλά χωρίς συνεπή ευρήματα(111,143). Επιπλέον, μια πρόσφατη μετα-

ανάλυση των GWASs και CGASs για την ΔΑ, απέτυχε να φθάσει σε στατιστική σημασία(144). Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων καθώς επίσης και μεταξύ γονιδίων και περιβαλλοντος θα πρέπει να θεωρούνται ως πιθανοί παράγοντες για την ποικιλία των αποτελεσμάτων αυτών.

Η πιο μελετημένη παραλλαγή του γονιδίου PAI-1 στη ΔΑ είναι ο 4G / 5G πολυμορφισμός (rs1799889). Αυτός ο SNP έχει βρεθεί να σχετίζεται με διαφορές στο επίπεδο της δραστηριότητας του PAI-1 στον ορό. Ειδικότερα ο γονότυπος 4G / 4G σχετίζεται με την υψηλότερη δραστηριότητα PAI-1 ορού και ο 5G / 5G γονότυπος με χαμηλότερη(123). Η συμβολή του rs1799889 στην ανάπτυξη ΔΑ παραμένει αμφιλεγόμενη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μετα-ανάλυσης 9 μελετών, με 1.217 περιπτώσεις και 1459 ελέγχους, η παραλλαγή rs1799889 συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ σε ασθενείς με ΣΔ2(122). Επιπλέον, σε μια ανάλυση υποομάδας τεσσάρων μελετών από αυτή την μετα-ανάλυση, αυτός ο πολυμορφισμός βρέθηκε να αυξάνει την ευαισθησία για ανάπτυξη ΔΑ σε ασθενείς με νόσο διάρκειας μεγαλύτερη των 10 ετών(122). Ωστόσο, μια άλλη μετα-ανάλυση που περιλάμβανε όλες τις προηγούμενες 9 μελέτες και επίσης μια ακόμη(145), σε σύνολο 1327 ασθενών με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και 1557 control απέτυχε να αποδείξει ότι ο πολυμορφισμός rs1799889 ήταν ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου ανάπτυξης ΔΑ(121).

Στη μελέτη μας, η πιθανή επίδραση του rs1799889 (4G / 5G) πολυμορφισμού σχετικά με τον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΑ πιθανώς συνελήφθη από τα μελετημένα SNP μέσα από τη συνολική ανισορροπία σύνδεσης (Linkage Disequilibrium). Στην πραγματικότητα, ο rs1799889 είναι μόνο 5038 bp μακριά από την ιντρονική rs2227667. Έτσι, κάθε πιθανή επίδραση του 4G / 5G πολυμορφισμού στη ΔΑ θα είναι επίσης εμφανής στο rs2227667.

Θα πρέπει να αναγνωρίσουμε ορισμένους περιορισμούς της παρούσας μελέτης.

Κατ' αρχάς, η μελέτη μας πραγματοποιήθηκε σε ένα σχετικά μικρό μέγεθος δείγματος, αυξάνοντας την πιθανότητα ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων, ένας εγγενής περιορισμός όμως της πλειοψηφίας των μελετών CGASs. Δευτερευόντως η προσαρμογή και άλλων παραγόντων σε πολυμετάβλητα μοντέλα, όπως η παρουσία ιστορικού υπέρτασης, ο δείκτης μάζας σώματος και η ηλικία εμφάνισης του διαβήτη, θα δώσει περισσότερο ισχυρά και ακριβή αποτελέσματα.

Εν κατακλείδι, μελετήσαμε το ρόλο των πολυμορφισμών μονών νουκλεοτιδίων (SingleNucleotidePolymorphisms) σε όλο το γονίδιο PAI-1 για τον κίνδυνο αναπτυξης ΔΑ. Η μελέτη μας έδειξε ότι οι πολυμορφισμοί του γονιδίου PAI-1 μπορεί να μην εμπλέκονται στον κίνδυνο αναπτυξης ΔΑ ή την ανάπτυξη της κατά τη διάρκεια διαβητη τυπου 2, ωστόσο, τα ευρήματά μας θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε μελλοντικές μετα-ανάλυσεις και πολυεθνικές συνεργατικές μελέτες. Δεδομένης της πολυπλοκότητα της ΔΑ και των πολλαπλών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των γονιδίων και περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου θα πρέπει να έχουμε κατά νου ότι κάθε ατομικό γονίδιο μπορεί να προσδώσει ένα μικρό σχετικό κίνδυνο.

Έτσι, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες σε διαφορετικές εθνικές ομάδες και σε μεγαλύτερα δείγματα για τη διελεύκανση του ρόλου του PAI-1 γονιδίου στην αναπτυξη της ΔΑ.

