



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ευαγγελή Τσιρώνη

Διδακτορική Διατριβή

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

υπό

ΦΑΝΗΣ Γ. ΖΑΧΑΡΑΚΗ

Ιατρού Οφθαλμιάτρου

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2014

© 2014 Φανή Ζαχαράκη

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

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

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

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπων)**

Δρ. Δημήτριος Χατζούλης

Ομότιμος Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

2^{ος} Εξεταστής

Δρ. Γεώργιος Χατζηγεωργίου

Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

3^{ος} Εξεταστής

Δρ. Ευαγγελή Τσιρώνη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

4^{ος} Εξεταστής

Δρ. Ασπασία Τσέζου

Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

5^{ος} Εξεταστής

Δρ. Ελένη Γεωργάτσου

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας-Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

6^{ος} Εξεταστής

Δρ Παναγιώτης Λιάκος

Επίκουρος Καθηγητής Ιατρική Βιοχημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

7^{ος} Εξεταστής

Δρ. Ευθύμιος Δαρδιώτης

Επίκουρος Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Φανή Ζαχαράκη

Στους γονείς μου, Μαρία και Γιώργο.

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

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ

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

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

ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ: 55

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

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

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

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

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

ΦΑΝΗ Γ. ΖΑΧΑΡΑΚΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2014

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

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

ABSTRACT

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

Πίνακας Περιεχομένων

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

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

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

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

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

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

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

Κεφάλαιο 2. Γενικό μέρος

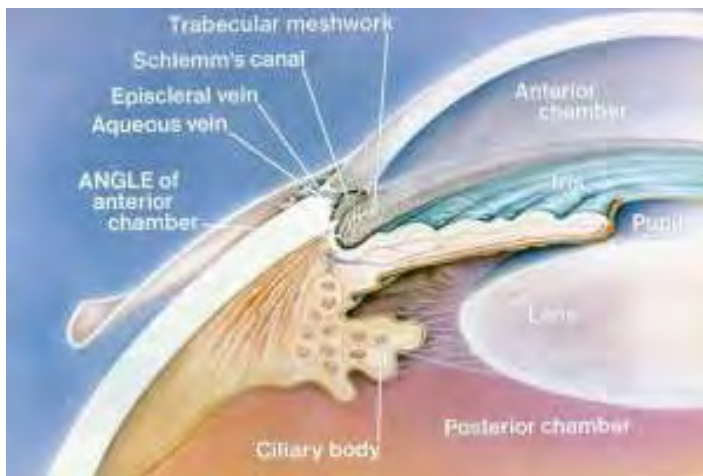
2.1. Ανατομία και παθοφυσιολογία του γλαυκώματος

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

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

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

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



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

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

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

όπου:

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

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

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

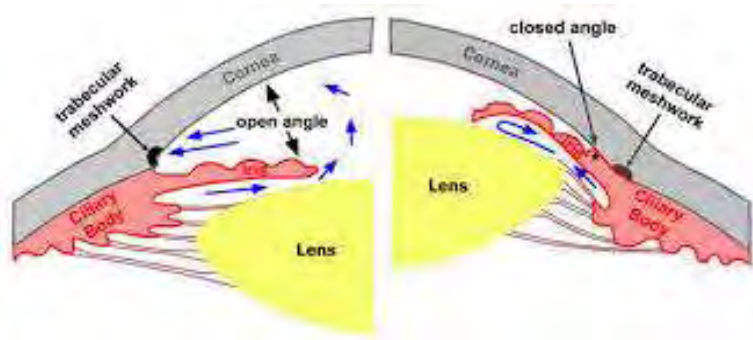
διαφορές των επιπέδων κορτικοειδών στο αίμα και σχετίζεται περισσότερο με τον κύκλο του ύπνου παρά με την εναλλαγή ημέρας-νύχτας. Έχει διαπιστωθεί από έρευνες ότι σε ασθενείς με γλαύκωμα η ημερήσια διακύμανση της ενδοφθάλμιας πίεσης είναι μεγαλύτερη και μπορεί να φθάσει ως τα 15 mmHg. Επίσης, η μέση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

