



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ



ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΤΣΙΡΩΝΗ ΕΥΑΓΓΕΛΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Η συσχέτιση του πολυμορφισμού των γονιδίων του παράγοντα συμπληρώματος H (complement factor H) και του παράγοντα συμπληρώματος B (complement factor B) στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας»

Υπό

**ΤΣΙΛΟΥΛΗ ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΗ
ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΟΥ**

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα 2016



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ



ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΤΣΙΡΩΝΗ ΕΥΑΓΓΕΛΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Η συσχέτιση του πολυμορφισμού των γονιδίων του παράγοντα συμπληρώματος H (complement factor H) και του παράγοντα συμπληρώματος B (complement factor B) στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας»

Υπό

**ΤΣΙΛΟΥΛΗ ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΗ
ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΟΥ**

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα 2016

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Χατζούλης Δημήτριος (επιβλέπων)
Ομ. Καθηγητής Οφθαλμολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Τσιρώνη Ευαγγελή
Αν. Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας-Νευρο-οφθαλμολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Στεφανίδης Ιωάννης
Καθηγητής Παθολογίας-Νεφρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Χατζούλης Δημήτριος (επιβλέπων)
Ομ. Καθηγητής Οφθαλμολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Τσιρώνη Ευαγγελή

*Αν. Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας-Νευρο-οφθαλμολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

Στεφανίδης Ιωάννης
*Καθηγητής Παθολογίας-Νεφρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

Τσέζου Ασπασία
*Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

Γεώργιος Χατζηγεωργίου
*Καθηγητής Νευρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

Ευθύμιος Δαρδιώτης
*Επίκουρος Καθηγητής Νευρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

Ανδρούδη Σοφία
*Επίκουρος Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

«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).

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τον Ομότιμο Καθηγητή Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Χατζούλη Δημήτριο, επιβλέποντα της διατριβής μου και δάσκαλό μου στην Οφθαλμολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας όπου διεκπεραίωσα την ειδίκευσή μου στην Οφθαλμολογία. Ο καθηγητής κ. Χατζούλης μου παρείχε τις επιστημονικές βάσεις για την καριέρα που ακολουθώ και με μύησε με θέρμη στην μοριακή οφθαλμολογία και τη σημασία της στην σύγχρονη ιατρική.

Ευχαριστώ επίσης την αναπληρώτρια καθηγήτρια Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και διευθύντρια της Οφθαλμολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κ. Τσιρώνη Ευαγγελή, μέλος της τριμελούς επιτροπής για την εκπαίδευσή μου καθώς και τη συνεχή καθοδήγηση, επίβλεψη και υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου, χωρίς την οποία αυτή η μελέτη δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Στεφανίδη Ιωάννη Καθηγητή Παθολογίας-Νεφρολογίας, μέλος της τριμελούς επιτροπής για τις επιστημονικές του συμβουλές και την ένθερμη παρότρυνσή του σε όλη αυτή τη διαδρομή.

Όλα τα μέλη της τριμελούς επιτροπής επέδειξαν θαυμαστή υπομονή καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου. Θα επιθυμούσα ακόμη να αναφέρω ότι είμαι ιδιαίτερα ευτυχής που τους γνώρισα όχι μόνο σε επιστημονικό αλλά και σε ανθρώπινο επίπεδο.

Ευχαριστώ επίσης την Διευθύντρια ΕΣΥ της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κ. Κοτούλα Μαρία για την αμέριστη βοήθειά της στη συλλογή του υλικού της διατριβής μου, την εκπαίδευση που μου παρείχε και τις επιστημονικές της συμβουλές.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Margaret M. DeAngelis του Πανεπιστημίου της Utah και τους συνεργάτες της, μεταξύ των οποίων και την οφθαλμίατρο Φανή Ζαχαράκη για την εξαιρετική βοήθεια και τις εύστοχες παρατηρήσεις που μου παρείχαν σε όλα τα επίπεδα εκπόνησης της μελέτης. Η εργασία αυτή δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί χωρίς την αμέριστη υποστήριξη του θαυμάσιου νοσηλευτικού προσωπικού της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Ευχαριστώ θερμά όλους τους υγιείς και ασθενείς που εθελούσια συμμετείχαν στη μελέτη. Η συμβολή τους στην παρούσα επιστημονική έρευνα υπήρξε ανεκτίμητη.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, τον αδερφό μου Κώστα και τους γονείς μου Νίκο και Μάρθα για την αμέριστη υποστήριξή τους, την αγάπη τους και την επιμονή τους να ολοκληρωθεί η συγγραφή της διατριβής.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Τσιλούλης Αριστοτέλης

Πατρώνυμο: Νικόλαος Μητρώνυμο: Μάρθα

Ημερομηνία γέννησης: 26-03-1976, Τόπος γέννησης: Λάρισα

Ειδικότητα: Ιατρός - Οφθαλμίατρος

Διεύθυνση: Νίκαια Λάρισας

Τηλέφωνο: 2410-922359, 6974-397537 e-mail: qtelis@gmail.com

ΑΦΜ: 122006424 ΔΟΥ: Γ' Λάρισας

Αρ. Δελτίου Ταυτότητας: X 408975 ΑΜ: 108252

ΣΠΟΥΔΕΣ

2000 Πτυχίο Ιατρικής του 2ου Κρατικού Ιατρικού Πανεπιστημίου Μόσχας

(Λίαν Καλώς: 7,85)

2002 ΔΙΚΑΤΣΑ (Αριθμός πράξης 10-974/2002)

1993 Απολυτήριο Γενικού Λυκείου από το Λύκειο Νίκαιας Λάρισας

(βαθμός 18 και 3/11)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

1991 Αγγλικά Πτυχίο Proficiency (Nottingham International Study Centre)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ- ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

1/10/2000 ως 1/10/2002 Ειδικότητα Οφθαλμολογίας στο Τμήμα Οφθαλμολογίας του Κλινικού Νοσοκομείου της Μόσχας Νο15

29/2/2008 ως 5/3/2010 Ειδικότητα Οφθαλμολογίας στο Τμήμα Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας

24/3/2003 ως 23/3/2004 Υποχρεωτική υπηρεσία Υπαίθρου στο Κ.Υ. Γόννων για το Π.Ι. Καλλιπεύκης (Βεβαίωση 3085/ 24-3-2004)

1/2/2003 ως 15/5/2004 Αθλίατρος (ιατρός αγώνας στο Γυμναστικό Σύλλογο Νίκαιας-καλαθοσφαίριση)

24/5/2004 ως 24/5/2005 Εκπλήρωση στρατιωτικής υποχρέωσης στον Ελληνικό Στρατό με την ειδικότητα ιατρού μονάδος

01/10/2005 ως 31/01/2006 Ωρομίσθιος καθηγητής στο 1ο Ι.Ε.Κ. Λάρισας (ειδικότητα Προσχολικής Αγωγής, μάθημα: Στοιχεία Υγιεινής, 1 εξάμηνο, 28 ώρες/ εξάμηνο)

16/02/2006 ως 30/06/2006 Ωρομίσθιος καθηγητής στο 1ο Ι.Ε.Κ. Λάρισας
(ειδικότητα Προσχολικής Αγωγής, μάθημα: Στοιχεία
Παιδιατρικής, 1 εξάμηνο, 28 ώρες/ εξάμηνο)

11/01/2011 ως 10/01/2012 Επικουρικός Οφθαλμίατρος στο Γ.Ν. Γρεβενών

15/06/2012 ως 14/06/2013 Επικουρικός Οφθαλμίατρος στο Γ.Ν. Γρεβενών

14/10/2013 ως 13/10/2014 Επικουρικός Οφθαλμίατρος στο Γ.Ν. Καστοριάς

Από 15/10/2015 Ιδιώτης Οφθαλμίατρος

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Morrison MA, Silveira AC, Huynh N, Jun G, Smith SE, Zacharaki F, Sato H, Loomis S, Andreoli MT, Adams SM, 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.
2. Convergence of linkage, gene expression and association data demonstrates the influence of the RAR-related orphan receptor alpha (RORA) gene on neovascular AMD: a systems biology based approach. Silveira AC, Morrison MA, Ji F, Xu H, Reinecke JB, Adams SM, Arneberg TM, Janssian M, Lee JE, Yuan Y, Schaumberg DA, Kotoula MG, Tsironi EE, Tsiloulis AN, Chatzoulis DZ, Miller JW, Kim IK, Hageman GS, Farrer LA, Haider NB, DeAngelis MM. *Vision Res*. 2010 Mar 31;50(7):698-715.
3. Resolution of macular edema in idiopathic juxtafoveal telangiectasis using PDT. Kotoula MG, Chatzoulis DZ, Karabatsas CH, Tsiloulis A, Tsironi EE. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2009 Jan-Feb;40(1):65-7.
4. Tsiloulis AN, Zacharaki F, Kotoula MG, Chatzoulis DZ, Morrison MA, Mayne K, Dardiotis E, Stefanidis IL, Almpanidou P, DeAngelis MM, Tsironi EE. Genetic variants in complement pathway and ARMS2/HTRA1 genes and risk of age-related macular degeneration in a homogeneous population from central Greece. *Ophthalmic Genetics* (αποδεκτό προς δημοσίευση).

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

07-11/06/2006 39^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη.
Παρουσίαση εργασίας – Poster με θέμα «Εμπειρία πέντε ετών

- εφαρμογής της φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT) στην Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική Λάρισας»
- 11-12/01/2008 3^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς (Ελληνική Εταιρεία Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς), Αθήνα.
Παρουσίαση εργασίας – Poster με θέμα «Θεραπεία της χοριοειδικής νεοαγγείωσης με ενδουαλοειδική χορήγηση Avastin και Macugen για τουλάχιστον 12 μήνες - Πρώτα αποτελέσματα».
- 14-17/02/2008 22^ο Διεθνές Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Ενδοφακών και Διαθλαστικής Χειρουργικής, Αθήνα
Παρουσίαση εργασίας – Video με θέμα «Φακοθρυψία τραυματικού καταρράκτη με ανάσπαση ζιννείου ζώνης».
- 27-31/05/2009 42^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Χερσόνησος Κρήτη.
Προφορική ανακοίνωση με θέμα «Εναλλακτική χρήση της σχισμοειδούς λυχνίας: Φωτογράφιση ιατρικού πορτραίτου».
- 3-5/07/2009 Retina, Παρουσίαση εργασίας με θέμα: “The Retinoic acid receptor-related orphan receptor a gene (RORA), a potential anti-angiogenic therapeutic target for age-related macular degeneration”, Χανιά-Κρήτη
- 13-15/01/2012 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς, Αθήνα.
Παρουσίαση εργασίας – Poster με θέμα «Γενετικοί πολυμορφισμοί των γονιδίων CFH, ARMS2 και HTRA1 σε ασθενείς με ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ – ΣΥΜΠΟΣΙΑ - ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ – ΗΜΕΡΙΔΕΣ

- 31/10/2002 Εκπαιδευτικό σεμινάριο Ψυχιατρικής Κλινικής Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας με θέμα: “Συνήθη ψυχικά νοσήματα στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας”
- 26/10/2005 Θεωρητικό φροντιστήριο γλαυκώματος (Πανελλήνια Οφθαλμολογική Εταιρεία)
- 10/12/2005 Ημερίδα “Δια Βίου” εκπαίδευσης με θέμα: “Σχετιζόμενη με την ηλικία εκφύλιση της ωχράς κηλίδας: Η κοινωνική διάσταση του προβλήματος” (Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Β’ Οφθαλμολογική κλινική)
- 01/04/2006 Οφθαλμολογικό συμπόσιο με θέμα: “Οφθαλμικές Λοιμώξεις” (Οφθαλμολογική εταιρεία κεντρικής Ελλάδος) Λάρισα
- 07-08/04/2006 Hippocratic Symposium (1st Department of Ophthalmology, Aristotle University of Thessaloniki) Συμπόσιο Οφθαλμολογίας – Ιπποκράτειο Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης, Α.Π.Θ.
- 29/04/2006 Εαρινό Συμπόσιο Οφθαλμολογίας (Πανελλήνια Οφθαλμολογική Εταιρεία), Θεσσαλονίκη.

- 07-11/06/2006 39^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη
- 08/06/2006 Κλινικό Φροντιστήριο «Απόφραξη φλεβών – αρτηρίας» στο πλαίσιο του 39^{ου} Πανελλήνιου Οφθαλμολογικού Συνεδρίου, Θεσσαλονίκη
- 07/10/2006 Οφθαλμολογική Ημερίδα με θέμα: “Οφθαλμική χειρουργική & παθήσεις του κόγχου”. (Β’ Οφθαλμολογική κλινική Α.Π.Θ.) Θεσσαλονίκη
- 04/11/2006 Οφθαλμολογικό συμπόσιο με θέμα: “Γλαύκωμα” Οφθαλμολογική Εταιρεία Κεντρικής Ελλάδος, Καρδίτσα
- 12-13/01/2007 2^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς (Ελληνική Εταιρεία Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς), Αθήνα
- 11-12/01/2008 3^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς (Ελληνική Εταιρεία Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς), Αθήνα.
- 14-17/02/2008 22^ο Διεθνές Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Ενδοφακών και Διαθλαστικής Χειρουργικής, Αθήνα.
- 10/05/2008 Εαρινή επιστημονική ημερίδα (Οφθαλμολογική Εταιρεία Κεντρικής Ελλάδος, Λάρισα
- 24-25/05/2008 Διημερίδα Ουρογεννητικής Ογκολογίας με θέμα «Απόψεις και Αντιθέσεις στη διαχείριση των ασθενών». (Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας), Λάρισα
- 26-30/08/2008 3rd Greek Summer Ophthalmic Wet Lab (Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.), Θεσσαλονίκη
- 28/05-1/06/08 41^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο (Οφθαλμολογική Εταιρεία Βορείου Ελλάδος), Θεσσαλονίκη
- 10-11/10/2008 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οφθαλμικών Φλεγμονών & Λοιμώξεων, Θεσσαλονίκη
- 6/12/2008 2^η Ημερίδα Παιδοφθαλμολογίας και Στραβισμού (Ελληνική Εταιρεία Παιδοφθαλμολογίας και Στραβισμού), Αθήνα
- 19-22/02/2009 23^ο Διεθνές Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Ενδοφακών και Διαθλαστικής Χειρουργικής, Αθήνα
- 25/04/2009 Επιστημονική Ημερίδα (Οφθαλμολογική Εταιρεία Κεντρικής Ελλάδος), Τρίκαλα
- 27-31/05/2009 42^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Χερσόνησος Κρήτη
- 3-5/07/2009 Retina, Χανιά-Κρήτη
- 25-27/09/2009 2^ο Διαπανεπιστημιακό Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη
- 19-20/11/2009 2^η Εκπαιδευτική Διημερίδα “Διαθλαστική Χειρουργική του Φακού: Εκπαίδευση στην ένθεση Τορικών ενδοφακών”, Θεσσαλονίκη
- 28/11/2009 Επιστημονικό Πρόγραμμα της Φθινοπωρινής Συνάντησης της