Table 1

<i>Univariate and multivariate (adjusted for age, sex, presence or not of DN and the glycaemic control status) single locus analysis for association with DR and with early onset DR, in co-dominant mode of inheritance, for the PAI-1 tag SNPs.</i>									
Co-dominant model of inheritance									
DR Cases VS Healthy Controls					Early Onset DR VS Late Onset DR				
SNP	GENOTYPE	Crude analysis		Adjusted analysis		Crude analysis		Adjusted analysis	
		OR (95%CI)	p-value	OR (95%CI)	p-value	OR (95%CI)	p-value	OR (95%CI)	p-value
rs2227667	A/A	1.00		1.00		1.00		1.00	
	A/G	0.65 (0.42-1.01)	0.15	0.77 (0.31-1.90)	0.59	0.61 (0.24-1.54)	0.55	0.57 (0.20-1.62)	0.51
	G/G	0.89 (0.41-1.91)		0.39 (0.05-3.33)		0.68 (0.13-3.44)		0.56 (0.09-3.39)	
rs2070682	T/T	1.00		1.00		1.00		1.00	
	T/C	0.79 (0.51-1.23)	0.46	1.11 (0.43-2.91)	0.89	3.85 (1.32-11.24)	0.03	5.04 (1.47-17.28)	0.018
	C/C	1.05 (0.57-1.96)		0.81 (0.20-3.32)		2.21 (0.53-9.21)		4.06 (0.80-20.60)	
rs2227690	A/A	1.00		1.00		1.00		1.00	
	A/G	0.68 (0.43-1.08)	0.25	0.60 (0.21-1.70)	0.17	0.47 (0.15-1.48)	0.38	0.38 (0.11-1.33)	0.26
	G/G	1.04 (0.31-3.54)		0.00 (0.00-NA)		1.14 (0.11-11.48)		1.06 (0.08-14.74)	
rs2227692	C/C	1.00		1.00		1.00		1.00	
	C/T	0.85 (0.51-1.40)	0.78	1.20 (0.41-3.49)	0.6	1.12 (0.40-3.10)	0.78	1.32 (0.43-4.04)	0.6
	T/T	0.71 (0.07-6.93)		3.66 (0.36-37.51)		NA		0.00 (0.00-NA)	
rs1050813	G/G	1.00		1.00		1.00		1.00	
	G/A	1.08 (0.68-1.69)	0.42	1.03 (0.36-2.99)	0.52	0.66 (0.24-1.81)	0.46	0.68 (0.23-1.99)	0.58
	A/A	0.42 (0.09-1.92)		0.00 (0.00-NA)		NA		0.00 (0.00-NA)	

SNP, single nucleotide polymorphism; DR, diabetic retinopathy; DN, diabetic nephropathy; PAI-1, Plasminogen activator inhibitor type-1; CI, confidence interval; OR, odds ratio;

Table 2- Table 3

Crude and adjusted for age, sex, presence or not of DN and glycaemic control status multi-locus analysis for association with DR, for the PAI-1 tag SNPs.

Haplotypes	Crude analysis					Adjusted analysis		
	Controls (%)	DR Cases (%)	OR (95%CI)	p-value	p-value global	OR (95%CI)	p-value	p-value global
1.ACACG	38.73	38.69	1.00	---		1.00	---	
2.GTGCG	18.85	15.33	0.82 (0.53 - 1.25)	0.35		0.53 (0.19 - 1.49)	0.23	
3.ATACA	16.91	16.2	1.00 (0.65 - 1.53)	1.00	0.09	0.86 (0.32 - 2.35)	0.77	0.38
4.ATACG	12.64	18.83	1.56 (1.00 - 2.43)	0.051		1.80 (0.71 - 4.54)	0.22	
5.GTATG	12.16	10.95	0.92 (0.56 - 1.52)	0.74		1.43 (0.55 - 3.75)	0.46	

DR, diabetic retinopathy; DN, diabetic nephropathy; CI, confidence interval; OR, odds ratio; haplotypes derived from polymorphisms rs222766 A/G, rs2070682 T/C, rs2227690 A/G, rs2227692 C/T and rs1050813 G/A of the plasminogen activator inhibitor type-1 gene.

P-values (Chi-square test) and generalized odds ratio (OR_G) for testing the association between genotype distribution of each variant of PAI-1 gene and the risk of T2DM leading to DR.

GENERALIZED ODDS RATIO		
SNP	OR _G (95%CI)	p-value
rs2227667	0.79 (0.60-1.05)	0.459
rs2070682	0.98 (0.76-1.27)	0.822
rs2227690	0.82 (0.61-1.12)	0.295
rs2227692	0.84 (0.58-1.21)	0.254
rs1050813	0.94 (0.68-1.28)	0.390

SNP, single nucleotide polymorphism; DR, diabetic retinopathy; T2DM, Type 2 diabetes mellitus; PAI-1, Plasminogen activator inhibitor type-1; CI, confidence interval; OR, odds ratio; OR_G, generalized odds ratio.

Figure legends

Supplementary figure 1: Tag-SNPs of PAI-1 gene (chr7: positions 100,557,172 to 100,569,026) retrieved from the International HapMap Project for CEU population (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>, Release 27, Phase II+III, Feb09, on NCBI B36 assembly, dbSNP b126).

Supplementary figure 2: Pairwise LD between the studied PAI-1 tag SNPs (rs2227667, rs2070682, rs2227690, rs2227692 and rs1050813) and LD blocks (left the D' and right the r²).

Suppl. Table 1

Genotyped PAI-1 tag SNPs characteristics.

rs number	Chromosome position	Gene position	Function	MAF (CEU)
1.rs2227667	100561469	Intron 3-4	No-coding	G (0.158)
2.rs2070682	100563987	Intron 5-6	No-coding	C (0.424)
3.rs2227690	100565342	Intron 5-6	No-coding	G (0.108)
4.rs2227692	100565964	Intron 7-8	No-coding	T (0.068)
5.rs1050813	100568335	Exon 9	3'-UTR	A (0.248)

PAI-1, Plasminogen activator inhibitor -1; SNP, single nucleotide polymorphism; MAF, minor allele frequency; CEU, Utah residents with ancestry from northern and western Europe population.

Suppl. Table 2

Allelic and genotype frequencies for PAI-1 tag SNPs in normal controls and in T2DM cases without DR, in DR cases and in DR cases with early and late onset.