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

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

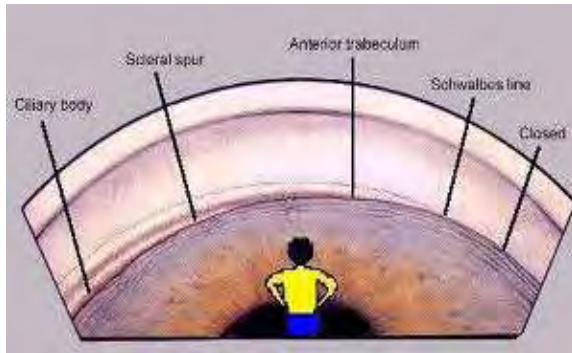
Παράλληλα, η εξέταση και γνώση της ανατομικής της γωνίας του προσθίου θαλάμου είναι κεφαλαιώδους σημασίας για την ταξινόμηση των γλαυκωμάτων. Με βάση αυτήν, τα γλαυκώματα διαχωρίζονται σε ανοικτής και κλειστής γωνίας. Στην πρώτη περίπτωση η γωνία

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



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

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



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

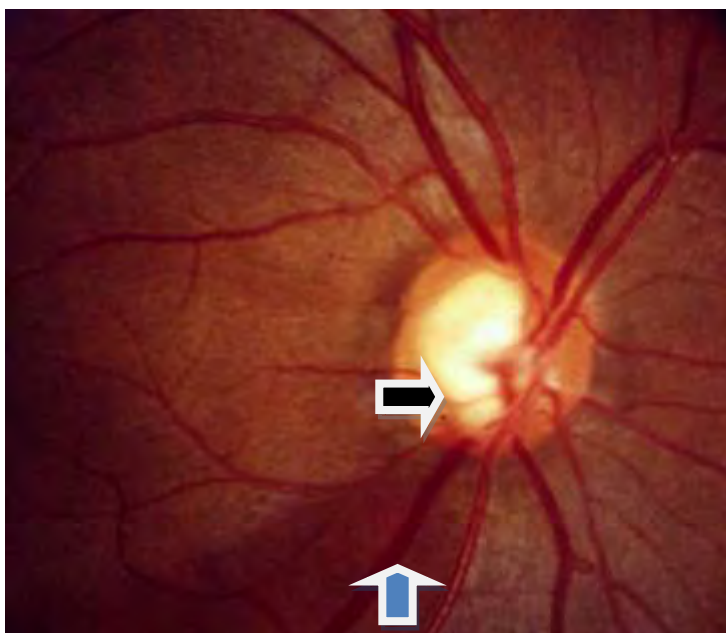
Το γλαύκωμα χαρακτηρίζεται επίσης ως πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές, ανάλογα με το αν υπάρχει γνωστή αιτία που το προκαλεί. Στα δευτεροπαθή γλαυκώματα, εξ' ορισμού, συγκεκριμένες παθολογικές καταστάσεις επιδρούν στην παροχέτευση του υδατοειδούς υγρού, όπως για παράδειγμα η ανάπτυξη νεοαγγείων στην ίριδα και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

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

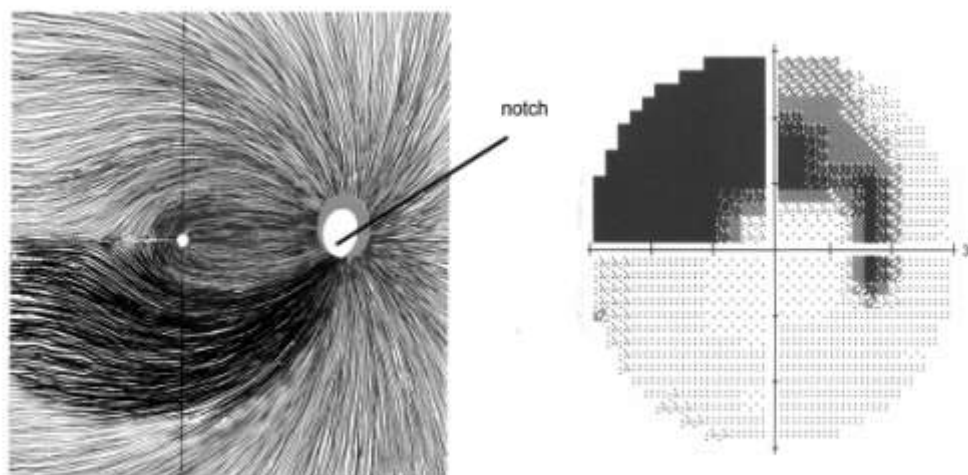
2.2. Πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας

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

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



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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

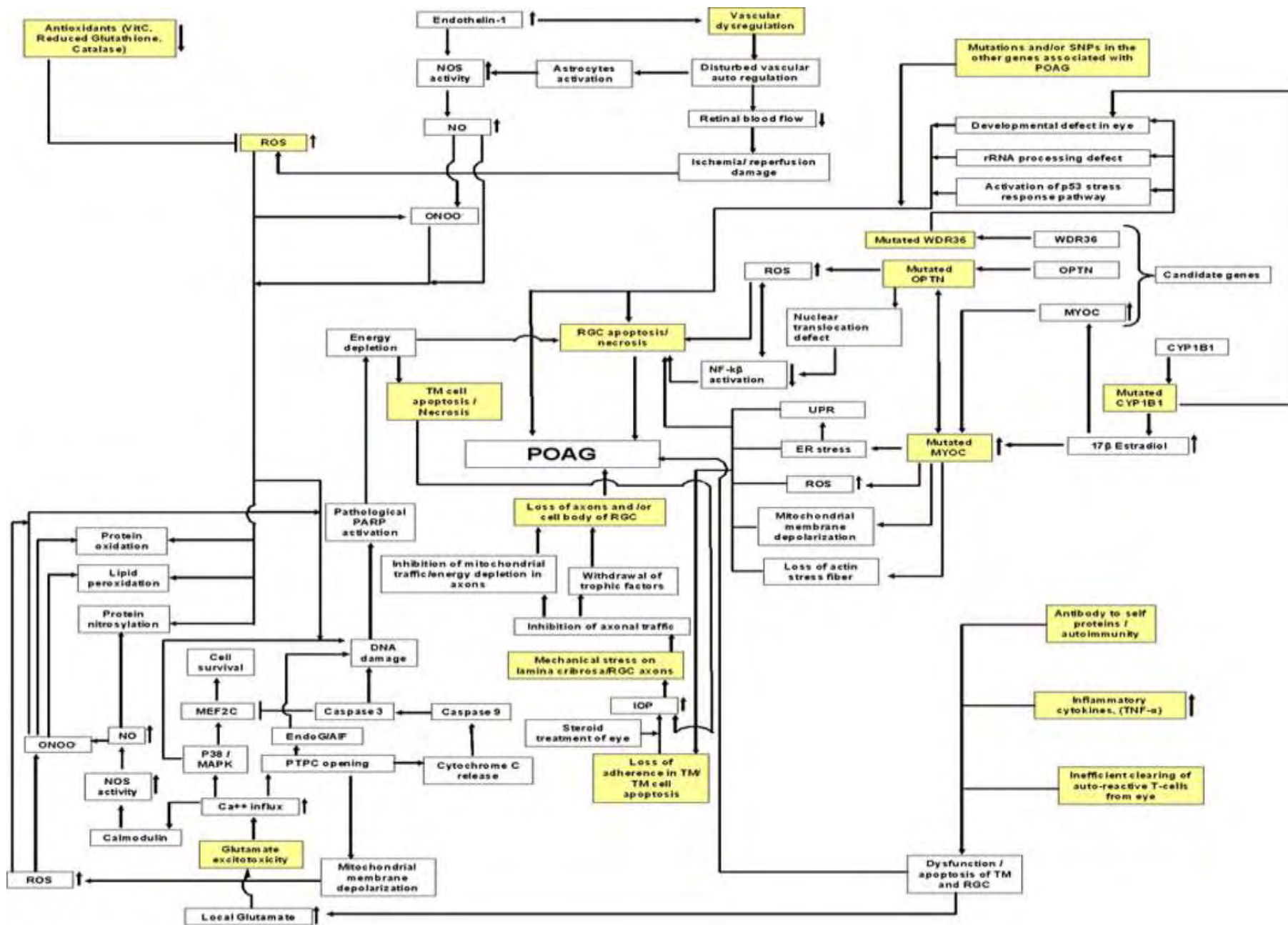
Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) ενέχεται επίσης και ως δεύτερος αγγελιοφόρος (second messenger),⁴⁸ μεταβάλλοντας τη δράση των αντλιών Na⁺ και συμμετέχοντας στην κυτταρική απόπτωση, μηχανισμός που απαντάται επίσης και σε άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως η νόσος Alzheimer.