- Οφθαλμολογικής Εταιρείας Κεντρικής Ελλάδος, Βόλος
- 15-16/01/2010 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς, Αθήνα
- 19-20/03/2010 6^ο Retina-Macula-Vitreous Hippocratic Meeting, Θεσσαλονίκη
- 26-30/05/2010 43^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη
- 24-26/09/2010 3^ο Διαπανεπιστημιακό Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη
- 18/12/2010 Ημερίδα Οφθαλμολογικής Εταιρείας Κεντρικής Ελλάδος, Τρίκαλα
- 1-2/04/2011 17^ο Διεθνές Συνέδριο Γλαυκώματος, Αθήνα
- 18-22/05/2011 44^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Αθήνα
- 22/11/2011 Ημερίδα της Ο.Ε.Κ.Ε με θέμα: «Σύγχρονες απόψεις στην Αντιμετώπιση του Γλαυκώματος – Προσέγγιση Νευρο-Οφθαλμολογικών παθήσεων», Λάρισα
- 26-27/11/2011 Δημερίδα με θέμα «Φάρμακο και Οφθαλμός», Ιωάννινα
- 13-15/01/2012 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς, Αθήνα
- 8/12/2012 Επιστημονική ημερίδα της Ο.Ε.Κ.Ε με θέμα “Εξελίξεις στην Οφθαλμολογία”, Λάρισα
- 18-19/01/2013 8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υαλοειδούς Αμφιβληστροειδούς, Αθήνα
- 28/02-3/03/2013 27th International Congress of Intraocular Implant and Refractive Surgery, Αθήνα
- 23-26/05/2013 46^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Μεσσηνία
- 28-31/05/2014 47^ο Πανελλήνιο Οφθαλμολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη

ΆΛΛΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

- Γνώση χειρισμού Η/Υ σε προγράμματα Word, Excel, Power Point, Internet
- Αγγλική, Ρωσική γλώσσα

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	13
ABSTRACT	14
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	15
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	17
1. Ανατομία αμφιβληστροειδούς	18
1.1 Ωχρά κηλίδα.....	20
1.2 Αγγείωση αμφιβληστροειδούς.....	21
1.3 Μελάγχρουν επιθήλιο	23
1.4 Η μεμβράνη του Bruch	24
1.5 Χοριοειδής	24
2. Επιδημιολογία.....	26
3. Παθοφυσιολογία	29

4. Παράγοντες κινδύνου	31
4.1 Φυλετικές διαφορές	31
4.2 Γενετικοί παράγοντες.....	31
4.2.1 Παράγοντας συμπληρώματος Η	32
4.2.2 ARMS2/HTRA1	34
4.2.3 Παράγοντας C3	36
4.2.4 Παράγοντας συμπληρώματος Ι (CFI).....	36
4.2.4 VEGFA	36
4.2.5 Λιπίδια	37
4.3 Γενετικοί παράγοντες και κλινικές μορφές.....	37
5. Η κλινική εικόνα.....	39
5.1 Κλινικές Μορφές	40
6. Διαγνωστικές μέθοδοι.....	50
6.1 Φλουороαγγειογραφία αμφιβληστροειδούς	50
6.2 Οπτική Τομογραφία Συνοχής (Optical Coherent Tomography – OCT).....	51
7. Θεραπεία.....	53
7.1 Χειρουργική αποκατάσταση	56
7.2 Συνδυαστικές θεραπείες.....	57
7.3 Αντι-αγγειογενετικοί παράγοντες	57
8. Μελέτες συσχέτισης.....	59
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	60
9. ΣΚΟΠΟΣ	614
10. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	61
10.1 Κριτήρια συμμετοχής.....	61
10.2 Κριτήρια αποκλεισμού.....	61
11. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	625
11.1 Ιστορικό	625
11.2 Κλινική εξέταση.....	62
11.3 Διαχωρισμός ομάδων	626
11.4 Στατιστική ανάλυση.....	63
12. ΤΕΧΝΙΚΕΣ	637
12.1 Απομόνωση DNA	637
12.2 Μέτρηση συγκέντρωσης.....	64
12.3 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction)	65
12.4 Πέψη με ένζυμα περιορισμού	66
12.5 Προσδιορισμός γονοτύπων	671

13.Αποτελέσματα	682
14. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	79
15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	837

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας (HEΩ) είναι η κύρια αιτία μη αναστρέψιμης τύφλωσης στον πληθυσμό των ηλικιωμένων. Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση μεταξύ 6 SNPs που καλύπτουν το γονίδιο CFH καθώς και 4 SNPs από την περιοχή του χρωμοσώματος 10 σε μία κοορτή από την κεντρική Ελλάδα. Τα άτομα με HEΩ επιλέχθηκαν μεταξύ των ασθενών στην κλινική της ωχράς κηλίδας στο Τμήμα Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Η ομάδα ελέγχου αποτελείτο από ίδιας ηλικίας και φύλου άτομα χωρίς κλινικές ενδείξεις της νόσου της ωχράς κηλίδας. Συνολικά ελέγχθησαν 16 SNPs γονότυποι σε μια ομάδα που αποτελούνταν από 239 άτομα-μάρτυρες, 77 άτομα με ξηρά HEΩ (AREDS 2 και 3), 16 άτομα με γεωγραφική ατροφία, και 143 άτομα με νεοαγγειακή HEΩ. Γυναίκες ήταν 54,7% των ασθενών και 54,4% της ομάδας ελέγχου. Η μέση ηλικία των ασθενών και της ομάδας ελέγχου ήταν $75,4 \pm 7,7$ και $79 \pm 7,2$ έτη αντίστοιχα. Τέσσερις SNPs σχετίζονταν σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο τόσο για νεοαγγειακή HEΩ, όσο και όλων των υποτύπων της HEΩ: οι rs1061170 CFH SNPs και rs35292876, και οι 10q26 SNPs rs10490924 και rs11200638. Οι rs800292 CFH SNPs και rs2284664 δείχτηκε ότι μειώνουν σημαντικά τον κίνδυνο

τόσο για νεοαγγειακή ΗΕΩ, όσο και για όλους τους υποτύπους της ΗΕΩ. Μόνο ένας SNP, ο rs1061170 CFH (Y402H) συνδέθηκε με την ξηρά ΗΕΩ. Συγκεκριμένα, το αλληλόμορφο C δείχθηκε ότι αυξάνει τον κίνδυνο της ξηρής ΗΕΩ κατά 2,17 φορές. Αυτοί οι συσχετισμοί παρέμειναν σημαντικοί μετά από προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο, και το κάπνισμα. Οι rs1065489 CFH SNP και οι SNPs της οδού του συμπληρώματος σε C2, CFB, και C3 δε σχετίζονταν σημαντικά με την ΗΕΩ σε καμία ανάλυση. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι οι γονιδιακές παραλλαγές CFH διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γενετική προδιάθεση για την ΗΕΩ στον ελληνικό πληθυσμό. Τα ευρήματα αυτά έχουν άμεση σχέση με την ασθένεια και θα βοηθήσουν στη γενετική χαρτογράφηση της ΗΕΩ.

ABSTRACT

Age-related macular degeneration (AMD) is a leading cause of irreversible blindness in the elderly population. The purpose this study was to test for possible association between 6 SNPs spanning the CFH gene as well as 4 SNPs from the chromosome 10 region in a cohort from central Greece. AMD individuals were recruited among patients attending the Macular Clinic at the Ophthalmology Department of the University Hospital of Larissa. The control group consisted of age and sex matched individuals without clinical evidence of macular disease. A total of 16 SNPs were genotyped in a cohort comprising of 239 control subjects, 77 subjects with dry AMD (AREDS 2 and 3), 16 subjects with geographic atrophy, and 143 subjects with neovascular AMD. Females were 54.7% of the patients and 54.4% of the controls. Mean age of patients and controls was 75.4 ± 7.7 and 79 ± 7.2 respectively. Four SNPs were significantly associated with increased risk of both neovascular AMD and all AMD subtypes: the CFH SNPs rs1061170 and rs35292876, and the 10q26 SNPs rs10490924 and rs11200638. The CFH SNPs rs800292 and rs2284664 were shown to significantly decrease risk of both neovascular AMD and all AMD subtypes. Only one SNP, CFH rs1061170 (Y402H) was associated with dry AMD. Specifically, the C allele was shown to increase risk of dry AMD by 2.17 fold. These associations remained significant after adjustment for age, sex, and smoking. The CFH SNP

rs1065489 and the complement pathway SNPs in C2, CFB, and C3 were not significantly associated with AMD in any analysis. The findings of the present study provide evidence that CFH gene variants play a major role in the genetic susceptibility to AMD in a Greek population. These findings are of direct relevance for disease and help mapping the genetic chart of AMD.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Ηλικιακή Εκφύλιση της Ωχράς κηλίδας (ΗΕΩ)- Age-related Macular Degeneration (AMD)- είναι μια πολυπαραγοντική ασθένεια με μη αναστρέψιμη απώλεια όρασης. Η πάθηση κυρίως εμφανίζεται στις αναπτυγμένες χώρες συνήθως σε άτομα άνω των 50 ετών.¹⁻⁷ Παγκοσμίως αποτελεί την τρίτη αιτία τυφλότητας μετά τον καταρράκτη και το γλαύκωμα.^{8,9} Σύμφωνα με μελέτη που διεξήχθη στις ΗΠΑ το 1991, άτομα ηλικίας άνω των 40 ετών νοσούν από την πάθηση σε ποσοστό που ανέρχεται σε 9,2% υπολογίζεται δε ότι, επειδή μέχρι το 2020 ο πληθυσμός των ατόμων ηλικίας άνω των 85 ετών θα έχει αυξηθεί κατά 107%, η συχνότητα της πάθησης θα συνεχίζει να αυξάνει σημαντικά ανάλογα με το προσδόκιμο επιβίωσης.¹⁰

Η ΗΕΩ εμφανίζει σημαντική κλινική ετερογένεια και ταξινομείται ως εξής: η ξηρά ή μη νεοαγγειακή μορφή (μη εξιδρωματικός τύπος) και η υγρά ή νεοαγγειακή μορφή (εξιδρωματικός τύπος). Επίσης με βάση την έκταση απώλειας της οπτικής οξύτητας χωρίζεται σε πρόιμη (ξηρά) και όψιμη (νεοαγγειακή, γεωγραφική ατροφία). Η ξηρά μορφή είναι περισσότερο συχνή και απαντά στο 85% των περιστατικών, ενώ η υγρά μόλις στο 15%. Η μη νεοαγγειακή μορφή παρουσιάζει επιπολασμό 15,6%, ενώ η νεοαγγειακή μόλις 1,2% σε ανθρώπους μεταξύ 43 και 86 ετών.¹¹ Ξηρά μορφή οδηγεί σε σταδιακή μείωση της όρασης, ενώ η υγρά μορφή, πολλές φορές σε αιφνίδια και σημαντική απώλεια της όρασης. Η μετάπτωση της ξηράς μορφής της νόσου σε υγρά δεν είναι ασυνήθης.

Υπολογίζεται ότι η γεωγραφική ατροφία, η οποία είναι η σοβαρότερη εκδήλωση της ξηράς μορφής, προσβάλλει το 0,6% των ενηλίκων και ευθύνεται για το 25% της τύφλωσης, ενώ η υγρά μορφή ευθύνεται για το υπόλοιπο 75%.¹²

Η ξηρά μορφή της νόσου περιλαμβάνει αλλοιώσεις, οι οποίες εντοπίζονται στο επίπεδο μελάγχρουν επιθηλίου – μεμβράνη του Bruch – χοριοτριχοειδή. Αποτέλεσμα των αλλοιώσεων αυτών είναι η εμφάνιση ποικίλων κλινικών εκδηλώσεων, όπως είναι τα λευκοκίτρινα στίγματα ή drusen (σκληρά και μαλακά), καθώς και διάφορες ανωμαλίες της χρωστικής του μελάγχρου επιθηλίου, όπως: α) η μη γεωγραφική ατροφία του μελάγχρου επιθηλίου ή εκφύλιση του, β) η εστιακή υπερμελάγχρωση και γ) η γεωγραφική ατροφία.

Η υγρά μορφή της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς αποτελεί το μικρότερο ποσοστό της νόσου, ωστόσο το 90% των ασθενών εμφανίζουν σοβαρή απώλεια της όρασης (κάτω του 1/10). Κλινικά, η μορφή αυτή της νόσου χαρακτηρίζεται από νεοαγγείωση του χοριοειδούς και τις επιπλοκές που την συνοδεύουν, όπως είναι η εξιδρωματική ή/και αιμορραγική αποκόλληση του μελάγχρου επιθηλίου και του νευροεπιθηλίου, η ρήξη του μελάγχρου επιθηλίου, η ινοαγγειακή δισκοειδής ουλή και σπανιότερα η αιμορραγία του υαλοειδούς.¹³

Η HEΩ είναι πολυπαραγοντική πάθηση, στην εκδήλωση της οποίας συμβάλλουν πολλοί σημαντικοί παράγοντες, όπως η ηλικία, το κάπνισμα, ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος, η αύξηση των επιπέδων ινωδογόνου στο πλάσμα, η φτωχή διαίτα σε καροτενοειδή και η υποξία του αμφιβληστροειδούς, καθώς και η γενετική προδιάθεση, η αναλογία της οποίας ξεπερνά το 50% και καθορίζεται από πολλαπλά γονίδια.^{14,61-67}

Η διατριβή αυτή είχε ως στόχο την κατάδειξη της συσχέτισης των γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων CFH, CFB και C2 σε έλληνες ασθενείς με ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς στον θεσσαλικό πληθυσμό.

Η παρούσα εργασία στο γενικό της μέρος θα παρουσιάσει κάποια στοιχεία ανατομικής του αμφιβληστροειδούς, την επιδημιολογία και παθοφυσιολογία της νόσου καθώς και τους παράγοντες κινδύνου που μπορούν να την προκαλέσουν. Θα ακολουθήσει παρουσίαση των κλινικών μορφών της νόσου και η κλινική εικόνα. Θα γίνει μια περιγραφή των διαγνωστικών μέσων καθώς μέτρα πρόληψης και η θεραπεία της νόσου.

Στο ειδικό της μέρος θα παρατεθούν στοιχεία για τον αριθμό των ασθενών και μαρτύρων που συμμετείχαν στην μελέτη, ο διαχωρισμός τους σε ομάδες και τα

κριτήρια συμμετοχής και αποκλεισμού τους. Θα γίνει περιγραφή των τεχνικών που χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση, τον προσδιορισμό και την συγκέντρωση του DNA καθώς και της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Στο τέλος θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της εργασίας.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ανατομία αμφιβληστροειδούς

Ο αμφιβληστροειδής είναι ο εσωτερικός αισθητηριακός χιτώνας του βολβού του οφθαλμού και βρίσκεται μεταξύ του χοριοειδή και του υαλώδους σώματος. Είναι νευροεκτοδερμικής προέλευσης και παρά την πολύπλοκη και ιδιαίτερα κυτταροβριθή οργάνωσή του, ο ιδίως αμφιβληστροειδής έχει την υφή λεπτού διαφανούς υμένα. Ο αμφιβληστροειδής εκτείνεται από την κυκλική περιφέρεια της θηλής του οπτικού νεύρου μέχρι την προιονωτή περιφέρεια όπου μεταπίπτει στις επιθηλιακές στιβάδες του ακτινωτού σώματος.