SNPs	Genotypes/ alleles	Healthy Controls n=315	T2DM Cases without DR n=107	DR Cases n=138	Late onset DR Cases n=110	Early onset DR Cases n=28
		n (%)	n (%)	n (%)		
rs2227667						
Genotype	A/A	141 (0.46)	54 (0.51)	73 (0.55)	55 (0.53)	18 (0.64)
	A/G	142 (0.46)	44 (0.42)	48 (0.36)	40 (0.38)	8 (0.29)
	G/G	24 (0.08)	7 (0.07)	11 (0.08)	9 (0.09)	2 (0.07)
Allele	A	424 (0.69)	152 (0.72)	194 (0.73)	150 (0.72)	44 (0.79)
	G	190 (0.31)	58 (0.28)	70 (0.27)	58 (0.28)	12 (0.21)
rs2070682						
Genotype	T/T	107 (0.35)	36 (0.34)	52 (0.39)	47 (0.44)	5 (0.19)
	T/C	162 (0.52)	50 (0.48)	62 (0.46)	44 (0.41)	18 (0.67)
	C/C	41 (0.13)	19 (0.18)	21 (0.16)	17 (0.16)	4 (0.15)
Allele	T	376 (0.61)	122 (0.58)	166 (0.61)	138 (0.64)	28 (0.52)
	C	244 (0.39)	88 (0.42)	104 (0.39)	78 (0.36)	26 (0.48)
rs2227690						
Genotype	A/A	202 (0.65)	66 (0.65)	97 (0.72)	75 (0.7)	22 (0.81)
	A/G	101 (0.32)	33 (0.32)	33 (0.25)	29 (0.27)	4 (0.15)
	G/G	8 (0.03)	3 (0.03)	4 (0.03)	3 (0.03)	1 (0.04)
Allele	A	505 (0.81)	165 (0.81)	227 (0.85)	179 (0.84)	48 (0.89)
	G	117 (0.19)	39 (0.19)	41 (0.15)	35 (0.16)	6 (0.11)
rs2227692						
Genotype	C/C	231 (0.76)	86 (0.83)	108 (0.79)	86 (0.8)	22 (0.79)
	C/T	68 (0.23)	15 (0.14)	27 (0.2)	21 (0.19)	6 (0.21)
	T/T	3 (0.01)	3 (0.03)	1 (0.01)	1 (0.01)	0 (0)
Allele	C	530 (0.88)	187 (0.9)	243 (0.89)	193 (0.89)	50 (0.89)
	T	74 (0.12)	21 (0.1)	29 (0.11)	23 (0.11)	6 (0.11)
rs1050813						
Genotype	G/G	213 (0.69)	79 (0.75)	93 (0.69)	73 (0.68)	20 (0.77)
	G/A	83 (0.27)	20 (0.19)	39 (0.29)	33 (0.31)	6 (0.23)
	A/A	11 (0.04)	6(0.06)	2 (0.01)	2 (0.02)	0 (0)
Allele	G	509 (0.83)	178 (0.85)	225 (0.84)	179 (0.83)	46 (0.88)
	A	105(0.17)	32 (0.15)	43 (0.16)	37 (0.17)	6 (0.12)

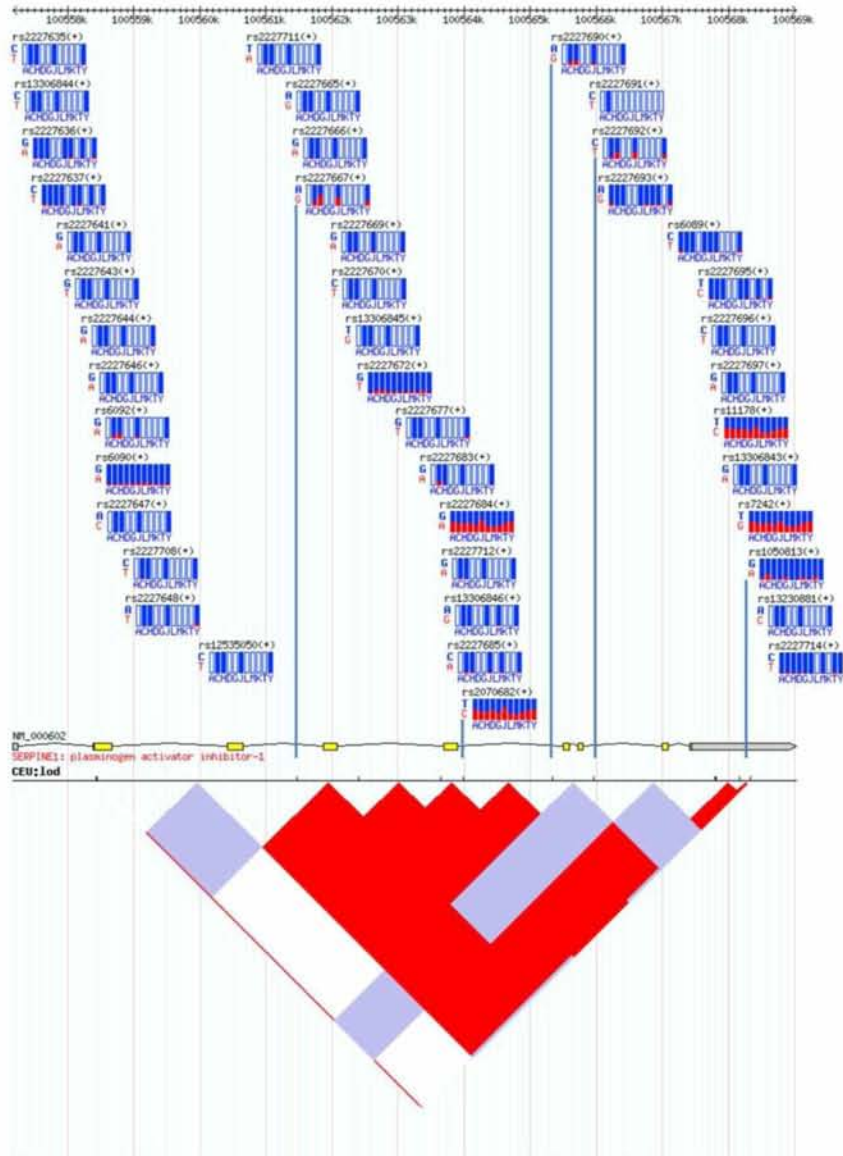
SNP, single nucleotide polymorphism; DR, Diabetic retinopathy; T2DM, Type 2 diabetes mellitus; PAI-1, Plasminogen activator inhibitor type-1; DR, diabetic retinopathy.