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

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

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

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



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

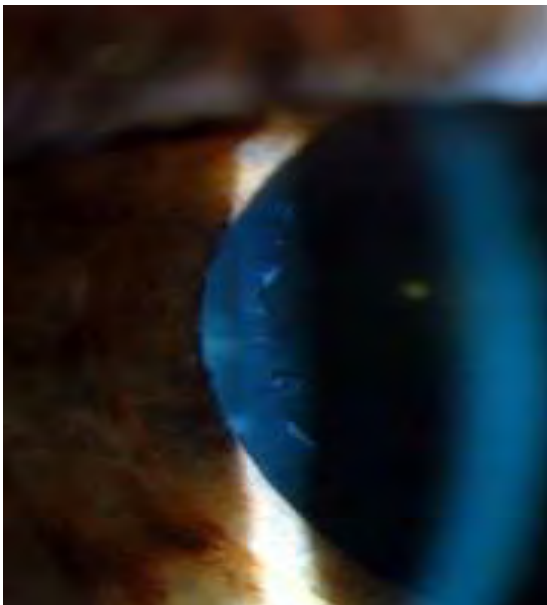
Από τα παραπάνω συνάγεται ότι ένα σύνολο παραγόντων και μοριακών μηχανισμών που περιλαμβάνουν την επίδραση της οφθαλμικής υπερτονίας, τη δυσλειτουργία των μηχανισμών αγγειακής αυτορρύθμισης, (vascular dysregulation), την τοξικότητα του γλουταμικού, και την αύξηση του οξειδωτικού stress συνυπάρχουν και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

2.3. Ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.4. Ψευδοαποφολιδωτικό γλάυκωμα

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

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

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

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

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

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

2.5 Ομοκυστεΐνη

2.5.1. Γενικά στοιχεία

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

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

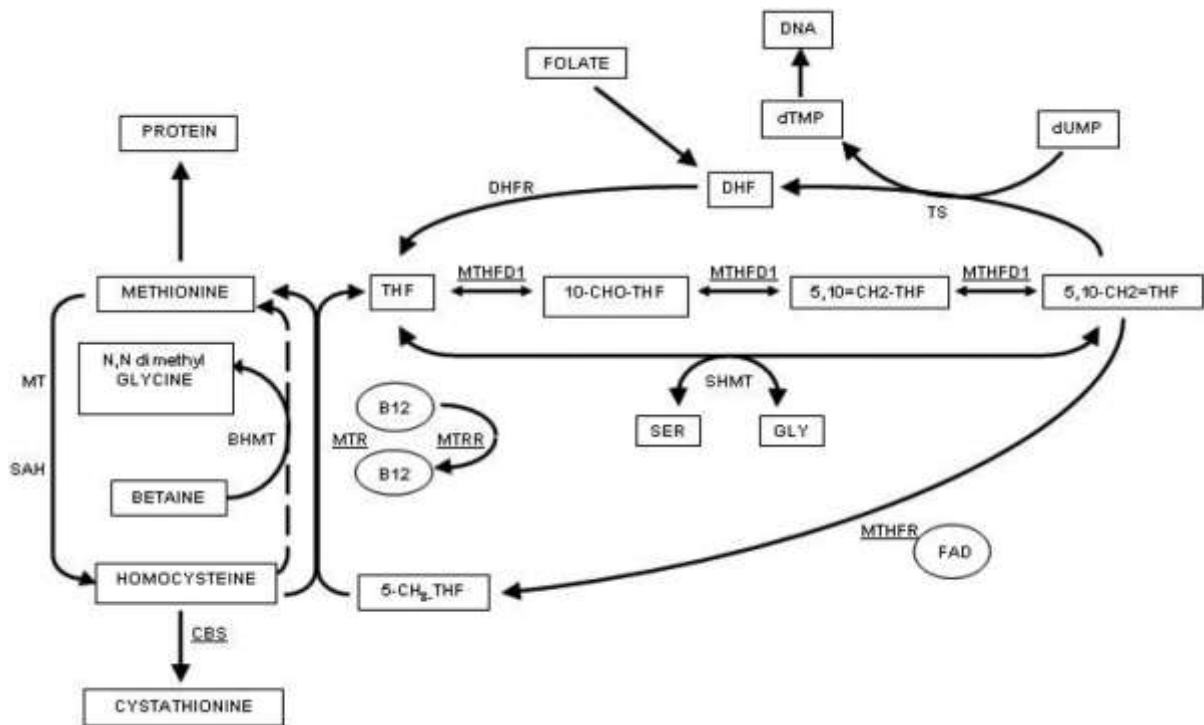
παράγοντας ελάττωσης της αιματικής ροής στην περιοχή του οπτικού νεύρου και, εν συνεχεία, ως παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη γλαυκώματος. Μάλιστα, το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας αποτελεί τον συχνότερο οφθαλμικό παράγοντα κινδύνου για απόφραξη κεντρικής φλέβας αμφιβληστροειδούς.