Στον αμφιβληστροειδή η φωτεινή ενέργεια μετατρέπεται μετά από φωτοχημική διεργασία σε νευρικά σήματα. Εδώ υπάρχουν οι τρεις πρώτοι νευρώνες της οπτικής οδού που θα μεταφέρουν την οπτική πληροφορία μέχρι τα ανώτερα κέντρα της όρασης στο κεντρικό νευρικό σύστημα.¹⁵

Ιστολογικά ο ιδίως αμφιβληστροειδής διακρίνεται σε εννέα στιβάδες, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με συνάψεις που υπάρχουν ανάμεσα στους δενδρίτες και τους νευράξονες των νευρικών του κυττάρων. Από έσω προς τα έξω οι στιβάδες διαδοχικά είναι οι εξής¹⁶⁻¹⁸:

Έσω αφοριστικός υμένας: Δεν αποτελεί γνήσια μεμβράνη αλλά σχηματίζεται από την πρόσφυση των απολήξεων των κυττάρων του Muller στην επιφάνεια των νευρικών ιών. Είναι πάρα πολύ λεπτή αντίστοιχα προς τη βάση του υαλοειδούς (κατά μέσον όρο 50 μ.) και παχύτερη προς τον οπίσθιο πόλο, όπου φθάνει τα 1890 μ. Τέλος, απουσιάζει από την περιοχή του κεντρικού βοθριδίου (foveola), τα μεγάλα αμφιβληστροειδικά αγγεία και την κεφαλή του οπτικού νεύρου.¹⁹⁻²²

Στιβάδα νευρικών ινών: Αποτελείται σχεδόν κατ' αποκλειστικότητα από τους νευράξονες των γαγγλιακών κυττάρων. Στον ανθρώπινο αμφιβληστροειδή οι νευρικές ίνες είναι αμύελες (δεν περιβάλλονται από έλυτρο μυελίνης).

Στιβάδα γαγγλιακών κυττάρων: Απαρτίζεται κυρίως από τους πυρήνες των ομωνύμων κυττάρων που διαχωρίζονται μεταξύ τους από τις προσεκβολές των κυττάρων του Muller και της νευρογλοίας. Στην περιοχή της ωχράς τα γαγγλιακά κύτταρα είναι πολύ περισσότερα και διατάσσονται σε δυο έως οκτώ κυτταρικά στρώματα.

Έσω δικτυωτή στιβάδα: Περιλαμβάνει τις συνάψεις των νευραξόνων, των διπόλων και των βραχυίνων κυττάρων με τους δενδρίτες των γαγγλιακών κυττάρων.

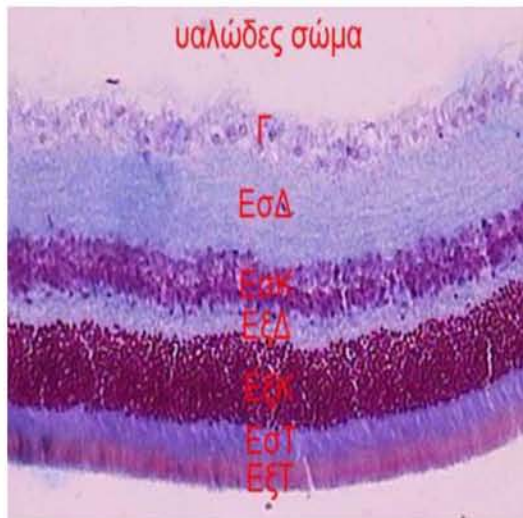
Έσω κοκκώδης στιβάδα: Περιέχει τους πυρήνες των διπόλων, των οριζοντίων, των βραχυίνων κυττάρων και των κυττάρων του Muller.

Έξω δικτυωτή στιβάδα: Φέρει τις συνάψεις των νευραξόνων των φωτοϋποδοχέων με τους δενδρίτες των διπόλων και των οριζοντίων κυττάρων. Στην περιοχή της ωχράς οι νευράξονες των φωτοϋποδοχέων που απομακρύνονται από το κεντρικό βοθρίο πορεύονται παράλληλα προς τον έσω αφοριστικό υμένα, ακτινοειδώς, αλλά και με ελαφρά περιφερική κάμψη δίκην στροβίλου (στιβάδα του Henle).

Έξω κοκκώδης στιβάδα: Αποτελείται από τα κυτταρικά σώματα των φωτοϋποδοχέων (κωνίων και ραβδίων), τα οποία διατάσσονται σε οκτώ έως εννέα στρώματα.

Έξω αφοριστικός υμένας: Έχει θυριδωτή δομή και δεν πρόκειται για γνήσια μεμβράνη αλλά για υμένα που δημιουργείται στα σημεία πρόσφυσης των κυττάρων του Muller στο πέρας του μυοειδούς τμήματος των φωτοϋποδοχέων προς τα έσω.

Στιβάδα φωτοϋποδοχέων: Περιλαμβάνει το έσω και το έξω τμήμα των φωτοϋποδοχέων.



Εικόνα 1. Οι στιβάδες του αμφιβληστροειδούς

Πηγή : διαδίκτυο

Από έξω προς τα μέσα διακρίνονται οι στιβάδες του ιδίως αμφιβληστροειδούς: το έξω τμήμα της εξωτερικής αποφυάδας των οπτικών κυττάρων, δηλ. τα κωνία και ραβδία (ΕξΤ), το έσω τμήμα της εξωτερικής αποφυάδας των οπτικών κυττάρων (ΕσΤ), η έξω κοκκώδης στιβάδα (ΕξΚ) που περιλαμβάνει τους πυρήνες των οπτικών κυττάρων, η έξω δικτυωτή στιβάδα (ΕξΔ), η έσω κοκκώδης στιβάδα (ΕσΚ) που περιλαμβάνει του πυρήνες των δίπολων κυττάρων, η έσω δικτυωτή στιβάδα (ΕσΔ) και η στιβάδα των γαγγλιακών κυττάρων (Γ). (χρώση Mallory, μεγέθυνση X100)

1.1 Ωχρά κηλίδα

Η ωχρά κηλίδα (macula) αποτελεί μια ωοειδή περιοχή στον οπίσθιο πόλο, διαμέτρου περίπου 5,5 mm. Το κέντρο της ωχράς βρίσκεται περίπου 4 mm κροταφικά και 0,8 mm κάτω από το κέντρο της οπτικής θηλής. Οφείλει το όνομα της στην ωχροκίτρινη χροιά που λαμβάνει σε παθολογο-ανατομικά παρασκευάσματα. Η χροιά αυτή οφθαλμοσκοπικά γίνεται ευδιάκριτη με τη χρήση πράσινου ανέρυθρου φωτός και οφείλεται στην παρουσία ξανθοφύλλης στις ίνες του Henle και λιποφουσκίνης στους πυρήνες των γαγγλιακών κυττάρων. Είναι η περιοχή του αμφιβληστροειδούς που περιέχει περισσότερους από έναν στοίχο γαγγλιακών κυττάρων.

Ανατομικά σημεία της ωχράς κηλίδας είναι: το κεντρικό βοθρίο (fovea), το βοθρίδιο (foveola), η ανάγγειος ζώνη και ο ομφαλός (umbo). Το κεντρικό βοθρίο είναι ένα εντύπωμα της έσω επιφάνειας του αμφιβληστροειδή στο κέντρο της ωχράς.

Η διάμετρός του είναι περίπου ίση με εκείνη ενός μέσου οπτικού δίσκου (1,5mm). Το βοθρίδιο (foveola) σχηματίζει το έδαφος του κεντρικού βοθρίου και έχει διάμετρο 0,35 mm. Ιστολογικά αποτελεί το λεπτότερο σημείο του αμφιβληστροειδή (0.20 mm) και στερείται γαγγλιακών κυττάρων, νευρικών ινών και της έσω δικτυωτής στιβάδας. Το σύνολο του πάχους του αποτελούν αποκλειστικά κωνία και κύτταρα του Muller. Η κεντρική ανάγγειος ζώνη (foveal avascular zone) εντοπίζεται εντός του κεντρικού βοθρίου αλλά εκτός του βοθριδίου. Η ακριβής διάμετρος της διαφέρει και η εντόπισή της μπορεί να καθοριστεί με ακρίβεια μόνο με αγγειογραφία με φλουοροσκεΐνη. Στερείται αμφιβληστροειδικών τριχοειδών και τροφοδοτείται αιματικά με διάχυση από το χοριοειδικό αγγειακό δίκτυο. Ο ομφαλός (umbo) αποτελεί ένα πολύ μικρό εντύπωμα ακριβώς στο κέντρο του βοθριδίου το οποίο αντιστοιχεί στην οφθαλμοσκοπικά ορατή ωχρική αντανάκλαση η οποία ανευρίσκεται στους περισσότερους φυσιολογικούς οφθαλμούς. Η απώλεια αυτής της αντανάκλασης δυνατόν να αποτελεί ένα αρχικό σημείο βλάβης. Η ωχρά κηλίδα είναι υπεύθυνη για την κεντρική όραση και την αντίληψη χρωμάτων.

1.2 Αγγείωση αμφιβληστροειδούς

Η αγγείωση του αμφιβληστροειδούς επιτελείται από δύο διαφορετικά αγγειακά συστήματα τα οποία προέρχονται από την οφθαλμική αρτηρία.¹⁶⁻²² Συγκεκριμένα, τα έσω 2/3 του ιδίως αμφιβληστροειδούς τροφοδοτούνται αιματικά από το αμφιβληστροειδικό αγγειακό σύστημα της κεντρικής αρτηρίας του αμφιβληστροειδούς, ενώ το μελάγχρουν επιθήλιο και το έξω 1/3 του αμφιβληστροειδούς είναι ανάγγεια και τροφοδοτούνται έμμεσα με διάχυση από το ραγοειδικό ή χοριοειδικό αγγειακό σύστημα των ακτινοειδών αρτηριών.

Η οφθαλμική αρτηρία αποτελεί τον πρώτο ενδοκρανιακό κλάδο της έσω καρωτίδος. Μείζονες κλάδους της οφθαλμικής αρτηρίας αποτελούν η κεντρική αρτηρία του αμφιβληστροειδούς, οι οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες και οι μυϊκοί αγγειακοί κλάδοι που είναι υπεύθυνοι για την τροφοδοσία των οφθαλμοκινητικών μυών.

Η κεντρική αρτηρία του αμφιβληστροειδούς είναι ο πρώτος κλάδος της οφθαλμικής αρτηρίας. Εισέρχεται στο οπτικό νεύρο από την κάτω ρινική πλευρά του, περίπου 12 χιλιοστά πίσω από το βολβό του οφθαλμού, συνοδευόμενη καθόλη την

ενδονευρική της πορεία μέχρι το ηθμοειδές πέταλο από πλούσια συμπαθητική νεύρωση. Στην περιοχή της οπτικής θηλής η κεντρική αρτηρία του αμφιβληστροειδούς βρίσκεται κατά κανόνα ρινικά της αντίστοιχης φλέβας και διακλαδίζεται σ' έναν άνω και έναν κάτω κύριο αμφιβληστροειδικό κλάδο. Καθένας από τους κλάδους αυτούς διχάζεται ταχύτατα σ' έναν ρινικό και έναν κροταφικό αμφιβληστροειδικό κλάδο, οι οποίοι διακλαδίζονται περαιτέρω με σκοπό την τροφοδοσία των αντιστοίχων τεταρτημορίων.

Οι κλάδοι της κεντρικής αρτηρίας του αμφιβληστροειδούς είναι τελικά αγγεία και δεν παρουσιάζουν μεταξύ τους αναστομώσεις. Φυσιολογική ανατομική παραλλαγή, η οποία συναντάται σε ποσοστό κατά μέσον όρο 25%, αποτελεί η παρουσία μιας ή περισσοτέρων θηλωχρικών αρτηριών, που προέρχονται από τις οπίσθιες βραχείες ακτινοειδείς αρτηρίες κατά κανόνα μέσω του δακτυλίου των Zinn-Haller ή σπανιότερα απευθείας από κλάδους των χοριοειδικών αρτηριών. Οι θηλωχρικές αρτηρίες αρδεύουν τα έσω 2/3 του ιδίως αμφιβληστροειδούς ενός άλλοτε άλλου μεγέθους – εξαρτώμενου από το μέγεθος των ιδίων – τμήματος στην περιοχή του θηλωχρικού δεματίου και της ωχράς και προέρχονται από τη χοριοειδική κυκλοφορία.

Ιστολογικά, τόσο η οφθαλμική αρτηρία, όσο και η κεντρική αρτηρία του αμφιβληστροειδούς πίσω από το ηθμοειδές πέταλο παρουσιάζουν δομή μικρής μυϊκής αρτηρίας. Αντιθέτως, η κεντρική αρτηρία του αμφιβληστροειδούς στην πορεία της μπροστά από το ηθμοειδές πέταλο, όπως και όλοι οι κλάδοι της, έχουν δομή αρτηριολίου δεδομένου ότι στερούνται ελαστικών πετάλων και παρουσιάζουν μέσο χιτώνα ατελώς διαμορφωμένο, που λεπταίνει βαθμιαία προς την περιφέρεια.

Το τοίχωμα των αμφιβληστροειδικών αγγείων αποτελείται από βασική μεμβράνη και μια στιβάδα ενδοθηλιακών κυττάρων, ανάμεσα στα οποία παρεμβάλλονται περικύτταρα. Φυσιολογικά η σχέση ενδοθηλιακών κυττάρων προς περικύτταρα είναι 1/1.

Οι αμφιβληστροειδικές φλέβες ακολουθούν την πορεία των αρτηριών του αμφιβληστροειδούς. Συνενώνονται στην κεντρική φλέβα του αμφιβληστροειδούς, η οποία εξέρχεται του οπτικού νεύρου περίπου στο ίδιο σημείο που εισέρχονται η κεντρική αρτηρία και παροχετεύεται στο σηραγγώδη κόλπο. Οι μείζονες αρτηριακοί και φλεβικοί αμφιβληστροειδικοί κλάδοι κατανέμονται στην ίδια περιοχή έχοντας σχεδόν παράλληλη πορεία και κοινό έλυτρο στα σημεία διασταύρωσης, στα οποία συνηθέστερα ο αρτηριακός κλάδος εντοπίζεται πάνω από το φλεβικό.

Τα μεγάλα αγγεία του αμφιβληστροειδούς πορεύονται ακριβώς κάτω από τον έσω αφοριστικό υμένα διαχωριζόμενα από αυτόν με ένα λεπτό στρώμα γλοίας. Πολύ πιο σπάνια μπορεί να εισδύσουν έως την έσω δικτυωτή στιβάδα. Τα αμφιβληστροειδικά τριχοειδή κατανέμονται σε δύο δίκτυα: Το επιπολής στη στιβάδα των νευρικών ινών και των γαγγλιακών κυττάρων και το εν τω βάθει στην έξω δικτυωτή στιβάδα. Τα δύο αυτά δίκτυα διακρίνονται σαφέστερα στον οπίσθιο πόλο, ενώ συνενώνονται σε ένα δίκτυο περιφερικότερα. Τέλος ένα τρίτο τριχοειδικό δίκτυο εκτείνεται όλως επιπολής στην περιθηλαία περιοχή εξυπηρετώντας την άρδευση των νευρικών ινών.