Suppl. Table 3

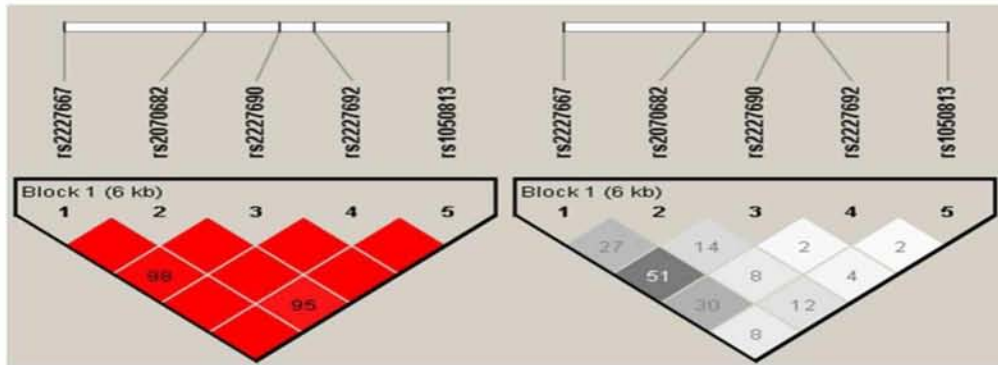
Univariate and multivariate (adjusted for age, sex, presence or not of diabetic nephropathy and the glycaemic control status) single locus analysis for association with DR and with early onset DR, in additive mode of inheritance, for the PAI-1 tag SNPs.

SNP	DR Cases VS Healthy Controls				Early Onset DR VS Late Onset DR			
	Crude analysis		Adjusted analysis		Crude analysis		Adjusted analysis	
	OR (95%CI)	P-value	OR (95%CI)	P-value	OR (95%CI)	P-value	OR (95%CI)	P-value
rs2227667	0.80 (0.57-1.11)	0.18	0.70 (0.34-1.45)	0.33	0.72 (0.36-1.43)	0.34	0.66 (0.31-1.42)	0.28
rs2070682	0.96 (0.71-1.30)	0.81	0.95 (0.50-1.79)	0.86	1.63 (0.89-2.97)	0.11	2.12 (1.04-4.33)	0.033
rs2227690	0.77 (0.52-1.15)	0.2	0.48 (0.19-1.26)	0.11	0.65 (0.26-1.61)	0.33	0.56 (0.20-1.51)	0.23
rs2227692	0.85 (0.53-1.35)	0.49	1.44 (0.61-3.41)	0.42	1.01 (0.38-2.66)	0.99	1.06 (0.38-2.97)	0.91
rs1050813	0.93 (0.63-1.36)	0.7	0.81 (0.31-2.09)	0.65	0.61 (0.23-1.58)	0.29	0.64 (0.23-1.78)	0.38

SNP, single nucleotide polymorphism; DR, diabetic retinopathy; T2DM, Type 2 diabetes mellitus; PAI-1, Plasminogen activator inhibitor type-1; CI, confidence interval; OR, odds ratio.



190x254mm (300 x 300 DPI)



139x82mm (95 x 95 DPI)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ-ΙΣΤΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ψύλλας Κωνσταντίνος, (2005), Εισαγωγή στην οφθαλμολογία και στη νευροοφθαλμολογία. UniversityStudioPress, Θεσσαλονίκη,σελ.284-290.
2. Frank RN (2004). Diabetic retinopathy. N Engl J Med 350: 48-58.
3. Patz A, Smith RE (1991). The ETDRS and Diabetes 2000. Ophthalmology 98: 739-740.
4. Μοσχωνάς Ι. (2000) Εγχειρίδιο Προσέγγισης του Διαβητικού Ασθενούς. Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε., Αθήνα.
5. Κατσίκη Ν., Ηλιάδης Φ., Ζαντίδης Α. Και Διδάγγελος Τ. Μετάφραση: Σακχαρώδης Διαβήτης: Διάγνωση και ταξινόμηση. AmericanDiabetesAssociation, DiabetesCare(2009) ; 32 [Suppl 1],S62-S67.
6. Daneman D (2006). Type 1 diabetes. Lancet 367: 847-858.
7. Ελληνική Ενδοκρινολογική Εταιρεία - Πανελλήνια Ένωση Ενδοκρινολόγων, «Εντατική Εκπαίδευση στην Ενδοκρινολογία –Τρίτος Κύκλος – Σακχαρώδης Διαβήτης - Διαταραχές Λιπιδίων», Φεβρουάριος (2000).
8. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. Lancet 365: 1333-1346.
9. Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M, Nanjo K, Sasaki A, Seino Y, Ito C, Shima K, Nonaka K, Kadowaki T. Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract.(2002) Jan;55(1):65-85.
10. www.who.diabetes
11. www.idf.org
12. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, et al. (1999). The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. J Clin Invest 104: 787-794.
13. Νικολόπουλος Α, Τεντολούρης Ν, Κατσιλάμπρος Ν (2006). Οι μηχανισμοί των επιπλοκών του σακχαρώδους διαβήτη: Νεότερες απόψεις. ΑρχείαΕλληνικήςΙατρικής 23: 131-139.
14. American Diabetes Association (2006). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 29(Suppl.1): S43-S48.
15. Ryan SJ (2006). Retina. Volume II: Medical Retina. 4th edition. Elsevier Inc., Philadelphia, PA, USA.