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

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

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

Το παρακάτω σχήμα δείχνει τις οδούς του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης.



Σχήμα 2. Μεταβολισμός ομοκυστεΐνης

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

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

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

(Fan et al, Mol Vis. 2008)

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

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

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

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

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

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

2.5.2. Ομοκουστεΐνη και γλαύκωμα

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Κεφάλαιο 3. Ειδικό μέρος

3.1. Σκοπός της μελέτης

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

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

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

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

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

3.2. Υλικό και μέθοδος

3.2.1. Επιλογή ασθενών

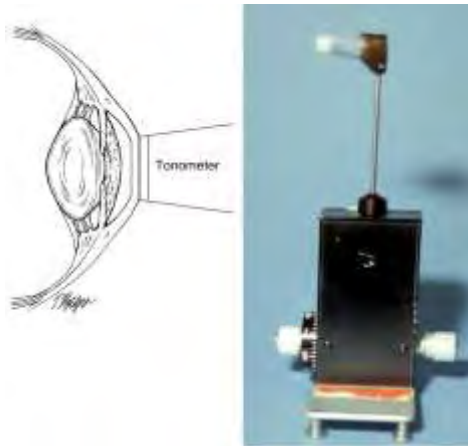
Η μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι, με την έγκριση της αρμόδιας επιτροπής δεοντολογίας. Όλοι οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν και έδωσαν τη συγκατάθεσή τους πριν συμπεριληφθούν σε αυτήν.

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.2.2. Εργαστηριακό μέρος

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

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

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

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

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

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

1) rs1801131

*** AB Assay Information File

*** Version 03.01.00

*** Number of Assay Information Fields 1

*** Begin Assay Information

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

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

1) rs1801133

*** AB Assay Information File

*** Version 03.01.00

*** Number of Assay Information Fields 1

*** Begin Assay Information

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

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

*** End Assay Information

3) rs8006686

*** AB Assay Information File

*** Version 03.01.00

*** Number of Assay Information Fields 1

*** Begin Assay Information

| Customer Name | Order Number | Ship Date | Delivery Number | Part Number | |
|--|--|------------------------------|-----------------------------|---|----------------------------|
| Product Type | Assay ID | Lot Number | Plate Type | Plate ID | Vial Type |
| Vial ID | Well Location | Assay Mix Conc. | Forward Primer Name | Forward Primer Seq. | Forward Primer Conc. |
| Reporter 1 Name | Reporter 1 Dye | Reporter 1 Sequence | Reporter 1 | Reporter 1 | Reporter 1 |
| Reporter 1 Quencher | Reporter 2 Name | Reporter 2 Dye | Reporter 2 | Reporter 2 | Reporter 2 |
| Reporter 2 Conc. | Reporter 2 Quencher | Context Sequence | Design | Design | Design |
| Strand Category | Category ID | Group Group ID | Gene Symbol | Gene Name | Gene Name |
| Chromosome | Species | Target Exons | NCBI Gene Reference | NCBI SNP Reference | NCBI SNP Reference |
| Medline Reference | Celera ID | Cytogenetic Band | SNP Type | SNP Type | SNP Type |
| Minor Allele Freq - Caucasian | Minor Allele Freq - African-American | Minor Allele Freq - Japanese | Minor Allele Freq - Chinese | Celera Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number |
| Location on Celera Assembly | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number |
| Location on NCBI Assembly | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number | NCBI Assembly Build Number |
| University of Utah | 186699510 | 08-NOV-2011 | 883616369 | 4351379 | TaqMan® |
| SNP Genotyping Assays, Human, SM | C_32395448_10 | P111031-001C03 | 96- | position tube rack v1 | 186699510_1 |
| Matrix Tube | 0117634053 | A01 | 40x | C_32395448_10_F | 36 |
| C_32395448_10_R | 36 | C_32395448_10_V | VIC | 8 | NFQ |
| C_32395448_10_M | FAM | 8 | NFQ | AGTCTTTTGCTGTGTGCTGGTTTGA[C/T]TGAAATATATGGAGAAAATTTGG | |
| CT Reverse | Chromosome 14 | Chr14 | D14S274-D14S1050 | D14S274 | MTHFD1 |
| methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1, | methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase, formyltetrahydrofolate synthetase | 14 | Homo sapiens | NM_005956.3 | rs8006686 |
| hCV32395448 | 14q23.3a | Intron | 37 | 64868671 | |