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, στο επίπεδο των αγγείων του αμφιβληστροειδούς λειτουργεί ο έσω αιματο-αμφιβληστροειδικός φραγμός. Ο φραγμός δημιουργείται από τις ισχυρές μεσοκυττάρειες συνδέσεις που υπάρχουν ανάμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα του τοιχώματος των αμφιβληστροειδικών αγγείων και δεν επιτρέπει τη διόδο ορωδών στοιχείων και άλλων μορίων από την κυκλοφορία στον ιδίως αμφιβληστροειδή.

Η κυκλοφορία του αίματος στον αμφιβληστροειδή είναι ανεξάρτητη από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Η ρύθμισή της εξαρτάται από εσωτερικούς μηχανισμούς του αμφιβληστροειδούς. Η αιματική ροή στο επίπεδο του αμφιβληστροειδούς φαίνεται ότι ρυθμίζεται από τις μεταβολικές του ανάγκες (οξυγόνο), τη συγκέντρωση διάμεσων προϊόντων του μεταβολισμού (διοξείδιο του άνθρακα) και τις μεταβολές του pH.

1.3 Μελάγχρουν επιθήλιο

Το μελάγχρουν επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς (ME) αποτελείται από μία μόνη στιβάδα εξαγωνικών κυττάρων, οι κορυφές των οποίων περιέχουν λαχνοτές προεξοχές οι οποίες τυλίγουν τα εξωτερικά τμήματα των φωτούποδοχέων. Τα κύτταρα του ME στο κεντρικό βοθρίο είναι υψηλότερα, λεπτότερα και περιέχουν περισσότερα και μεγαλύτερα μελανοσώματα από ότι οπουδήποτε αλλού στο βυθό. Η σύνδεση μεταξύ του ME και του αισθητηριακού αμφιβληστροειδή είναι ασθενέστερη από εκείνη μεταξύ ME και μεμβράνης του Bruch. Ο δυνητικός χώρος μεταξύ αισθητηριακού αμφιβληστροειδούς και ME ονομάζεται υπαμφιβληστροειδικός χώρος. Το ME υπηρετεί δύο σημαντικές λειτουργίες για τη διατήρηση της ακεραιότητάς (στεγανότητας) του υπαμφιβληστροειδικού χώρου: 1) Αποτελεί τμήμα του έξω αιματο-αμφιβληστροειδικού φραγμού, 2) Αντλεί ιόντα και νερό εκτός του υπαμφιβληστροειδικού χώρου.

1.4 Η μεμβράνη του Bruch

Η μεμβράνη του Bruch διαχωρίζει το ΜΕ από τα χοριοτριχοειδή. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποτελείται από πέντε συστατικά: 1) βασική μεμβράνη του ΜΕ, 2) έσω κολλαγονική στιβάδα, 3) παχύτερη ζώνη ελαστικών ινών, 4) εξωτερική κολλαγονική στιβάδα, 5) βασική στιβάδα του εξωτερικού τμήματος των χοριοτριχοειδών. Μεταβολές στην στιβάδα του Bruch παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο σε πολλές διαταραχές της ωχράς.

1.5 Χοριοειδής

Ο χοριοειδής είναι το τμήμα του αγγειακού χιτώνα, το οποίο βρίσκεται μεταξύ μελάγχρου επιθηλίου και σκληρού. Αποτελεί αγγειοβριθή μεμβράνη, η οποία εκτείνεται από τον οπτικό δίσκο μέχρι την προιονωτή περιφέρεια, όπου και συνεχίζει ως ακτινωτό σώμα. Προς τα έξω συμφύεται χαλαρά με τον σκληρό, ενώ ισχυρές συμφύσεις παρουσιάζει στα όρια του οπτικού δίσκου και στα σημεία εξόδου των τεσσάρων περιδίνητων φλεβών από το βολβό, στην περιοχή του ισημερινού. Ο χοριοειδής αποτελείται από τις εξής στιβάδες εκ των έσω προς τα έξω: α) στιβάδα χοριοτριχοειδών, β) στιβάδα των μικρών και μεσαίων αγγείων, γ) στιβάδα των μεγάλων αγγείων και δ) υπερχοριοειδές πέταλο.

Αγγείωση χοριοειδούς

Ο χοριοειδής αγγειώνεται από τις βραχείες και από τις μακρές οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες, καθώς και από παλίνδρομους κλάδους των προσθίων ακτινοειδών αρτηριών. Η οφθαλμική αρτηρία, συνήθως, χορηγεί δύο οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες, οι οποίες διακρίνονται σε έσω και σε έξω, ανάλογα με την εντόπισή τους σε σχέση με το οπτικό νεύρο. Ο έσω κλάδος αρδεύει το ρινικό ήμισυ του χοριοειδούς και της κεφαλής του οπτικού νεύρου και ο έξω το κροταφικό ήμισυ αυτών. Ενώτε υπάρχουν τρεις ή και περισσότερες οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες. Η αιμάτωση του ρινικού και του κροταφικού τμήματος του χοριοειδούς είναι ανεξάρτητη η μια από την άλλη. Κάθε μία από τις οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες χορηγεί από 8-10 βραχείες οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες και από μία μακρά οπίσθια

ακτινοειδή αρτηρία. Οι μακρές οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες εισέρχονται εντός του σκληρού λοξά, στη συνέχεια πορεύονται προς τα εμπρός κατά τον οριζόντιο άξονα του βολβού και τελικά αρδεύουν μια μικρή τριγωνική περιοχή στην περιφέρεια του χοριοειδούς. Η βάση του τριγώνου αντιστοιχεί στην πριονωτή περιφέρεια και η κορυφή είναι στραμμένη προς τον οπτικό δίσκο. Οι βραχείες οπίσθιες ακτινοειδείς αρτηρίες διατιτραίνουν το βολβό γύρω από το οπτικό νεύρο, αλλά οι περισσότερες από αυτές εισέρχονται στο σκληρό, αντίστοιχα προς την περιοχή της ωχράς. Εκεί διατιτραίνουν κάθετα το σκληρό και εν συνεχεία φέρονται ακτινοειδώς προς τον ισημερινό, διακλαδιζόμενες σε μικρότερους κλάδους. Οι μεγάλοι κλάδοι των βραχειών οπίσθιων ακτινοειδών αρτηριών αρδεύουν το χοριοειδή κατά τμήματα, τα οποία έχουν σχήμα τριγωνικό ή σφηνοειδές. Η κορυφή των τμημάτων αυτών είναι στραμμένη προς την ωχρά και η βάση προς την περιφέρεια. Οι μικρότεροι κλάδοι αρδεύουν μικρότερα τμήματα σε σχήμα γεωγραφικού χάρτη. Το μήκος και το εύρος των αγγείων του χοριοειδούς μπορεί να είναι διαφορετικό σε διάφορες περιοχές, επηρεάζοντας τοπικά την αιμοδυναμική.

Τα χοριοτριχοειδή διατάσσονται σε ένα επίπεδο παράλληλα προς τον αμφιβληστροειδή και σχηματίζουν μικρές αυτοτελείς μονάδες, τα λόβια. Κάθε λόβιο έχει μέγεθος που φθάνει μέχρι και το $\frac{1}{4}$ θηλαίας διαμέτρου. Στο κέντρο του, τροφοδοτείται από ένα προτριχοειδές αρτηριόλιο και περιβάλλεται, δακτυλιοειδώς, από μετατριχοειδή φλεβίδια. Αυτά εκβάλλουν σε μεγαλύτερες φλέβες και τελικά στις 4 περιδίνητες. Οι περιδίνητες φλέβες εντοπίζονται 3 χιλιοστά περίπου όπισθεν του ισημερινού και κάθε μία από αυτές απάγει το αίμα από ένα καθορισμένο τεταρτοκύκλιο του χοριοειδούς.

Σε αντίθεση προς τα τριχοειδή του αμφιβληστροειδούς, το τοίχωμα των χοριοτριχοειδών φέρει πόρους, οι οποίοι επιτρέπουν την εξαγγείωση μεγαλομοριακών ουσιών και πρωτεϊνών του πλάσματος, οι ουσίες αυτές δε διαχέονται στον αμφιβληστροειδή, επειδή παρεμβάλλεται ο έξω αιματο-αμφιβληστροειδικός φραγμός.

Ο χοριοειδής νευρόνεται κυρίως από τα βραχέα οπίσθια ακτινοειδή νεύρα και δευτερευόντως, από κλάδους των μακρών ακτινοειδών, οι δε αγγειοκινητικές ίνες προέρχονται από το συμπαθητικό.

Το υπόστρωμα του χοριοειδούς, το οποίο περιβάλλει όλα τα αγγεία εκτός από τα χοριοτριχοειδή, αποτελείται από περιορισμένο αριθμό κολλαγόνων ινών, καθώς και από μελανοκύτταρα, ινοβλάστες και κύτταρα του ανοσοποιητικού (μακροφάγα, λεμφοκύτταρα, βασεόφιλα κύτταρα και πλασματοκύτταρα).

Υπερχοριοειδές πέταλο

Το υπερχοριοειδές πέταλο εντοπίζεται μεταξύ χοριοειδούς και σκληρού χιτώνα, οι οποίοι, αμφότεροι, συμβάλουν στη δομή του. Αυτό αποτελείται από κολλαγόνους ίνες, μελανοκύτταρα, γαγγλιακά κύτταρα και νεύρα.

Λειτουργίες χοριοειδούς

1. Ο χοριοειδής ευθύνεται για τη θρέψη του ΜΕ και του έξω 1/3 του αμφιβληστροειδούς.
2. Η μεγάλη κυκλοφορία του αίματος εντός του χοριοειδούς συμβάλλει σημαντικά στη μείωση της θερμοκρασίας, η οποία αναπτύσσεται κατά την απορρόφηση της φωτεινής ακτινοβολίας από τα μελανοκύτταρα.
3. Η παρουσία ανοσοποιητικών κυττάρων εντός του χοριοειδούς συμβάλλει στην απάντηση του ιστού αυτού στις φλεγμονές.
4. Η παρουσία μελανοκυττάρων αποτρέπει την είσοδο φωτός εντός του βολβού δια μέσου του σκληρού και συμβάλλει στην απορρόφηση των ακτίνων laser.

2. Επιδημιολογία ΗΕΩ

Η ΗΕΩ προσβάλλει ασθενείς ηλικίας άνω των 60. Η διάδοση αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση της ηλικίας. Στις ΗΠΑ έχουν προσβληθεί από την ασθένεια πάνω από 1.75 εκατομμύρια άνθρωποι ηλικίας άνω των 40. Καθώς ο μέσος όρος ζωής του ανθρώπου αυξάνεται, ειδικά στις αναπτυγμένες χώρες αναμένεται οι ασθενείς με ΗΕΩ να αγγίζουν τα 3 εκατομμύρια το 2020. Επίσης το 10 με 15% των ασθενών έχουν σοβαρή απώλεια κεντρικής όρασης.

Η διάδοση της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς δεν είναι ίδια ανάμεσα στις φυλές. Παρουσιάζει μεγαλύτερη εξάπλωση στον ευρωπαϊκό πληθυσμό^{23,24}. Τρεις μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι τα drusen εμφανίζονται πιο συχνά στον μαύρο πληθυσμό, ενώ ο ισπανικός και λατινικό αμερικάνικος πληθυσμός έχει λιγότερες πιθανότητες εμφάνισης νεοαγγειακής ΗΕΩ από τον λευκό ευρωπαϊκό

πληθυσμό.^(8,25) Πραγματοποιήθηκαν πάρα πολλές πληθυσμιακές μελέτες ανά τον κόσμο και τα αποτελέσματα (συχνότητα νόσου) φαίνονται στον παρακάτω πίνακα. Τα ποσοστά στην τρίτη ηλικία υπερβαίνουν το 50%.

Πίνακας 1.Επιδημιολογικές μελέτες για την ΗΕΩ

Μελέτη	Βιβλ. Αναφορές	Αριθμός Εξεταζόντων	Ποσοστό Απόκρισης (%)	Ηλικιακές Ομάδες (έτη)	Πρώμη ΗΕΩ (%)	Όψιμη ΗΕΩ (%)	Οποιαδήποτε ΗΕΩ (%)
Framingham (USA) Whites	Leibowitz et al. 1980	2940	84	52-64 65-74 75-85			1.6 11.0 27.9
NHANES I (USA) Whites	Klein and Klein 1982	3056	?	45-64 65-74			2.3 9.0
Blacks				45-64 65-74			4.3 10.3
Gisborne (NZ) Whites	Martinez et al. 1982	481	72	65-74 75-84 85+			2.1 11.4 22.8
Iceland Whites	Jonasson and Thordarson 1987	751	81	43-52 53-62 63-72 73-82 83+			0 1.1 5.1 22.2 48.8
Melton Mowbray (England) Whites	Gibson et al. 1985	484	72	76-84 85+			38.8 53.3
Copenhagen (Denmark) Whites	Vinding 1989	946	71	60-69 70-79			4.1 20.0
Chesapeake Bay (USA) Whites	Bressler et al. 1989	838	70	60-69 70-79 80+	16 29 45	0 4 14	16 33 59
Beaver Dam (USA) Whites	Klein R et al. 1992b	4756	83	43-54 55-64 65-74	9.4 16.3 24.0	0.1 0.5 1.4	9.5 16.7 25.3

				75-84	36.3	6.9	41.7
				85-86	40.6	13.5	48.7
Oulu (Finland) Whites	Hirvela et al. 1996	500	89	70-74	22	3	25
				75-79	32	6	38
				80-84	50	4	55
				85-89	48	36	83
				90+	57	42	100
Rotterdam (Netherlands) Whites	Vingerling et al. 1995	6411	70	55-64	2.4	0.1	2.5
				65-74	9.2	0.7	9.9
				75-84	13.5	3.2	16.7
				85+	18.2	11.6	29.8
Blue Mountains (Australia) Whites	Mitchell 1993	3585	82	49-54	1.3	0	1.3
				55-64	2.6	0.2	2.8
				65-74	8.5	0.7	9.2
				75-84	15.5	5.4	20.9
				85+	28.0	18.5	46.5
Salandra (Italy) Whites	Pagliarini et al. 1997	368	64	65-74		0	
				75+		4.2	
Barbados Blacks	Schachat et al. 1995	3444		40-49	15.6	0.4	15.8
				50-59	23.0	0.7	24.0
				60-69	32.9	0.4	34.6
				70-79	36.4	0.5	41.7
				80+	36.7	0	50.0
NHANES III (USA) Whites	Klein R et al. 1995	4007	54				
				40-59	3.5	0	3.5
				60+	14.7	0.9	15.6
Blacks				40-59	5.2	0	5.2
				60+	9.0	0.7	9.7
Mexican Americans				40-59	5.5	0	5.5
				60+	10.1	0.5	10.6
San Luis Valley (USA) Whites Hispanics	Cruickshanks et al. 1997			20-42	6.0	0	6.0
				43-59	6.9	0.3	7.2
				60-74	13.3	1.6	14.6
				20-42	6.7	0	6.7
				43-59	9.8	0	9.8
				60-74	20.4	0.1	20.5
ARIC (USA) Whites	Klein R et al. 1999	11532					
				48-54	2.9	0.1	2.9
				55-59	4.1	0	4.1
				60-64	5.9	0.1	6.0
Blacks			46	65-72	8.4	0.4	8.9
				48-54	2.5	0	2.5
				55-59	3.3	0	3.3

				60-64	4.7	0.2	4.9
				65-72	4.9	0	4.9
VIP (Australia) Whites	Van Newkirk et al. 2000	4345	84	40-49	6.4	0	6.4
				50-59	10.2	0	10.2
				60-69	17.7	0.4	18.1
				70-79	28.2	1.8	30.0
				80-89	40.4	5.0	45.4
				90+	37	22.5	59.4

3. Παθοφυσιολογία ΗΕΩ

Οι παθήσεις της ωχράς κηλίδας χωρίζονται σε επίκτητες και κληρονομικές.²⁶ Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει: την ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς, τη κεντρική ορώδη αμφιβληστροειδοπάθεια, την ιδιοπαθή οπή της ωχράς, την ιδιοπαθή προωχρική γλοΐωση, το σύνδρομο υαλοειδοαμφιβληστροειδικής έλξης της ωχράς, το κυστοειδές οίδημα της ωχράς, την μυωπική ωχροπάθεια και τις ωχροπάθειες που οφείλονται σε διάφορα τοξικά αίτια. Η λεκιθόμορφη δυστροφία της ωχράς (Νόσος του Best), η δυστροφία της ωχράς τύπου Stargardt και τύπου Βόρειας Καρολίνας, η ψευδοφλεγμονώδης δυστροφία τύπου Sorsby και διάφορες πρότυπες δυστροφίες όπως η λεκιθόμορφη δυστροφία της ωχράς των ενηλίκων και η δυστροφία δίκην “πεταλούδας” αποτελούν την δεύτερη κατηγορία των παθήσεων της ωχράς.