16. Kanski JJ (2003). *Clinical Ophthalmology: A Systematic Approach*. 5th edition. Butterworth-Heinemann, Oxford, UK.
17. Cikamatana L, Mitchell P, Rochtchina E, et al. (2007). Five-year incidence and progression of diabetic retinopathy in a defined older population: the Blue Mountains Eye Study. *Eye* 21: 465-471.
18. Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. (1989b). The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. X. Four-year incidence and progression of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 years or more. *Arch Ophthalmol* 107: 244-249.
19. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 329: 977-986.
20. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1998). Early worsening of diabetic retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Arch Ophthalmol* 116: 874-886.
21. Arun CS, Pandit R, Taylor R (2004). Long-term progression of retinopathy after initiation of insulin therapy in Type 2 diabetes: an observational study. *Diabetologia* 47: 1380-1384.
22. Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. (1984b). The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophthalmol* 102: 520-526.
23. UK Prospective Diabetes Study Group (1998b). Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 317: 703-713.
24. Hovind P, Tarnow L, Rossing K, et al. (2003). Decreasing incidence of severe diabetic microangiopathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 26: 1258-1264.
25. Hellstedt T, Kaaja R, Teramo K, et al. (1997). The effect of pregnancy on mild diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 235: 437-441.
26. Κολιόπουλος ΙΞ (1999β). Η παθογένεια της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. *Οφθαλμολογικά Χρονικά* 9: 230-234.
27. Porta M, Sjoelie AK, Chaturvedi N, et al. (2001). Risk factors for progression to proliferative diabetic retinopathy in the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia* 44: 2203-2209.
28. Mitchell P, Smith W, Wang JJ, et al. (1998). Prevalence of diabetic retinopathy in an older community. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 105: 406-411.

29. Younis N, Broadbent DM, Harding SP, et al. (2003a). Incidence of sight-threatening retinopathy in Type 1 diabetes in a systematic screening programme. *Diabet Med* 20: 758-765.
30. Romero P, Baget M, Mendez I, et al. (2007). Diabetic macular edema and its relationship to renal microangiopathy: a sample of Type I diabetes mellitus patients in a 15-year follow-up study. *J Diabetes Complications* 21: 172-180.
31. Klein R, Klein BE, Moss SE (1984a). Visual impairment in diabetes. *Ophthalmology* 91: 1-9.
32. Lightman S, Towler HM (2003). Diabetic retinopathy. *Clin Cornerstone* 5: 12-21.
33. Hosseini SM, Boright AP, Sun L, Canty AJ, Bull SB, Klein BE, et al. The association of previously reported polymorphisms for microvascular complications in a meta-analysis of diabetic retinopathy. *Hum Genet* 2015;134(2):247-257.
34. UK Prospective Diabetes Study Group (1998c). Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 39. *BMJ* 317: 713-720.
35. Schrier RW, Estacio RO, Esler A, et al. (2002). Effects of aggressive blood pressure control in normotensive type 2 diabetic patients on albuminuria, retinopathy and strokes. *Kidney Int* 61: 1086-1097.
36. Huang D., Swanson E., Lin C., et al. Optical coherence tomography. *Science* (1991);254:1178-1181.
37. Q. Li, E. Zemel, B. Miller, I. Perlman Early Retinal Damage in Experimental Diabetes: Electroretinographical and Morphological Observations *Experimental Eye Research*, Volume 74, Issue 5, Pages615-625
38. Hardy KJ, Lipton J, Scase MO, et al Detection of colour vision abnormalities in uncomplicated type 1 diabetic patients with angiographically normal retinas. *British Journal of Ophthalmology* 1992; 76:461-464.
39. André Alexandre Dosso, Emmanuelle Romaine Bonvin, Yves Morel Risk factors associated with contrast sensitivity loss in diabetic patients *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 1996, Volume 234, Number 5, Page 300
40. Grunwald JE, DuPont J, Riva CE Retinal haemodynamics in patients with early diabetes mellitus. *British Journal of Ophthalmology* 1996;80:327-331.

41. Retinal Hemodynamics in Early Diabetic Macular Edema Kit Guan et al *Diabetes* 2006 Mar; 55(3): 813-818
42. Clermont et al. Vascular Endothelial Growth Factor and Severity of Nonproliferative Diabetic Retinopathy Mediate Retinal Hemodynamics In Vivo: A Potential Role for Vascular Endothelial Growth Factor in the Progression of Nonproliferative Diabetic Retinopathy *American Journal of Ophthalmology*, Volume 124, Issue 4, Pages 433-446 C
43. Mehdi Karami, Mohsen Janghorbani, Alireza Dehghani, Karim Khaksar, Ahmad Kaviani Rev Orbital Doppler Evaluation of Blood Flow Velocities in Patients with Diabetic Retinopathy *Diabet Stud.* 2012 Summer-Fall; 9(2-3): 104–111.
44. Clermont et al. Vascular Endothelial Growth Factor and Severity of Nonproliferative Diabetic Retinopathy Mediate Retinal Hemodynamics In Vivo: A Potential Role for Vascular Endothelial Growth Factor in the Progression of Nonproliferative Diabetic Retinopathy *American Journal of Ophthalmology* Volume 124, Issue 4, October 1997, Pages 433-446
45. Bertram et al Blood rheology and retinopathy in adult type I diabetes mellitus *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, vol. 12, no. 3, pp. 437-448, 1992
46. Patel et al. Retinal blood flow in diabetic retinopathy *BMJ.* 1992 Sep 19; 305(6855): 678-83.
47. E Grunwald et al. Retinal hemodynamics in proliferative diabetic retinopathy. A laser Doppler velocimetry study *Articles IOVS* January 1993.
48. Grunwald et al., Effect of Panretinal Photocoagulation on Retinal Blood Flow in Proliferative Diabetic Retinopathy *Ophthalmology* Volume 93, Issue 5, May 1986, Pages 590-595.
49. Einar Stefansson The therapeutic effects of retinal laser treatment and vitrectomy. A theory based on oxygen and vascular physiology. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 2001 435.
50. Fujio N, Feke GT, Goger DG, et al Regional retinal blood flow reduction following half fundus photocoagulation treatment. *British Journal of Ophthalmology* 1994; 78: 335-338.]
51. Yu et al Retinal degeneration and local oxygen metabolism *Experimental Eye Research*, Volume 80, Issue 6, Pages 745-751.
52. Karen J. Cruickshanks, Linda L. Ritter, Ronald Klein, Scot E. Moss The Association of Microalbuminuria with Diabetic Retinopathy *Ophthalmology*, Volume 100, Issue 6, Pages 862-867.