*** End Assay Information

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

Πίνακας 1. Συνθήκες αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης

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

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

3.2.3. Στατιστική ανάλυση

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

Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα

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

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

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

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

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

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των ομάδων ασθενών - μαρτύρων

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

Συντομογραφίες: ΠΓΑΓ: πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας, ΨΑΓ:

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

Πίνακας 3. Συχνότητα των γονοτύπων και των αλληλόμορφων.

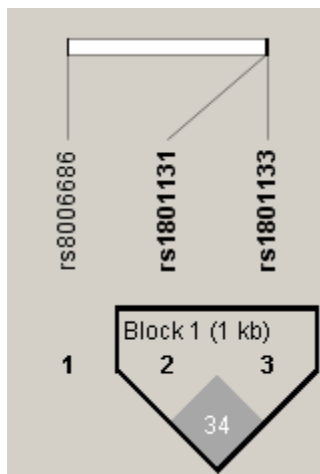
| MTHFR | | Μάρτυρες | | ΠΓΑΓ | | ΨΑΓ | |
|------------------|-----------|-----------------|----|-------------|----|-------------|-----|
| | | Συχνότητα % | N | Συχνότητα % | No | Συχνότητα % | No. |
| rs1801131 | Γονότυπος | | | | | | |
| | TT | 48,12% | 64 | 50,00% | 33 | 41,89% | 31 |
| | GT | 42,11%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

Πίνακας 4. Αποτελέσματα συσχετίσεων

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

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

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



Κεφάλαιο 5. Συζήτηση

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Κεφάλαιο 6. Συμπέρασμα

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

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

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

Βιβλιογραφία

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[72] Kubota T., Schlötzer-Schrehardt U., Inomata H., Naumann G.O. "Immunoelectron microscopic localization of the HNK-1 carbohydrate epitope in the anterior segment of pseudoexfoliation and normal eyes", *Curr Eye Res*, 1997:16:231–8.

[73] Konstas A.G., Marshall G.E., Cameron S.A., Lee W.R. "Morphology of iris vasculopathy in exfoliation glaucoma", *Acta Ophthalmol (Copenh)*, 1993:71(6):751-9.

[74] Schlötzer-Schrehardt U.M., Koca M.R., Naumann G.O.H., Volkholz H. "Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder?", *Arch. Ophthalmol.*, 1992:110:1952–1956.

[75] Tarkkanen A. "IS exfoliation syndrome a sign of systemic vascular disease?", *Acta Ophthalmol.*, 2008:86:832–836 .

[76] Mitchell P., Wang J.J., Smith W. "Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk", *Am J Ophthalmol.*, 1997:124(5):685-7.

[77] Schumacher S., Schlötzer-Schrehardt U., Martus P., Lang W., Naumann G.O.H. "Pseudoexfoliation syndrome and aneurysms of the abdominal aorta", *The Lancet*, 2001:357: 359–360.

[78] Shrum K.R., Hattenhauer M.G., Hodge D. "Cardiovascular and cerebrovascular mortality associated with ocular pseudoexfoliation", *Am J Ophthalmol.*, 2000: 129(1):83-86.

[79] Ritch R., Schlotzer-Schrehardt U., Konstas A.G. "Why is glaucoma associated with exfoliation syndrome?", *Prog Retin Eye Res.*, 2003:22(3):253-75.

[80] Thorleifsson G., Magnusson K.P., Sulem P., Walters G.B. et al. "Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma", *Science*, 2007:317(5843):1397-400.

[81] Liu X., Zhao Y., Gao J. et al. "Elastic fiber homeostasis requires lysyl-oxidase-like 1 protein", *Nat Genet.*, 2004: 36(2): 178-182.