Η παθογένεια της ΗΕΩ χαρακτηρίζεται από βλάβες στις εξωτερικές στοιβάδες του αμφιβληστροειδούς, στο μελάγχρουν επιθήλιο, στην μεμβράνη του Bruch και τα χοριοτριχοειδή. Στο όψιμο στάδιο κάνουν την εμφάνιση τους νεοαγγειακές και εξιδρωματικές αλλαγές ή ουλοποιημένες βλάβες, οι οποίες αποτελούν την εξιδρωματική μορφή της νόσου. Στην ατροφική της μορφή υπάρχει απώλεια του μελάγχρου επιθηλίου ή χοριοτριχοειδική λέπτυνση χωρίς σημεία νεοαγγείωσης.²⁷ Το πρώιμο στάδιο χαρακτηρίζεται από εναποθέσεις στη μεμβράνη του Bruch.^{28,29}

Οι εναποθέσεις αυτές σε συνδυασμό με δευτερογενείς αλλαγές στο μελάγχρουν επιθήλιο ευθύνονται για την δημιουργία των drusen. Πάρα πολλά συστατικά

βρέθηκαν στα drusen, όπως γλυκοσυζεύγματα (glycoconjugates), διάφορα συστατικά που βρίσκονται στις αθηρωματικές πλάκες, όπως βιτρονεκτίνη, απολιποπρωτεΐνη Β και Ε, α-κρυσταλλίνη, παράγοντας συμπληρώματος HtrA1 και λιπίδια.³⁰⁻³⁴ Σε drusen στο στάδιο της αποδρομής βρέθηκαν μακροφάγα, σημάδι ότι ο οργανισμός προσπαθεί να αντιμετωπίσει τις εναποθέσεις.³⁵ Ενεργή μικρογλοία υπάρχει επίσης συσσωρευμένη στις βλάβες.³⁶ Τα σκληρά drusen αποτελούνται από υαλίνη και βρίσκονται μεταξύ μεμβράνης του Bruch και μελάγχρου επιθηλίου. Τα μαλακά drusen είναι συνήθως μεγαλύτερα και σχετίζονται με αποκόλληση του μελάγχρου επιθηλίου, διαταραχές της μεμβράνης του Bruch.³⁵⁻³⁷ Τα μαλακά drusen μπορούν να προκαλέσουν περεταιίρω καταστροφή του αμφιβληστροειδούς, του μελάγχρου επιθηλίου, του χοριοειδούς και να οδηγήσουν έτσι στην δημιουργία χοριοειδικής νεοαγγείωσης ή γεωγραφικής ατροφίας καταστρέφοντας τα κύτταρα του μελάγχρου επιθηλίου.

Μικροσκοπικά η γεωγραφική ατροφία φαίνεται σαν ανωμαλία του μελάγχρου επιθηλίου και χαρακτηρίζεται από υποτροφία, υπερτροφία, μείωση ή αύξηση εναπόθεσης χρωστικής, ατροφία, αποδόμηση, απώλεια των εξωτερικών στοιβάδων του αμφιβληστροειδούς (κυρίως της στοιβάδας των φωτοϋποδοχέων), λέπτυνση της μεμβράνης του Bruch και εκφύλιση των χοριοτριχοειδών.^{27,38,39} Η γεωγραφική ατροφία του μελάγχρου επιθηλίου είναι σοβαρότερη από την απώλεια των χοριοτριχοειδών, αν και η επιβίωση των χοριοτριχοειδών σε περιοχές πλήρους ατροφίας του μελάγχρου επιθηλίου είναι περιορισμένη.³⁹ Μακροφάγα είναι συχνά παρόντα σε περιοχές γεωγραφικής ατροφίας. Η εναπόθεση λιποφουσκίνης στα κύτταρα του μελάγχρου επιθηλίου προκαλεί την απόπτωση του και μεταγενέστερη γεωγραφική ατροφία.⁴⁰ Η λιποφουσκίνη εναποτίθεται με την μορφή κοκκίων με λιποειδή μεμβράνη προκύπτοντας από τα λυσοσώματα. Τα κοκκία έχουν κίτρινο ή καφέ χρώμα και αυτοφθορίζουν.

Η χοριοειδική νεοαγγείωση προσβάλλει την ωχρά, την περιθηλαία και περιφερικότερες περιοχές. Στα πρώιμα στάδια η χοριοειδική νεοαγγείωση καταλαμβάνει την υπό του μελάγχρου επιθηλίου περιοχή^{41,42} και τελικά προκαλείται ρήξη⁴³ αυτού με ανάπτυξη εξιδρώματος, αιμορραγίας και δισκοειδής ΗΕΩ. Στην εξιδρωματική ΗΕΩ το πλούσιο σε λιπίδια υγρό συσσωρεύεται στον υπό του μελάγχρου επιθηλίου και νευροαμφιβληστροειδικό χώρο. Η αιμορραγία διαμέσου της ρήξης του ΜΕ καταλαμβάνει τον υποαμφιβληστροειδικό χώρο και πολλές φορές μπορεί να περάσει στο υαλοειδές. Στη δισκοειδή εκφύλιση της νόσου ο ινώδης ιστός

μαζί με την νεοαγγειακή μεμβράνη μπορούν να αντικαταστήσουν τμηματικά ή ολικά τον νευροαμφιβληστροειδή. Προκαλείται λέπτυνση της έξω κοκκώδης στοιβάδας και μπορεί να προκληθεί κατά 70% μείωση του μήκους των φωτουποδοχέων.⁴⁴

Η ενεργοποίηση μακροφάγων και μικρογλοίας εκκρίνουν κιτοκίνες και χυμοκίνες προκαλώντας περαιτέρω κυτταρική καταστροφή, αποδόμηση της μεμβράνης του Bruch και αγγειογένεση.⁴⁵

4. Παράγοντες κινδύνου

Η ηλικία είναι ο σημαντικότερος παράγοντας. Όλες οι πληθυσμιακές μελέτες επιβεβαιώνουν την αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης HEΩ σε σχέση με την ηλικία.⁴⁶⁻

52

4.1 Φυλετικές διαφορές

Για χρόνια επικρατούσε η άποψη ότι η εκδήλωση της HEΩ ήταν σπάνια στις έγχρωμες φυλές. Μελέτες έδειξαν ότι έγχρωμα άτομα εμφανίζουν πρώιμα σημάδια της νόσου σε μεγάλη συχνότητα, ενώ αντιθέτως πολύ χαμηλά για τα όψιμα χαρακτηριστικά της νόσου σε όλες τις ηλικίες. Η διαφορά στη γενετική προδιάθεση μπορεί να εξηγήσει μερικώς τις φυλετικές διαφορές στη συχνότητα της νόσου, αλλά οι σχετιζόμενοι με την μελανίνη παράγοντες μπορούν να έχουν κάποιο ποσοστό συμμετοχής στη διαφορά αυτή.⁵³

Μια πρόσφατη μέτα-ανάλυση ενός μεγάλου αριθμού μελετών επιπολασμού, έδειξε ότι οι γυναίκες διατρέχουν ελαφρώς αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οποιασδήποτε μορφής της νόσου (OR 1.13, 95% CI 1.01, 1.26)⁵⁴, αν και άλλες μελέτες δεν επιβεβαίωσαν τη διαφορά μεταξύ φύλου.⁵⁵ Μια πρόσφατη μελέτη συχνότητας (incidence study) έδειξε ότι οι γυναίκες ηλικίας άνω των 75 ετών έχουν δυο φορές μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης όψιμης HEΩ.⁵⁶ Η έλλειψη της προστατευτικής δράσης των οιστρογόνων κατά της αρτηριοσκλήρωσης στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες μπορεί να εξηγήσει το παραπάνω συμπέρασμα.⁵⁷

4.2 Γενετικοί παράγοντες

Μελέτες οικογενειών και διδύμων ήταν χρήσιμες ως το πρώτο βήμα για τον καθορισμό των γενετικών παραγόντων στην ΗΕΩ. Πράγματι, οι δυο μελέτες εμφάνισαν ένα υψηλότερο ποσοστό ατόμων με ΗΕΩ, συμπεριλαμβανομένων μονοζυγωτικά δίδυμα ή συγγενείς με ΗΕΩ. Οι μελέτες διδύμων ισχυροποίησαν το γενετικό υπόβαθρο της νόσου και το ποσοστό αντιστοιχίας είναι υψηλότερο στα μονοζυγωματικά από τα δυζυγωτικά δίδυμα.^{58,59,60} Μελέτες σύνδεσης έχουν αναδείξει πολλές χρωμοσωμικές περιοχές, οι οποίες μπορεί να φέρουν ύποπτα γονίδια. Ο Klein και οι συνεργάτες του το 1998 πρώτοι χαρτογράφησαν μια susceptibility περιοχή (ARMD1) στο χρωμόσωμα 1q25-q31 σε μια μεγάλη γενεά με ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς. Από τότε πολυάριθμες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί, οι οποίες υποστηρίζουν την ύπαρξη susceptibility loci σε διάφορα χρωμοσώματα, όπως 1q,9q,10q και 22q.⁶¹⁻⁶⁶

Οι μελέτες συσχέτισης επίσης έχουν πραγματοποιηθεί και κάποιες γενετικές περιοχές φαίνεται να σχετίζονται με την νόσο. Όπως για παράδειγμα τα αλληλόμορφα της απολιποπρωτεΐνης E, όπου το αλληλόμορφο ApoE-ε4 σχετίζεται με χαμηλή επικινδυνότητα εμφάνισης της νόσου, ενώ αντιθέτως το ApoE-ε2 με πάρα πολύ υψηλή. Πολυάριθμοι γενετικοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί από το 1998 όταν ανακαλύφθηκε η ApoE.⁶⁷ Μερικοί από αυτούς μπορεί να έχουν σποραδική ή μικρής σημασίας εμπλοκή και άλλοι να παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο. Δυο φαίνεται να είναι οι σπουδαιότεροι γενετικοί παράγοντες (CFH Y402H και ARMS2/LOC387715) που εμπλέκονται στην παθογένεια της ΗΕΩ.^{68,69} Ιστοπαθολογικές μελέτες που επικεντρώθηκαν στα drusen ή στις νεοαγγειακές μεμβράνες ενοχοποίησαν φλεγμονώδεις διεργασίες που προέρχονται από το σύστημα συμπληρώματος.^{70,71}

4.2.1 Παράγοντας συμπληρώματος H

Η ενεργοποίηση του συστήματος συμπληρώματος είναι δυνατό να συμβεί μέσω τριών οδών, της κλασικής, της εναλλακτικής και της λεκτίνης, οι οποίες καταλήγουν στη δημιουργία του συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης (Membrane Attack Complex-MAC).

Ο παράγοντας συμπληρώματος H συντίθεται κυρίως στο ήπαρ και κωδικοποιεί πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την εναλλακτική οδό. Αναγνωρίζεται από την κυτταρική μεμβράνη και προστατεύει τα κύτταρα από την καταστροφική δράση των ενεργών

στοιχείων του συμπληρώματος. Επίσης συντίθεται από ποικίλους κυτταρικούς τύπους, όπως οφθαλμός, εγκέφαλος, νεφρά και αγγεία.⁷²

Το ανθρώπινο γονίδιο του παράγοντα συμπληρώματος Η έχει χαρτογραφηθεί στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 1, στην περιοχή 1q32. Το γονίδιο έχει μήκος περίπου 100 kb και κωδικοποιεί ένα μόνο πολυπεπτιδίο μήκους 1,213 αμινοξέων.⁷³ Σχετίζεται και με άλλα γονίδια που κωδικοποιούν παρόμοια με τον CFH ή σχετικά μόρια. Η αλυσίδα του πολυπεπτιδίου του CFH χωρίζεται σε 20 ίδιες υποομάδες των 60 αμινοξέων, οι οποίες ονομάζονται short consensus repeats (SCRs) και δίνει την εικόνα μαργαριταρένιου περιδέλαιου.⁷⁴ Κάθε υποομάδα κωδικοποιείται από ένα μοναδικό εξόνιο, εκτός του εξωνίου 7 που περιλαμβάνει και το Y402H SNP. Έχουν περιγραφεί μια σειρά από πέντε πρωτεΐνες που ορίζεται ως CFHR1 έως CFHR5. Αυτά τα μόρια αποτελούνται από 4 έως 9 SCR μονάδες του παράγοντα Η, αλλά είναι απόντα στο regulatory region.

Ο πολυμορφισμός Y402H του CFH (rs1061170) βρέθηκε να εμπλέκεται σε όλες τις μορφές της HEΩ σε διαφορετικούς πληθυσμούς ανά τον κόσμο. Αυτός ο πολυμορφισμός απλού νουκλεοτιδίου (SNP) βρίσκεται στο εξόνιο 9 και έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή της τυροσίνης σε ιστιδίνη στο αμινοξύ 402 του CFH που περιέχει θέσεις πρόσδεσης (δέσμευσης) για την CRP, την ηπαρίνη και την στρεπτοκοκκική M6 πρωτεΐνη.⁷⁵

Παρατηρηθήκαν διαφορές στην ικανότητα πρόσδεσης σε διάφορες κυτταρικές επιφάνειες μεταξύ των 402H και 402Y^{76,77}, αλλά καμία διαφορά της ανοσοιστοχημικής των drusen μεταξύ των ομόζυγων φορέων των VARIANTS(παραλλαγών).⁷⁸

Έχει περιγραφεί και ένας δεύτερος πολυμορφισμός του παράγοντα συμπληρώματος Η, ο 162V πολυμορφισμός, ο οποίος χαρτογραφείται στο SCR2 και σχετίζεται με την πολυποειδή χοριοειδική αγγειοπάθεια, μια παρόμοια σε κλινική εικόνα με την νεοαγγειακή μορφή της HEΩ πάθηση.