53. Irfan et al., Effect of pregnancy on diabetic nephropathy and retinopathy. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP* [01 Feb 2004, 14(2):75-78]
54. VanNewkirk MR, Weih L, McCarty CA & Taylor HR (2001): Cause-specific prevalence of bilateral visual impairment in Victoria, Australia: the Visual Impairment Project. *Ophthalmology* 108: 960–967.
55. Folk and Pulido, *Laser Photocoagulation of the Retina and Choroid* American Academy of Ophthalmology, 1997
56. The Diabetic Retinopathy Study Research Group, Photocoagulation treatment of proliferative diabetic retinopathy: relationship of adverse treatment effects to retinopathy severity. Diabetic Retinopathy Study report no. 5. *Dev Ophthalmol* 1981; 2: 248-261.
57. Smiddy WE, Feuer W, Irvine WD, Flynn Jr HW, Blankenship GW. Vitrectomy for complications of proliferative diabetic retinopathy. Functional outcomes. *Ophthalmology* 1995; 102: 1688–1695
58. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Photocoagulation for diabetic macular edema. ETDRS report number 1. *Arch Ophthalmol* 1985; 103: 1796-1806.
59. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Techniques for scatter and local photocoagulation treatment of diabetic retinopathy. ETDRS report number 3. *Int Ophthalmol Clin* 1987; 27: 254-264.
60. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Photocoagulation for diabetic macular edema. ETDRS report number 4. *Int Ophthalmol CHN* 1987; 27: 265-272.
61. Wang, X., Lin, X., Loy, J.A., Tang, J., Zhang, X.C. Crystal structure of the catalytic domain of human plasmin complexed with streptokinase. *Journal: (1998) Science* 281: 1662-1665.
62. Berkenblit A., Matulonis U., Kroener J., Dezube B., Lam G., Cuasay L., Brünner N., Jones T., Silverman M., Gold M. Å6, a urokinase plasminogen activator (uPA)-derived peptide in patients with advanced gynecologic cancer: A phase I trial. *Gynecologic Oncology*. Volume 99, Issue 1, October 2005, Pages 50–57
63. Holvoet et al, A monoclonal antibody specific for Lys-plasminogen. Application to the study of the activation pathways of plasminogen in vivo. *Journal of biological chemistry* 260, 12106-12111 1985
64. Chang Alice and Fantus I. *CMAJ*, p.213, (2005).

65. Henry, M., Tregouët, D. A., Alessi, M. C., Aillaud, M. F., Visvikis, S., Siest, G., Tiret, L. & Juhan-Vague, I. (1998) Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphisms in determining the PAI-1 activity and antigen plasma concentrations: a family study with part of the Stanislas Cohort. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 18, 84-9.
66. Alessi, M. C., Poggi, M. & Juhan-Vague, I. (2007). Plasminogen activator inhibitor-1, adipose tissue and insulin resistance. *Current Opinion in Lipidology* 18, 240-245.
67. Morange, P. E., Bastelica, D., Bonzi, M. F., Van Hoef, B., Collen, D., Juhan-Vague, I. & Lijnen, H. R. (2002) Influence of t-pA and u-PA on adipose tissue development in a murine model of diet-induced obesity. *Thrombosis and Haemostasis* 87, 306-310.
68. George Baltas¹, Konstantinos Markakis², Helen Kotsifaki³. Acute phase response: Clinical significance and biomarkers *Analecta Periodontologica* Volume 20 (2009), Periodontal Medicine.
69. Wiman B. Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. *Thrombosis and Haemostasis* 1995; 74(1):71-76.
70. Juhan-Vague I, Pyke SDM, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *Circulation* 1996;94 : 2057-63.
71. Chen YW, Su M, W alia RR, Hao Q, Covington JW, Vaughan DE. Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1998; 273:8225-31.
72. Brown et al., Comparative Effect of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition and Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonism on Plasma Fibrinolytic Balance in Humans Hypertension. 1999;34:285-290
73. Orbe J, Montes R, Zabalegui N, Perez-Ruiz A, Paramo JA. Evidence that heparin but not hirudin reduces PAI-I expression in cultured human endothelial cells. *Thromb Res* 1999;94 :137-45.
74. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henny AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator-I (PAI-I) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993;268 : 10739-45.