[82] Oleggini R., Gastaldo N., Di Donato A. "Regulation of elastin promoter by lysyl-oxidase and growth factors: cross-control of lysyl-oxidase on TGF- β 1 effects", *Matrix Biol.*, 2007:26(6):494-505.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Πρωτόκολλο εξέτασης ασθενών

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ:

ΚΩΔΙΚΟΣ:

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

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

ΙΣΤΟΡΙΚΟ

A) ΓΕΝΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

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

B) ΛΗΨΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΤΟΥΣ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ

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

Γ) ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

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

Δ) ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

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

Δ) ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

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

A) ΟΠΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

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

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

B) ΚΕΡΑΤΟΕΙΔΗΣ

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

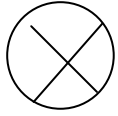
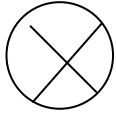
Γ) ΠΡΟΣΘΙΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ

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

Δ) ΙΡΙΔΑ

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

Ε) ΓΩΝΙΟΣΚΟΠΗΣΗ

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

ΣΤ) ΦΑΚΟΣ

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

Ζ) ΕΝΔΟΦΘΑΛΜΙΑ ΠΙΕΣΗ / ΩΡΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ:

| | | |
|---|---|---|
| T | T | T |
|---|---|---|

Ε) ΒΥΘΟΣΚΟΠΗΣΗ

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

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

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

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

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

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΟΠΟΥ ΚΑΤΑΤΑΣΣΕΤΑΙ

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

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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

Κλίμακα εκτίμησης μεταβολικής κατάστασης

*SUBJECTIVE GLOBAL NUTRITIONAL ASSESSMENT

1. Weight change:

Loss in the past 6 months:

nil or <5 per cent

5 to 10 per cent

>10 per cent

Change in past two weeks:

increase

stable

decrease

2. Diet intake:

No change or suboptimal intake

Liquid diet

Hypocaloric fluids or starvation

3. Gastrointestinal symptoms for >2 weeks:

Nil

Anorexia and nausea

Vomiting

Diarrhea

4. Functional capacity:

Normal

Suboptimal work

Ambulatory

Bedridden

5. Stress:

Nil

Minimal

High

6. Physical signs:

Loss of subcutaneous fat over:

triceps

chest

Muscle wasting of:

deltoids

temporals

quadriceps

Fluid retention

edema

ascites

Mucosal lesions

glossitis

skin rash suggestive of deficiency

SCORING

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

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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