Άλλες δυο μεγάλες ασθένειες που σχετίζονται με μεταλλάξεις του παράγοντα συμπληρώματος Η είναι το αποπικό αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο και η μεμβρανουπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα τύπου II.



Εικόνα 2. Παράγοντας συμπληρώματος B και C2

Η ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού ξεκινάει με την διάσπαση του C3b-δεσμού του παράγοντα B, που οδηγεί με την σειρά του στην δημιουργία του C3Bb συμπλέγματος. Ο παράγοντας B (BF) και ο παράγοντας συμπληρώματος 2 (C2) δυο ενεργοποιητές της κλασικής οδού, έχουν χαρτογραφηθεί στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 6, στην περιοχή 6p21.3 και καταλαμβάνουν μόνο 421 kb στο ανθρώπινο χρωμόσωμα. Έχουν προσδιοριστεί απλότυποι κινδύνου και και απλότυποι με προστατευτική δράση.⁷⁹ Προστατευτική δράση στον καυκάσιο πληθυσμό παρουσιάζουν οι απλότυποι H10 (L9H με E318D) και H7 (ISV10 με R32Q), ενώ ο απλότυπος H1 αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης HEΩ.

Η προστατευτική δράση της παραλλαγής 32Q του παράγοντα B συνδέεται με την μειωμένη συγγένεια για το C3b, η οποία οδηγεί στην μείωση της ενεργοποίησης του συστήματος συμπληρώματος μέσω της μειωμένης παραγωγής της κονβερτάσης (convertase).⁸⁰⁻⁸²



Εικόνα 3. Άλλα γονίδια

4.2.2 ARMS2/HTRA1

Μια πληρέστερη μελέτη του γονιδιακού τόπου (locus) 10q26 έφερε στην επιφάνεια δυο νέους γενετικούς παράγοντες με μεγάλη συμμετοχή στην παθογένεια

της νόσου. Το ARMS2 (Age-related maculopathy susceptibility 2)^{83,84} και το HtrA πρωτεάση σερίνης 1 γονίδια.^{85,86} Στον γονιδιακό τόπο 10q26 οι 15 παραλλαγές (Variants) παρουσιάζουν υψηλό LD και tag single-risk haplotype, οπότε στατιστικός δεν μπορεί να γίνει επαρκής διαχωρισμός μεταξύ των παραλλαγών του ARMS2 και του HTRA1.⁸⁷

Το γονίδιο ARMS2 έχει χαρτογραφηθεί στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 10, στην περιοχή 10q26.13. Κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που αποτελείται από 107 αμινοξέα, έχει 9 θέσεις φωσφορύλιωσης και έχει μοριακό βάρος 12 kDa. Ο ARMS2 mRNA ανιχνεύτηκε στον ανθρώπινο αμφιβληστροειδή και μπορεί να κωδικοποιήσει μια putative (υποθετική) πρωτεΐνη της οποίας η έκφραση και η κυτταρική της θέση είναι υπό συζήτηση. Αρχικά η πρωτεΐνη αυτή ανιχνεύτηκε στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων⁸⁸ και αργότερα στο κυτταρόπλασμα και στον εξωκυττάριο χώρο.^{89,90} Τα μιτοχόνδρια εμπλέκονται στην παθογένεια άλλων ηλικιακών νευροεκφυλιστικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της νόσου του Alzheimer και του Πάρκινσον. Μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που σχετίζεται με τη γήρανση μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργία του μεταβολισμού της ενέργειας και της ομοιόστασης, της παραγωγής των δραστικών μορφών οξυγόνου, συσσώρευση σωματικών μεταλλάξεων στο μιτοχονδριακό DNA και ενεργοποίηση της απόπτωσης. Μείωση του αριθμού και του μεγέθους των μιτοχονδρίων, απώλεια ακρολοφίων ή μειωμένη πυκνότητα υλικού (matrix) παρατηρήθηκε σε αμφιβληστροειδείς με HEΩ σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Διαγραφές μιτοχονδριακού DNA και cytochrome c oxidase-deficient cones συσσωρεύονται στον γερασμένο αμφιβληστροειδή, ιδίως στην η περιοχή της ωχράς κηλίδας. Επιπλέον, οι μεταλλάξεις των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών (GTPase, OPA1) σχετίζονται με οπτικές νευροεκφυλιστικές παθήσεις. Μια εργασία του Rivera και συνεργατών⁹¹ κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ο A69S SNP (rs10490924 G→T) στο εξόνιο 1 του γονιδίου σχετίζεται άμεσα με την HEΩ.

Το γονίδιο HTRA1 έχει χαρτογραφηθεί στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 10, στην περιοχή 10q26.3 και κωδικοποιεί μια 50-kDa εκκριτική πρωτεΐνη η οποία ανήκει στην οικογένεια των υψηλά απαιτούμενων θερμοκρασίας πρωτεϊνών των πρωτεασών σερίνης με έκφραση στον αμφιβληστροειδή ποντικού και ανθρώπου.⁹² Επίσης παρατηρείται αύξηση της έκφρασης του στους ανθρώπινους ινοβλάστες με το γήρας.⁹³ Το γονίδιο HTRA1 φαίνεται να ρυθμίζει την αποικοδόμηση των πρωτεογλυκανών του εξωκυττάρου υλικού. Η δραστηριότητα αυτή έχει θεωρηθεί ότι διευκολύνει την πρόσβαση και άλλων ενζύμων αποικοδόμησης του υλικού, όπως οι

κολλαγενάσεις και οι μεταλλοπρωτεϊνάσεις.⁹⁴ Υπερέκφραση του HTRA1 μεταβάλλει την ακεραιότητα της μεμβράνης του Bruch ευνοώντας την εισβολή των τριχοειδών αγγείων του χοριοειδούς, όπως συμβαίνει στην υγρά μορφή της HEΩ. Επίσης το γονίδιο HTRA1 δεσμεύει και αναστέλλει τον TGF-β παράγοντα, σημαντικό ρυθμιστή της εναπόθεσης εξωκυττάριου υλικού και της αγγειογένεσης.⁹⁵ Διάφορες μελέτες που έγιναν από 2006 έως το 2008 έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός rs11200638 G→A στον υποκινητή του γονιδίου σχετίζεται σημαντικά με την έναρξη της νόσου στον καυκάσιο πληθυσμό των Ηνωμένων Πολιτειών,⁹⁶⁻¹⁰⁰ της κεντρικής Ευρώπης,¹⁰¹ της Γαλλίας,¹⁰² του Ηνωμένου Βασιλείου,¹⁰³ της Κίνας,¹⁰⁴ της Ιαπωνίας¹⁰⁵ και της Ινδίας.¹⁰⁶

4.2.3 Παράγοντας C3

Ο πολυμορφισμός rs2230199 (R80G) στο εξώνιο 3 του γονιδίου αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την παραγωγική και ατροφική μορφή της νόσου τόσο για τους ετερόζυγους όσο και για τους ομόζυγους φορείς του αλληλόμορφου.¹⁰⁷

Σε πρόσφατες ανοσοχημικές και γενετικές αναλύσεις (ασθενείς-μάρτυρες) αναγνωρίστηκαν και άλλα SNPs του C3(MRD_4273), του C9(rs476569) και η φυκολίνη1 (FCN1) (rs10117466, rs10120023, MRD_4502), που σχετίζονται με την HEΩ.¹⁰⁸

4.2.4 Παράγοντας συμπληρώματος I (CFI)

Το γονίδιο (CFI) κωδικοποιεί ένα μόριο που περιέχει πρωτεάση σερίνης, το οποίο διασπά και αδρανοποιεί το C3b και C4b. Μελέτες ανέδειξαν δυο SNPs (rs10033900 και rs13117504), αλλά ο τρόπος δράσης παραμένει προς το παρόν άγνωστος.¹⁰⁹⁻¹¹¹

4.2.4 VEGFA

Σε μια πρόσφατη μέτα-ανάλυση από το GWAS (Genome-Wide Association Studies) με 5640 ασθενείς με προχωρημένη HEΩ βρέθηκαν 2 SNPs, το rs4711751 που βρίσκεται κοντά στο VEGFA και το rs1999930 που βρίσκεται κοντά στο

FRK/COL10A1. Αυτές οι παραλλαγές υποδεικνύουν ότι το VEGFA εμπλέκεται στην αγγειογένεση, σε φλεγμονώδεις διεργασίες και στο εξωκυττάριο κολλαγόνο.¹¹²

4.2.5 Λιπίδια

Τα λιπίδια ενοχοποιήθηκαν μετά την εύρεση χοληστερίνης και εστεροποιημένης χοληστερίνης στην μεμβράνη του Bguch και στα drusen.^{113,114} Διάφορα γονίδια ενοχοποιήθηκαν, όπως:

Απολιποπρωτεΐνη (ApoE)

Η απολιποπρωτεΐνη βρίσκεται στον προδιαθεσικό γενετικό τόπο 19q13.2 και κωδικοποιεί μια γλυκοπρωτεΐνη 34.2 kDa. Η ApoE βρίσκεται στις λιποπρωτεΐνες και αλληλεπιδρά με τους κυτταρικούς υποδοχείς της ApoE, της LDL και άλλων σχετικών με την LDL υποδοχέων (LRP1, LRP5 και LRP8), των οποίων η αλληλεπίδραση βοηθάει στην κάθαρση διαφόρων λιποπρωτεϊνών από την κυκλοφορία.^{115,116}

Η ApoE είναι ο πρώτος γενετικός παράγοντας που ενοχοποιήθηκε για την εκδήλωση της HEΩ,¹¹⁷ αλλά μελέτες δεν το επιβεβαίωσαν λόγω μειωμένης δράσης και χαμηλής συχνότητας των αλληλόμορφων ε2 και ε4.¹¹⁸⁻¹²³ Το αλληλόμορφο ε4 έχει σχετιστεί με μείωση του κινδύνου αναπτύξεις διαφόρων μορφών της νόσου (παραγωγική ή ατροφική)^{124,125} και ειδικά σε άνδρες,¹²⁶ ενώ το ε2 αυξάνει το κίνδυνο στους άνδρες.¹²⁴

Scavenger Receptor Class B Type 1

Ο Scavenger Receptor Class B Type 1 χαρτογραφείται στον 12q24.31 γονιδιακό τόπο και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη (SRB1) από 509 αμινοξέα, η οποία μεσολαβεί για την μεταφορά της χοληστερίνης και της HDL μεταξύ των κυττάρων. Επίσης εμπλέκεται στον μεταβολισμό της βιταμίνης E και της λουτεΐνης.^{127,128} Προς το παρόν έχει βρεθεί ο SNP rs5888 ως παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη της παραγωγικής μορφής της νόσου.¹²⁹ Σημαντική θα είναι η συσχέτιση αυτού του γονιδίου με την HEΩ, όταν θα ξεκαθαριστεί και ο βαθμός συμμετοχής στη νόσο της χοληστερίνης, της λουτεΐνης και της βιταμίνης E από επιδημιολογικές μελέτες.

4.3 Γενετικοί παράγοντες και κλινικές μορφές

Για την πρόωμη έναρξη της νόσου τις περισσότερες φορές ευθύνεται το γονίδιο LOC387715/ARMS2.¹³⁰⁻¹³⁴ Επίσης για μεγαλύτερου μεγέθους χοριοειδικής νεοαγγειακής βλάβης υπάρχει συσχέτιση με τα αλληλόμορφα LOC387715/ARMS2 ή HTRA1.^{130,134,135} Σημαντική συσχέτιση βρέθηκε για την πρόωμη έναρξη της νόσου ($p < 0.014$), ινοαγγειώδη ουλή ($p < 0.0001$), αμφοτερόπλευρης CNV και χαμηλής οπτικής οξύτητας ($p < 0.02$) μεταξύ ομόζυγων για τον CFH και ARMS2. Επίσης συσχέτιση υπάρχει μεταξύ ARMS2 και κλασικής CNV ($p < 0.026$).¹³⁶ Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι για την εξέλιξη και αμφοτερόπλευρη εξαπλωση της CNV περισσότερο εμπλέκονται τα HTRA1/ARMS2 SNPs από τα CFH SNP.¹³⁷ Απεναντίας κάποιες μελέτες εμφάνισαν συσχέτιση των ομόζυγων για το αλληλόμορφο rs1061170 του CFH με την καθ' υπεροχήν κλασική CNV.¹³⁸⁻¹⁴⁰ Το αλληλόμορφο rs10490924 του ARMS2 εμφανίστηκε πιο συχνά σε ασθενείς με παραγωγική HEΩ παρά σε ασθενείς με γεωγραφική ατροφία. Άλλα γονίδια όπως ο CFH, C2/CFB, C3, CFI, LIPC και TIMP3 δεν εμφάνισαν διαφορές μεταξύ των μορφών της νόσου.¹⁴¹

Το κάπνισμα είναι ο κυριότερος και επιβεβαιωμένος παράγοντας για την ανάπτυξη παραγωγικής και ατροφικής HEΩ, προκαλώντας αύξηση του οξειδωτικού στρες, συσσώρευση αιμοπεταλίων, υψηλά επίπεδα ινωδογόνου και μείωση της HDL στο πλάσμα.¹⁴² Αναλύσεις αλληλεπίδρασης έδειξαν συνεργικό αποτέλεσμα του καπνίσματος με το γονίδιο CFH, ενώ αμφιλεγόμενα ήταν τα αποτελέσματα με τα γονίδια ARMS2/HTRA1.¹⁴³⁻¹⁴⁶

Η μελέτη της AREDS έδειξε ότι άτομα με δείκτη μάζας σώματος άνω των 30 kg/m (φυσιολογική τιμή: 18.5-24.9 kg/m) είχαν μεγαλύτερες πιθανότητες (odds ratio 1.93) εμφάνισης γεωγραφικής ατροφίας.^{147,149} Ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος σχετίζεται με την έναρξη και εξέλιξη της HEΩ, όταν συνδυάζεται με γενετικούς παράγοντες. Παρόλα αυτά προς το παρόν δεν υπάρχει καμία συσχέτιση μεταξύ του δείκτη μάζας σώματος και συγκεκριμένων γονιδίων.^{148,149}

Δίαιτα πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες όπως β-καροτίνη, βιταμίνες C, E και ο ψευδάργυρος, η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη μειώνουν την πιθανότητα εμφάνισης HEΩ σε ηλικιωμένα άτομα.¹⁵⁰⁻¹⁵⁷ Τα καροτινοειδή όπως η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη που υπάρχουν σε αφθονία στην ωχρά¹⁵⁸ και βρίσκονται στα σκούρα πράσινα λαχανικά (σπανάκι, κατσαρό λάχανο) επίσης μειώνουν την πιθανότητα εμφάνισης HEΩ.^{150,151,159,160} Η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη ρυθμίζουν την ηλιακή και οξειδωτική έκθεση αντανακλώντας του μικρού μήκους κύματος ακτινοβολία και έτσι

προστατεύουν τα κυτταρικά λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το πυρηνικό υλικό από τυχόν φωτοχημική και οξειδωτική βλάβη.¹⁶¹

Περισσότερα ωμέγα-3 στη διατροφή μειώνουν την πιθανότητα εμφάνισης ΗΕΩ. Τα ωμέγα-3 είναι λιπαρά οξέα που βρίσκονται στα συμπληρώματα πετρελαίου ψαριών και φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία νεοαγγείωσης και γονιδιακής έκφρασης. Επίσης συμμετέχουν δραστικά στη ρύθμιση της επιβίωσης των κυττάρων του αμφιβληστροειδούς, της φλεγμονής και της ενεργειακής ισορροπίας.¹⁶²⁻¹⁶⁴

Αρκετές μελέτες προτείνουν ως έναν επιπλέον παράγοντα κινδύνου την έκθεση στο ηλιακό φως.¹⁶⁵⁻¹⁷⁰ Μελέτη της Beaver Dam Eye Study (BDES)¹⁷¹ που πραγματοποιήθηκε σε 2,764 άτομα για δέκα χρόνια, έδειξε ότι η έκθεση στο ηλιακό φως μπορεί να σχετίζεται με την έναρξη της ΗΕΩ. Αναφορές εμφάνισης ΗΕΩ σε ασθενείς μετά από αφαίρεση καταρράκτη και ένθεση ενδοφακού, ειδικά αυτών που δεν περιέχουν φίλτρο προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία, ενισχύουν την παραπάνω θεωρία.¹⁷²⁻¹⁷⁴

Η βιταμίνη D επίσης σχετίζεται επιδημιολογικά και γενετικά με όλες τις μορφές της ΗΕΩ όπως παρουσιάστηκε σε πρόσφατη μελέτη.¹⁷⁵ Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D στο αίμα μπορεί να είναι ένας επιπλέον παράγοντας κινδύνου για την έναρξη της νόσου.