75. Eriksson P, Kallin B, van't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele specific increase in basal transcription of the plasminogen activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:1851-5.
76. Eriksson P, Nilsson L, Karpe F, Hamsten A. Very-low-density lipoprotein response element in the promoter region of the human plasminogen activator inhibitor-1 gene implicated in the impaired fibrinolysis of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:20-6.
77. Mansfield M W, Stickland M H, Grant PJ. Environmental and genetic factors in relation to elevated circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1 in Caucasian patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 1995;74: 842-7.
78. Gebara et al., Association between increased estrogen status and increased fibrinolytic potential in the Framingham Offspring Study. *Circulation*. 1995 Apr 1;91(7):1952-8
79. Kohler HP and Grant PJ. Plasminogen-Activator type 1 and coronary artery disease. *N Eng J Med*; 2000;342 (24) :1792-1801.
80. Sironi L, Mussoni L, Prati L, et al. PAI-1 synthesis and mRNA expression in HepG2 cells are regulated by VLDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:89-96.
81. Raum D., Marcus D., Alper C., ET AL. Synthesis of human plasminogen by the liver. *Science* 1980;208:1036-7.
82. David J. Schneider, MD and Burton E. Sobel, MD PAI-1 and Diabetes: A Journey From the Bench to the Bedside *Diabetes Care*. 2012 Oct; 35(10): 1961–1967.
83. Castellino F. Biochemistry of human plasminogen. *Semin Thromb Hemost* 1984;10:18-23.
84. Panahloo A et al., Determinants of plasminogen activator inhibitor 1 activity in treated NIDDM and its relation to a polymorphism in the plasminogen activator inhibitor 1 gene. *Diabetes*. 1995 Jan;44(1):37-42
85. Diamond S., Eskin S., McIntire L. Fluid flow simulates tissue plasminogen activator secretion by human endothelial cells. *Science* 1989;243:1483-5.
86. Kasai S., Arimura H., Nishida M., et al. Primary structure of single-chain pro-urokinase. *J Biol Chem* 1985;260:12382-9.

87. Aoki N. Genetic abnormalities of the fibrinolytic system. *Semin Thromb Hemost* 1984;10:42-50.
88. Kruithof E. Plasminogen activator inhibitor type 1. *Biochemical, Biological and clinical aspects. Fibrinolysis* 1988;2:59-70.
89. Loskutoff D., Linders M., Keijer J., et al. Structure of the human plasminogen activator inhibitor type 1 gene. Non-random distribution of introns. *Biochemistry* 1987;26:3763-8.μ
90. Gelehrter T. and Scyncer-Laszuk R. Thrombin induction of plasminogen activator-inhibitor synthesis in vitro. *J Clin Inverst* 1986;77:165-9.
91. Sprengers E. and Kluft D. Plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987;69:381-7.
92. Dear A., Shen Y., Ruegg M., et al. Molecular mechanisms governing tumor-necrosis-factor-mediated regulation of plasminogen- activator-inhibitor type 2 expression. *Eur J Biochem* 1996;241:93-100.
93. Helege R. and Pollex R. Genetic and polymorphism insights into the metabolic syndrome. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;289(3):R2663-9.
94. Alexander J. Obesity and coronary heart disease. *Am J Med Sci* 2001;321:215-24.
95. Newman B., Selby J., King M., Slemenda C., Fabsitz R., Friedman G. Concordance for type 2 (non insulin dependent) diabetes mellitus in male twins. *Diabetologia* 1987;30:763-8.
96. Powers A. Diabetes mellitus. *Harrison's Principles of Internal Medicine. Vol 2, p.2158-60, 2005.*
97. Gallicchio Metal., Stimulation of PAI-1 expression in endothelial cells by cultured vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb.* 1994 May;14(5):815-23.
98. Longstaff C. and Gaggney P. Seprin-serine protease binding kinetics: alpha 2-antiplasmin as a model inhibitor. *Biochemistry* (1991);30:979-86.
99. Dear A. and Medcalf R. The cellular and molecular biology of plasminogen activator inhibitor type 2. *Fibronolysis* (9):321-330, (1995).
100. Karlson P., Gerok W. and Grob W. Κλινική παθολογική βιοχημεία. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, σελ.331-2,(1999).
101. Shaw J., Sicree R. and Zimmet P. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;87:4-14.

102. Lionis C., Bathianaki M., Antonakis N., Papavasiliou S. and Philalithis A. A high prevalence of diabetes mellitus in a municipality of rural Crece, Greece. *Diabet Med* 2001;18:768-9.
103. King H., Aubert R. and Herman W. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 1998;21:1414-31.
104. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet* 2010;376(9735):124–136.
105. Klein BE. Overview of epidemiologic studies of diabetic retinopathy. *Ophthalmic Epidemiol* 2007;14(4):179–183.
106. Zeng J, Chen B. Epigenetic mechanisms in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Ophthalmologica* 2014;232(1):1–9.
107. Zhong ZL, Chen S. Plasma plasminogen activator inhibitor-1 is associated with end-stage proliferative diabetic retinopathy in the Northern Chinese Han population. *Exp Diabetes Res* 2012;2012:350852.
108. Nittala MG, Keane PA, Zhang K, Sadda SR. Risk factors for proliferative diabetic retinopathy in a Latino American population. *Retina* 2014;34(8):1594–1599.
109. Aiello LP, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL, 3rd, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1998;21(1):143–156.
110. Henricsson M, Nystrom L, Blohme G, Ostman J, Kullberg C, Svensson M, et al. The incidence of retinopathy 10 years after diagnosis in young adult people with diabetes: results from the nationwide population-based diabetes incidence study in Sweden (DISS). *Diabetes Care* 2003;26(2):349–354.
111. Cho H, Sobrin L. Genetics of diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep* 2014;14(8):515.
112. Lipner EM, Tomer Y, Noble JA, Monti MC, Lonsdale JT, Corso B, et al. Linkage analysis of genomic regions contributing to the expression of type 1 diabetes microvascular complications and interaction with HLA. *J Diabetes Res* 2015;2015:694107.
113. Monti MC, Lonsdale JT, Montomoli C, Montross R, Schlag E, Greenberg DA. Familial risk factors for microvascular complications and differential male-female risk in a large cohort of American families with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(12):4650–4655.
114. Billings LK, Florez JC. The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS? *Ann N Y Acad Sci* 2010;1212:59–77.
115. Kuo JZ, Wong TY, Rotter JI. Challenges in elucidating the genetics of diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol* 2014;132(1):96–107.