Αποτελέσματα ταυτοποίησης γονοτύπου για τους τρεις πολυμορφισμούς

1) rs1801131

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

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

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

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

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

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

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

| Well | Sample Name | SNP Assay | Task | Allele1 ΔRn | Allele2 ΔRn | Pass.Ref | Quality(%) | Call |
|------|-------------|-----------|---------|---------------------|---------------------|-----------|------------|------|
| A1 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.164392 | 0.5605751 | 2904368.8 | 99.962799 | TT |
| A2 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.4187377 | 0.1828116 | 2758900.8 | 99.762344 | GG |
| A3 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1652391 | 0.5561801 | 2779727 | 99.989525 | TT |
| A4 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3304927 | 0.4444449 | 2660536.5 | 99.90062 | GT |
| A5 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1169128 | 0.5596448 | 2681441.5 | 96.013618 | TT |
| A6 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1509438 | 0.5232503 | 2712539.8 | 98.443733 | TT |
| A7 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3130358 | 0.4270761 | 2549507.5 | 99.541023 | GT |
| A8 | | | | | | | | |
| A9 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.159115 | 0.5621056 | 2697164 | 99.850304 | TT |
| A10 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3327515 | 0.4404615 | 2661608.5 | 99.963226 | GT |
| A11 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1705684 | 0.5725616 | 2692097.3 | 99.717186 | TT |
| A12 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1562876 | 0.5318324 | 2533533.3 | 99.188545 | TT |
| B1 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1658399 | 0.5568306 | 2977800.8 | 99.993385 | TT |
| B2 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3352764 | 0.4227023 | 2710124.5 | 99.837837 | GT |
| B3 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.160287 | 0.5261638 | 2715692.5 | 99.012207 | TT |
| B4 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1696078 | 0.5651498 | 2845406.5 | 99.912933 | TT |
| B5 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1170039 | 0.1612675 | 2879315 | 3.3248365 | |
| B6 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1601796 | 0.5495774 | 2864143.5 | 99.86261 | TT |
| B7 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.159319 | 0.5491868 | 2841061 | 99.834854 | TT |
| B8 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.4291856 | 0.1740986 | 2779746.5 | 100 | GG |
| B9 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1684069 | 0.5585821 | 2831838.3 | 99.993294 | TT |
| B10 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1691284 | 0.5634708 | 2871356.8 | 99.94294 | TT |
| B11 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3506714 | 0.4601794 | 2690358 | 99.876701 | GT |
| B12 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1658787 | 0.5487686 | 2778742.5 | 99.93985 | TT |
| C1 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1581218 | 0.5516365 | 3181022.5 | 99.829369 | TT |
| C2 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1740703 | 0.5622233 | 3030959.8 | 99.900688 | TT |
| C3 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1615554 | 0.5546603 | 3021030 | 99.935806 | TT |
| C4 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3401058 | 0.4328499 | 2953462.3 | 99.948677 | GT |
| C5 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3385836 | 0.4322561 | 2866697.3 | 99.953178 | GT |
| C6 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3335369 | 0.4318632 | 2888282.8 | 99.958519 | GT |
| C7 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1631838 | 0.5471068 | 2887659.3 | 99.883331 | TT |
| C8 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.4332096 | 0.1731081 | 2847265.3 | 99.970993 | GG |
| C9 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.4246935 | 0.17376 | 2833113 | 99.964363 | GG |
| C10 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3361099 | 0.4598948 | 2786470.8 | 99.771584 | GT |
| C11 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1834335 | 0.5733473 | 2728403.3 | 99.323517 | TT |
| C12 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3537263 | 0.4721936 | 2712433 | 99.681694 | GT |
| D1 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1676515 | 0.5536156 | 3057103 | 99.99379 | TT |
| D2 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3479522 | 0.4617117 | 3082834.8 | 99.864159 | GT |
| D3 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.3455472 | 0.4379875 | 3103676 | 99.94236 | GT |
| D4 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1757594 | 0.565481 | 2941192 | 99.812317 | TT |
| D5 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1729404 | 0.5626649 | 2987116.8 | 99.915176 | TT |
| D6 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.4301423 | 0.1738643 | 2917034 | 99.99836 | GG |
| D7 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1643518 | 0.5522513 | 2865109.3 | 99.965538 | TT |
| D8 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1720367 | 0.5540475 | 2869583.3 | 99.968781 | TT |
| D9 | | rs1801131 | UNKNOWN | 0.1708166 | 0.5668199 | 2902196.5 | 99.870407 | TT |

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

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

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

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

2) rs1801133

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3) rs8006686

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

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

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

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

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

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

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

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

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

Keywords: homocysteine, glaucoma, polymorphisms

Introduction

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

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

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

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

Materials and methods

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Results

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

Table 1 Subject characteristics

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

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

Table 2 Genotype and allele frequencies

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

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

Table 3 Association results

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

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

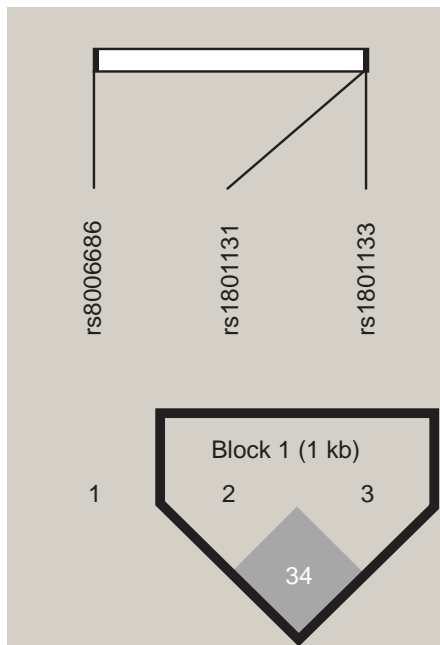


Figure 1 Linkage disequilibrium within **MTHFR** single nucleotide polymorphisms. **Abbreviation:** MTHFR, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase.

Discussion

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

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

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

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

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

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

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

Conclusion

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

Acknowledgments

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

Disclosure

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

References

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

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

Clinical Ophthalmology

Publish your work in this journal

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

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

Dovepress

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