Επίσης μελετήθηκαν πολυμορφισμοί γονιδίων που ρυθμίζουν τον μεταβολισμό της βιταμίνης D, όπως τα γονίδια CYP27A1(2q33), CYP27B1(12q 13.1-q13.3), VDR(12q13.11) και CYP24A1(20q13). Βρίσκονται στους ίδιους γενετικούς τόπους με άλλα σημαντικά γονίδια και παρουσιάζουν συσχέτιση με όλες τις μορφές της νόσου.

5. Η κλινική εικόνα

Συμπτώματα

- 1) Ελάττωση της κεντρικής όρασης είναι το κύριο σύμπτωμα νόσου της ωχράς. Τυπικά, ο ασθενής παραπονιέται ότι υπάρχει κάτι το οποίο παρεμποδίζει την κεντρική όραση (θετικό σκότωμα).

- 2) Μεταμορφοψία, είναι μια μεταβολή στο σχήμα μιας εικόνας.
- 3) Μικροψία, είναι η ελάττωση του μεγέθους μιας εικόνας εξαιτίας απομάκρυνσης των κωνίων του κεντρικού βοθρίου.
- 4) Μακροψία, είναι η αύξηση του μεγέθους μιας εικόνας και οφείλεται σε συγκέντρωση των κωνίων του κεντρικού βοθρίου.

5.1 Κλινικές Μορφές

Η ΗΕΩ παρουσιάζει φαινοτυπική ποικιλομορφία στη περιοχή του οπίσθιου πόλου¹⁷⁶⁽⁸¹⁾.

Κλινικά η ΗΕΩ χωρίζεται σε ξηρά (μη εξιδρωματική) και υγρή ή νεοαγγειακή μορφή (εξιδρωματική). Τα drusen, η μη γεωγραφική ατροφία του μελάγχρου επιθηλίου, η εστιακή υπερμελάγχρωση (πρώιμο στάδιο) και η γεωγραφική ατροφία (όψιμο στάδιο) είναι μη εξιδρωματικές αλλοιώσεις και ανήκουν στην ξηρά μορφή της νόσου. Τα drusen συνήθως σχετίζονται με καλή οπτική οξύτητα και παρουσιάζουν ελάχιστα οπτικά συμπτώματα. Στην πλειοψηφία τα μάτια αυτά δεν παρουσιάζουν επιδείνωση.

Η υγρή μορφή της ΗΕΩ κλινικά χαρακτηρίζεται από νεοαγγείωση του χοριοειδούς και από τις επιπλοκές που την ακολουθούν όπως είναι η εξιδρωματική ή/και αιμορραγική αποκόλληση του μελάγχρου επιθηλίου, η ρήξη του μελάγχρου επιθηλίου, η ινοαγγειακή δισκοειδής ουλή και πιο σπάνια η αιμορραγία του υαλοειδούς.¹³

Drusen

Τα τυπικά drusen σχηματίζονται από προϊόντα μεταβολισμού του μελάγχρου επιθηλίου και από τμήματα μεμβρανών, τα οποία εναποτίθενται μεταξύ του μελάγχρου επιθηλίου και της μεμβράνης του Bruch. Τα drusen προκαλούν μικροαποκολλήσεις του ΜΕ και οφθαλμοσκοπικά, φαίνονται σαν λευκοκίτρινες ή κίτρινες κηλίδες στην περιοχή της ωχράς ή και εκτός αυτής. Η παρουσία των drusen αποτελεί παράγοντα κινδύνου για μετάπτωση στο όψιμο στάδιο της νόσου.¹⁷⁷⁻¹⁷⁹ Με βάση την μέθοδο εξέτασης ουσιαστικά όλοι οι ασθενείς άνω των 60 ετών παρουσιάζουν drusen στην περιοχή της ωχράς κηλίδας, αν και τα drusen δεν είναι χαρακτηριστικό σημείο της ΗΕΩ.

Στους ασθενείς που απουσιάζουν η ατροφία και οι εξιδρωματικές εκδηλώσεις διατηρούν πολύ καλή οπτική οξύτητα, αν και πιο λεπτομερή εξέταση μπορεί να αποκαλύψει ανωμαλία στην προσαρμογή στο σκοτάδι και δυσκολία διαβάσματος στο ημίφως. Τα τελευταία συμπτώματα δεν ανιχνεύονται με τα συμβατικά τεστ οπτικής οξύτητας. Χρειάζονται άλλα πιο εξειδικευμένα ψυχοσωματικά^{180(85),181(86)} τεστ όπως η αντίθεση χρωμάτων και ο έλεγχος της λειτουργίας των κωνίων του μπλε φάσματος.

Υπάρχουν διάφοροι τύποι drusen με βάση οφθαλμοσκοπικά, ιστολογικά και αγγειογραφικά κριτήρια. Σε έναν οφθαλμό μπορούν να παρατηρηθούν διάφοροι τύποι drusen. Ο τύπος και η κατανομή των drusen μπορεί να διαφέρει από άτομο σε άτομο. Ωστόσο παρατηρείται μεγάλη συμμετρία μεταξύ δύο οφθαλμών σε έναν ασθενή.

Τα drusen, ανάλογα με το μέγεθος τους, διακρίνονται σε μικρά, με διάμετρο <63 μm (σκληρά drusen), σε μεγάλα ≥ 125 μm (μαλακά drusen) και σε ενδιάμεσα μεταξύ 63 και 125 μm. Κλινικά το μέγεθος των drusen προσδιορίζεται με βάση την διάμετρο των κυρίων φλεβικών κλάδων του αμφιβληστροειδούς, στο σημείο όπου αυτοί διέρχονται από τα όρια του οπτικού δίσκου. Στο σημείο αυτό οι φλέβες έχουν περίπου 125 μm διάμετρο.^{182,183(87)}

Σκληρά drusen

Οφθαλμοσκοπικά τα σκληρά drusen έχουν διάμετρο που μπορεί να φθάσει τα 30-50 μm και εμφανίζονται ως μικρές καλά αφορισμένες κιτρινωπές εναποθέσεις, ειδικά όταν εξετάζονται με το ανέρυθρο φως της σχισμοειδής λυχνίας. Τα σκληρά drusen συνήθως παρατηρούνται στην κεντρική περιοχή της ωχράς. Επίσης, μπορεί να εντοπίζονται εκτός των κροταφικών αγγειακών τόξων, καθώς και ρινικά της οπτικής θηλής χωρίς τη συμμετοχή της ωχράς. Ιστολογικά, τα σκληρά drusen εντοπίζονται μεταξύ της βασικής μεμβράνης του μελάγχρου επιθηλίου και της έσω κολλαγόνου στιβάδας της μεμβράνης του Bruch και σχηματίζονται από εναποθέσεις υλικού το οποίο έχει υποστεί υαλινή εκφύλιση.¹⁸⁴ Τα τυπικά μικρά σκληρά drusen, μεγέθους <63 μm, δεν παρουσιάζουν μεταβολές της μεμβράνης του Bruch, αποδεικνύοντας ότι οι αλλοιώσεις αυτές δεν αποτελούν μορφή εξελεκτικής εκφύλισης. Στην φλουροαγγειογραφία, τα σκληρά drusen εμφανίζουν έντονο υπερφθορισμό εκ διαφάνειας, λόγω της συνυπάρχουσας ατροφίας του ME υπέρθεν των drusen. Στις όψιμες φάσεις ο υπερφθορισμός σταδιακά εξασθενεί. Πολύ συγγραφείς πιστεύουν ότι τα drusen αυτά είναι “φυσιολογικά” σημάδια γήρανσης,¹⁸⁵⁽⁸⁸⁾ αν και πρόσφατες

μελέτες καταδεικνύουν ότι παρουσία πολλών σκληρών drusen (άνω των οκτώ) σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μαλακών drusen και μετάπτωσης στο όψιμο στάδιο της νόσου στα επόμενα δέκα χρόνια.¹⁸⁰⁽⁸⁵⁾ Λαμβάνοντας υπόψη ότι το 98,8% του πληθυσμού άνω των 49 ετών παρουσιάζει drusen μεγέθους <63 μπι, δεν θα πρέπει να τίθεται η διάγνωση της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς με βάση την παρουσία αυτών των drusen.¹⁸⁶

Τα σκληρά drusen σπανίως υπερβαίνουν σε μέγεθος τα 125μπι. Συρρέοντα μικρά σκληρά drusen, μπορούν να δώσουν την εικόνα ενός μαλακού drusen μεγέθους μέχρι και 250μπι. Τελικά οι παραπάνω αλλοιώσεις υποστρέφουν δημιουργώντας κηλίδες υπομελάγχρωσης, ενώ νέα drusen κάνουν την εμφάνισή τους.

Συμπερασματικά, τα μικρά σκληρά drusen δεν αποτελούν παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς. Το γεγονός αυτό ενισχύεται και από τα αποτελέσματα πενταετούς μελέτης, σύμφωνα με την οποία δεν παρατηρήθηκε προχωρημένη ΗΕΩ σε οφθαλμούς με μικρού μεγέθους drusen κατά την έναρξη της παρακολούθησης.¹⁸⁷ Ωστόσο, άλλες μακροχρόνιες μελέτες υποστηρίζουν ότι τα μικρά σκληρά drusen είναι δυνατόν να προκαλέσουν γεωγραφική ατροφία και πιο σπάνια νεοαγγείωση χοριοειδούς.¹⁸⁸

Μαλακά drusen

Τα μαλακά drusen είναι μεγαλύτερα από τα σκληρά έχουν ασαφή όρια και εκδηλώνονται συνήθως την 7^η δεκαετία της ζωής. Με τον χρόνο είναι δυνατόν πολλαπλά μαλακά drusen να συνενωθούν, οδηγώντας στη δημιουργία ορώδους αποκολλήσεις του ΜΕ στην κεντρική περιοχή της ωχράς. Στην περίπτωση αυτή το υλικό των drusen, απορροφούμενο, αντικαθίσταται από ορώδεις υγρό (drusenoid pigment epithelial detachment). Η ορώδης αυτή αποκόλληση είναι αβαθής και εξελίσσεται με αργούς ρυθμούς. Στην φλουοροαγγειογραφία εμφανίζουν μικρότερης έντασης υπερφθορισμό από τα σκληρά drusen. Ο υπερφθορισμός αυτός είναι πρώιμος και παρατεταμένος. Η παράταση του φθορισμού οφείλεται στην χρώση του ηωζινοφίλου υλικού των μαλακών drusen από την χρωστική η οποία προέρχεται από τα χοριοτριχοειδή.

Η εμφάνιση μαλακών και συρρεόντων μαλακών ωχρικών drusen είναι συχνά πρόδρομος της ανάπτυξης τόσο της ατροφικής όσο και της εξιδρωματικής ΗΕΩ. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα drusen είναι δυνατόν να υποστούν δευτεροπαθή

δυστροφική ασβεστοποίηση και να αποκτήσουν μια απαστράπτουσα εμφάνιση (αποτιτανωμένα drusen).

Τα drusen του βασικού πετάλου (basal laminar drusen) είναι αναρίθμητα, μικρά, ομοιόμορφα, στρογγυλά οζίδια υπό το ΜΕ και δίνουν την φλουροαγγειογραφική εικόνα “αστεριών στον ουρανό”. Εμφανίζονται σε νεώτερους ασθενείς απ’ ότι τα σκληρά ή τα μαλακά drusen και είναι δυνατόν να συνδυάζονται με ψευδολεκιθόμορφη αποκόλληση του ασηθηριακού αμφιβληστροειδή ή σπάνια με χοριοειδική νεοαγγείωση.

Τα μαλακά drusen, αφού απορροφηθούν δημιουργούν μικρές περιοχές ατροφίας του μελάγχρου επιθηλίου. Η παρουσία τους αποτελεί παράγοντα υψηλού κινδύνου για την όραση, εξ αιτίας των επιπλοκών τους, όπως είναι η ορώδης αποκόλληση του ΜΕ, η γεωγραφική ατροφία της ωχράς και η νεοαγγείωση του χοριοειδούς.

Θεωρείται δεδομένο ότι τα υπερφθορίζοντα drusen είναι υδρόφιλα (χαμηλού περιεχομένου σε λιπίδια) και ότι προδιαθέτουν σε μελλοντική εμφάνιση χοριοειδικής νεοαγγείωσης. Τα υποφθορίζοντα drusen είναι υδρόφοβα (υψηλού περιεχομένου σε λιπίδια) και εάν αυτά είναι ευμεγέθη και συνενούμενα, προδιαθέτουν σε μελλοντική αποκόλληση του ΜΕ.

Αμφοτερόπλευρα drusen

Οι περισσότεροι ασθενείς με αμφοτερόπλευρα drusen δεν παρουσιάζουν κάποιου είδους οπτικής απώλειας. Από διάφορες μελέτες έχει βρεθεί ότι γενικώς υπάρχει 1-5% πιθανότητα κάθε χρόνο να εμφανίσουν κάποιου είδους οπτικής απώλειας σε ένα οφθαλμό.