116. Castellino FJ, Ploplis VA. Structure and function of the plasminogen/plasmin system. *Thromb Haemost* 2005;93(4):647–654.
117. Erem C, Hacıhasanoglu A, Celik S, Ovali E, Ersoz HO, Ukinc K, et al. Coagulation and fibrinolysis parameters in type 2 diabetic patients with and without diabetic vascular complications. *Med Princ Pract* 2005;14(1):22–30.
118. Ezzidi I, Mtiraoui N, Chaieb M, Kacem M, Mahjoub T, Almawi WY. Diabetic retinopathy, PAI-1 4G/5G and -844G/A polymorphisms, and changes in circulating PAI-1 levels in Tunisian type 2 diabetes patients. *Diabetes Metab* 2009;35(3):214–219.
119. Grant MB, Spoerri PE, Player DW, Bush DM, Ellis EA, Caballero S, et al. Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 overexpression in retinal microvessels of PAI-1 transgenic mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(8):2296–2302.
120. Mansfield MW, Stickland MH, Carter AM, Grant PJ. Polymorphisms of the plasminogen activator inhibitor-1 gene in type 1 and type 2 diabetes, and in patients with diabetic retinopathy. *Thromb Haemost* 1994;71(6):731–736.
121. Xu K, Liu X, Yang F, Cui D, Shi Y, Shen C, et al. PAI-1-675 4G/5G polymorphism in association with diabetes and diabetic complications susceptibility: a meta-analysis study. *PLoS One* 2013;8(11):e79150.
122. Zhang T, Pang C, Li N, Zhou E, Zhao K. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and retinopathy risk in type 2 diabetes: a meta-analysis. *BMC Med* 2013;11:1.
123. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92(6):1851–1855.
124. Tachmitzi SV, Tsironi EE, Kotoula MG, Dardiotis E, Eleftheriadis T, Chatzoulis DZ, et al. Association between polymorphisms and haplotypes in AKR1B1 and diabetes type 2 leading to complications. *Int J Med Health Sci* 2015;4(4):430–436.
125. Stefanidis I, Kytoudis K, Papathanasiou AA, Zaragotas D, Melistas L, Kitsios GD, et al. XbaI GLUT1 gene polymorphism and the risk of type 2 diabetes with nephropathy. *Dis Markers* 2009;27(1):29–35.
126. Dardiotis E, Paterakis K, Siokas V, Tsivgoulis G, Dardioti M, Grigoriadis S, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme tag single nucleotide polymorphisms on the outcome of patients with traumatic brain injury. *Pharmacogenet Genomics* 2015;25(10):485–490.
127. Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 2002;296(5576):2225–2229.

128. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 2005;21(2):263–265.
129. Skol AD, Scott LJ, Abecasis GR, Boehnke M. Joint analysis is more efficient than replication-based analysis for two-stage genome-wide association studies. *Nat Genet* 2006;38(2):209–213.
130. Sole X, Guino E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006;22(15):1928–1929.
131. Lettre G, Lange C, Hirschhorn JN. Genetic model testing and statistical power in population-based association studies of quantitative traits. *Genet Epidemiol* 2007;31(4):358–362.
132. Zintzaras E. The generalized odds ratio as a measure of genetic risk effect in the analysis and meta-analysis of association studies. *Stat Appl Genet Mol Biol* 2010;9:Article21.
133. Zintzaras E. The power of generalized odds ratio in assessing association in genetic studies with known mode of inheritance. *J Appl Stat* 2012;39(12):2569–2581.
134. Ziegler A, Van Steen K, Wellek S. Investigating Hardy-Weinberg equilibrium in case-control or cohort studies or meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2011;128(1):197–201.
135. Dobrovolsky AB, Titaeva EV. The fibrinolysis system: regulation of activity and physiologic functions of its main components. *Biochemistry (Mosc)* 2002;67(1):99–108.
136. Zorio E, Gilabert-Estelles J, Espana F, Ramon LA, Cosin R, Estelles A. Fibrinolysis: the key to new pathogenetic mechanisms. *Curr Med Chem* 2008;15(9):923–929.
137. Cale JM, Lawrence DA. Structure-function relationships of plasminogen activator inhibitor-1 and its potential as a therapeutic agent. *Curr Drug Targets* 2007;8(9):971–981.
138. Vaughan DE. PAI-1 antagonists: the promise and the peril. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2011;122:312–325.
139. Grassi MA, Tikhomirov A, Ramalingam S, Below JE, Cox NJ, Nicolae DL. Genome-wide meta-analysis for severe diabetic retinopathy. *Hum Mol Genet* 2011;20(12):2472–2481.
140. Huang YC, Lin JM, Lin HJ, Chen CC, Chen SY, Tsai CH, et al. Genome-wide association study of diabetic retinopathy in a Taiwanese population. *Ophthalmology* 2011;118(4):642–648.

141. Sheu WH, Kuo JZ, Lee IT, Hung YJ, Lee WJ, Tsai HY, et al. Genome-wide association study in a Chinese population with diabetic retinopathy. *Hum Mol Genet* 2013;22(15):3165–3173.
142. Fu YP, Hallman DM, Gonzalez VH, Klein BE, Klein R, Hayes MG, et al. Identification of diabetic retinopathy genes through a genome-wide association study among Mexican-Americans from Starr County, Texas. *J Ophthalmol* 2010;2010.
143. Simo-Servat O, Hernandez C, Simo R. Genetics in diabetic retinopathy: current concepts and new insights. *Curr Genomics* 2013;14(5):289–299.
144. Hosseini SM, Boright AP, Sun L, Canty AJ, Bull SB, Klein BE, et al. The association of previously reported polymorphisms for microvascular complications in a meta-analysis of diabetic retinopathy. *Hum Genet* 2015;134(2):247–257.
145. Kimura H, Gejyo F, Suzuki Y, Suzuki S, Miyazaki R, Arakawa M. Polymorphisms of angiotensin converting enzyme and plasminogen activator inhibitor-1 genes in diabetes and macroangiopathy. *Kidney Int.* 1998;54(5):1659-69.