Μη γεωγραφική ατροφία μελάγχρου επιθηλίου

Η μη γεωγραφική ατροφία του μελάγχρου επιθηλίου χαρακτηρίζεται από αθροίσεις μελαχρωστικής και από στικτή υπομελάγχρωση με λέπτυνση του υπερκείμενου αμφιβληστροειδούς.¹⁸⁹ Στη φλουροαγγειογραφία καταγράφεται υπερφθορισμός, αντίστοιχα προς τις ατροφικές περιοχές του ΜΕ και αποκλεισμός φθορισμού προς τις εναποθέσεις της μελαχρωστικής. Οφθαλμοί με μη γεωγραφική ατροφία του μελάγχρου επιθηλίου έχουν αυξημένες πιθανότητες να εμφανίσουν μαλακά drusen, γεωγραφική ατροφία και νεοαγγείωση χοριοειδούς.¹²

Εστιακή υπερμελάγχρωση

Χαρακτηρίζεται από άθροιση μελαγχρωστικής στις έξω στιβάδες του αμφιβληστροειδούς ή και υπαμφιβληστροειδικά. Η κατανομή της χρωστικής μπορεί να έχει στικτή, γραμμοειδής ή δικτυωτή μορφή και παρατηρείται στο 3%-12% των ενηλίκων.¹⁸⁹ Η εστιακή υπερμελάγχρωση αυξάνει τις πιθανότητες ανάπτυξης γεωγραφικής ατροφίας και εξέλιξη αυτής σε χοριοειδική νεοαγγείωση, ιδιαίτερα σε οφθαλμούς με μαλακά drusen λόγω δημιουργίας αγγειακών αναστομών.^{12,190(89)}

Γεωγραφική ατροφία μελάγχρου επιθηλίου

Η γεωγραφική ατροφία του μελάγχρου επιθηλίου αποτελεί την σοβαρότερη κατάσταση της ξηράς μορφής και προκαλεί νομική τύφλωση στο 12% με 21% των ατόμων που πάσχουν από ΗΕΩ.^{191,192} Χαρακτηρίζεται από ανάπτυξη σαφώς περιγεγραμμένων κυκλοτερών περιοχών ατροφίας του ΜΕ και συνοδεύεται από ποικίλου βαθμού απώλειες των χοριοτριχοειδών.

Η γεωγραφική ατροφία μπορεί να σχετίζεται με την παρουσία μαλακών drusen, ορώδους αποκόλλησης του ΜΕ, διάφορων ανωμαλιών της χρωστικής του ΜΕ ή αποστροφής της νεοαγγειακής μεμβράνης.¹⁹³

Η εκδήλωση της ατροφίας εμφανίζει μεγάλη ποικιλομορφία. Όταν τα συρρέοντα drusen υποστρέψουν στη θέση τους δημιουργούνται μικρές ατροφικές περιοχές, οι οποίες όταν ενωθούν μεταξύ τους σχηματίζουν μια μεγαλύτερη γεωγραφική ατροφική περιοχή περίξ του κεντρικού βοθρίου. Επίσης μικρές μη γεωγραφικής ατροφίας περιοχές είναι δυνατόν να ενωθούν σε μια ενιαία γεωγραφική ατροφική περιοχή. Αυτή, αρχικά περιβάλλει το κεντρικό βοθρίο σε σχήμα πετάλου και στη συνέχεια επεκτείνεται εντός αυτού και το προσβάλλει. Η αυτόματη επιπέδωση μιας ορώδους αποκολλήσεως του ΜΕ είναι δυνατόν να οδηγήσει σε γεωγραφική ατροφία.

Η γεωγραφική ατροφία είναι λιγότερο συχνή σε σχέση με τις άλλες μορφές της ξηράς ΗΕΩ και η συχνότητα με την οποία εμφανίζεται αυξάνει με την πάροδο της ηλικίας. Η εμφανισή της είναι αμφοτερόπλευρη και συμμετρική και εκδηλώνεται στους δύο οφθαλμούς ταυτόχρονα ή και σε διαφορετικούς χρόνους.

Οφθαλμοσκοπικά χαρακτηρίζεται από μια περιγεγραμμένη περιοχή, μεγαλύτερη των 175 μπι, εντός της οποίας γίνονται ορατά τα μεσαία ή και τα μεγάλα αγγεία του χοριοειδούς, λόγω λέπτυνσης του υπερκείμενου αμφιβληστροειδούς και ατροφίας του μελάγχρου επιθηλίου και των χοριοτριχοειδών.¹⁹⁴

Στην φλουροαγγειογραφία γίνεται ορατός ο υπερφθορισμός του χοριοειδούς, λόγω λέπτυνσης ή και ατροφίας του υπεκείμενου μελάγχρου επιθηλίου. Τα χοριοτριχοειδή πληρούνται βραδέως ή και απουσιάζουν. Στις όψιμες φάσεις παρατηρείται παρατεταμένη χρώση του σκληρού από τη φλουρορσεΐνη, οποία προέρχεται από τα εναπομείναντα ή και τα παρακείμενα της βλάβης χοριοτριχοειδή. Το 40% των ασθενών στη φλουροαγγειογραφία εμφανίζει καθυστερημένη πλήρωση των αγγείων του χοριοειδούς και αυτό αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εξέλιξη της νόσου.¹⁸⁹

Χοριοειδική νεοαγγείωση

Η χοριοειδική νεοαγγείωση (XNA) αποτελείται από νεοαγγειακό ιστό, αρχίζοντας την ανάπτυξη του από τα χοριοτριχοειδή, υπό το μελάγχρου επιθήλιο και αργότερα υπό τον αμφιβληστροειδή κατόπιν ρήξεως της μεμβράνης του Bruch. Αποτελεί χαρακτηριστικό της υγρής μορφής της νόσου. Η ανάπτυξη της νεοαγγείωσης μπορεί να σχετίζεται με μεταμορφώσεις και θόλωση της όρασης μπορεί όμως και ασυμπτωματικά, όταν ή βλάβη εμφανιστεί σε έναν οφθαλμό.

Η νεοαγγείωση μπορεί να προηγείται ή να έπεται της αποκόλλσεως του ΜΕ.

Πολλές από τις μεμβράνες δεν μπορούν να αναγνωρισθούν οφθαλμοσκοπικά. Σε μερικές περιπτώσεις η XNA μπορεί να αναγνωρισθεί κλινικά ως φαιοπράσινη ή ερυθροκίτρινη χροιά μιας ελαφρώς υπεγερμένης βλάβης με το μέγεθός της να ποικίλλει. Τα κλινικά σημεία που έχουν σχέση με διαρροή από XNA, είναι η παρουσία ορώδους αποκόλλησης αμφιβληστροειδούς, η υπαμφιβληστροειδική αιμορραγία, καθώς και η εναπόθεση λιπιδίων.

Σύμφωνα με τη μελέτη της Macular Photocoagulation Study Group¹⁹⁵ και με την βοήθεια της φλουροαγγειογραφίας, η νεοαγγειακή μεμβράνη του χοριοειδούς χωρίζεται σε 1) κλασική, 2) κρύφια και 3) συνδυασμένη. Η κρύφια δε διακρίνεται επίσης σε δύο τύπους: α) σε ινοαγγειακή αποκόλληση του μελάγχρου επιθηλίου και β) σε όψιμη διαρροή από ακαθόριστη πηγή.

Η κλασική χαρακτηρίζεται από μια καλώς αφοριζόμενη μεμβράνη η οποία πληρούται με χρωστική κατά την πρώιμη φάση διόδου της φλουρορσεΐνης και φθορίζει έντονα κατά τη μέγιστη δίοδο αυτής δια των αγγείων. Πρώιμος η νεοαγγειακή μεμβράνη εμφανίζει δαντελωτό σχήμα. Κατόπιν άρχεται η διαρροή της χρωστικής από τη νεοαγγείωση εντός του υπαμφιβληστροειδικού χώρου, καθώς επίσης και γύρω από την XNA, που ολοκληρώνεται εντός ενός έως δύο λεπτών. Ο

ινώδης ιστός της ΧΝΑ χρώνεται από τη χρωστική και εμφανίζει όψιμο υπερφθορισμό. Η κλασική ΧΝΑ κατατάσσεται ανάλογα προς τη σχέση της με το κέντρο της αναγγείου ζώνης ως ακολούθως: α) Εξωβοθρική - περισσότερο από 200 μπι από το κέντρο της αναγγείου ζώνης, β) Υποβοθρική – προσβάλλει το κέντρο της αναγγείου ζώνης είτε λόγω επέκτασης της νεοαγγειώσεως από μια εξωβοθρική περιοχή, είτε προερχόμενη απευθείας από το κέντρο του κεντρικού βοθρίου. Το 70% περίπου των ΧΝΑ επεκτείνεται υποβοθρικά μέσα σε διάστημα ενός χρόνου. Η πρόγνωση για την όραση σ' αυτούς τους οφθαλμούς είναι πολύ πτωχή και γ) Παραβοθρική – λιγότερο των 200μπι από το κέντρο της αναγγείου ζώνης αλλά δεν προσβάλλει αυτήν καθεαυτή την περιοχή της ζώνης.

Η κρύφια ΧΝΑ είναι μια δύσκολα αναγνωριζόμενη μεμβράνη με ασαφή χαρακτηριστικά στις πρώιμες φάσεις, αλλά που εμφανίζει διαρροή της χρωστικής στις όψιμες φάσεις. Η αγγειογραφία με πράσινο της ινδοκυανίνης (ICG) μπορεί να βοηθήσει σημαντικά σε συνδυασμό με τη φλουροαγγειογραφία στη διερεύνηση μιας κρύφιας ή ασαφώς περιγεγραμμένης ΧΝΑ, στη διάκριση του τμήματος της αποκόλλεσως του ΜΕ που φέρει τη νεοαγγείωση, από τη λοιπή ορώδη περιοχή της αποκόλλεσως, στη περίπτωση που η ΧΝΑ καλύπτεται από αιμορραγία, χρωστική ή εξίδρωμα και σε μια υποτροπιάζουσα ΧΝΑ πλησίον μιας παλιάς φωτοπηγμένης ουλής. Η κρύφια νεοαγγείωση απαντά στο 85% των διαγνωσθέντων ασθενών με υγρά μορφή της νόσου. Με βάση αγγειογραφικά ευρήματα η κρύφια μεμβράνη διακρίνεται στους ακόλουθους δύο τύπους:

α) Ινοαγγειακή αποκόλληση μελάγχρου επιθηλίου

Η ινοαγγειακή αποκόλληση του μελάγχρου επιθηλίου χαρακτηρίζεται από ανώμαλη συμπαγή δισκοειδή υπέγερση, μεγέθους μιας θηλαίας διαμέτρου ή και μεγαλύτερου, η οποία συχνά συνοδεύεται και από υπέγερση του υπερκείμενου νευροεπιθηλίου.¹⁹⁵

Φλουροαγγειογραφικά, η αλλοίωση εμφανίζει ένα πρώιμο ασθενή και ανώμαλο φθορισμό, ο οποίος βαθμιαία αυξάνει σε ένταση και μετά από ένα λεπτό από την έγχυση της χρωστικής καθίσταται διάστικτος. Μετά από δέκα λεπτά από την έναρξη της εξέτασης, παρατηρείται χρώση του ιστού υπό το μελάγχρου επιθήλιο ή και λίμναση της χρωστικής στο υπερκείμενο υπαμφιβληστροειδικό διάστημα. Η νεοαγγειακή μεμβράνη είναι δυνατόν να βρίσκεται εντός της περιοχής της αποκόλλησης του μελάγχρου επιθηλίου, στα όρια της και σπανιότερα εκτός ορίων.

β) Όψιμη διαρροή από απροσδιόριστη πηγή

Η αλλοίωση, βιομικροσκοπικά εμφανίζει μια αβαθή συμπαγή πάχυνση υπό το μελάγχρουν επιθήλιο, η οποία είναι αποτέλεσμα ύπαρξης χοριοειδικής νεοαγγείωσης. Η βλάβη αυτή, είναι δυνατόν να συνοδεύεται από drusen, αιμορραγικά στοιχεία, χρωστική, ενίοτε και από εναποθέσεις λιπιδικών (σκληρών) εξιδρωμάτων περίξ αυτής. Η μορφή αυτή της κρύφιας νεοαγγείωσης χαρακτηρίζεται από πολλούς ως “νεοαγγειακό μελάγχρουν επιθήλιο”.¹⁹⁶

Στις πρώιμες φάσεις της φλουροαγγειογραφίας, αντίστοιχα προς την αλλοίωση παρατηρείται ελάχιστος φθορισμός, ενώ στις όψιμες φάσεις υπάρχει διαρροή από απροσδιόριστη πηγή και χρώση ιστού υπό το μελάγχρουν επιθήλιο. Συχνά η αλλοίωση παρουσιάζει ένα διάστικτο υπαμφιβληστροειδικό υπερφθορισμό, ο οποίος στη συνέχεια καλύπτεται από υπαμφιβληστροειδική λίμναση της χρωστικής.

Η κλασική και η κρύφια μεμβράνη παρουσιάζουν διαφορετική φλουροαγγειογραφική εικόνα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η κλασική μεμβράνη συνήθως βρίσκεται υπό τον αμφιβληστροειδή, ενώ η κρύφια υπό το μελάγχρουν επιθήλιο.

Σύμφωνα με την μελέτη TIP¹⁹⁷, η νεοαγγειακή μεμβράνη του χοριοειδούς, ανάλογα με την απεικόνισή της στην φλουροαγγειογραφία, διακρίνεται σε: 1) αποκλειστικά κλασική μεμβράνη, 2) κυρίως κλασική μεμβράνη, της οποίας το κλασικό στοιχείο καταλαμβάνει πάνω από 50% της συνολικής αλλοίωσης, 3) ελάχιστα κλασική μεμβράνη, της οποίας το κλασικό στοιχείο είναι λιγότερο από το 50% της αλλοίωσης και δ) κρύφια μεμβράνη, χωρίς κλασικά στοιχεία.

Ελάχιστα νεοαγγειακές μεμβράνες είναι καθατού κλασικές. Οι περισσότερες διαθέτουν και στοιχεία κρύφιας αλλοίωσης.

Σε περίπτωση ινοαγγειακής μεμβράνης και αποκόλλησης ME η XNA φθορίζει εντονότερα (θερμό σημείο) απ’ ότι η αποκόλληση. Σε άλλες περιπτώσεις η XNA μπορεί να αποκρύπτεται από αίμα ή και θολερό υγρό.

Στη συνδυασμένη XNA μπορεί να έχουμε την παρουσία κλασικής και κρύφιας μεμβράνης στον ίδιο οφθαλμό. Στην πορεία μια κρύφια μεμβράνη μπορεί να μετατραπεί σε κλασική, όταν νέα αγγεία που βρίσκονται υπό το μελάγχρου επιθήλιο το διαπεράσουν και αναπτυχτούν υπό τον αισθητηριακό αμφιβληστροειδή.

Αποκόλληση μελάγχρου επιθηλίου

Εμφανίζεται ως καλώς αφορισμένη, ηβώδης υπέγερση του οπισθίου πόλου, της οποίας το μέγεθος ποικίλλει. Η συσσώρευση υγρού εμφανίζεται μεταξύ μεμβράνης του Bpuch και μελάγχρου επιθηλίου. Δεν είναι σπάνια η εμφάνιση υγρού ύπο και ενδοαμφιβληστροειδικά.

Η αποκόλληση μελάγχρου επιθηλίου μπορεί να είναι αποτέλεσμα κρύφιας νεοαγγειακής μεμβράνης μπορεί και όχι, γι' αυτό υφίσταται ο διαχωρισμός της σε μη αγγειακή ή ορώδης (avascular) και αγγειακή (vascular). Έτσι στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς μπορούμε να παρατηρήσουμε τέσσερεις τύπους αποκόλλησης μελάγχρου επιθηλίου: 1) ορώδης αποκόλληση, 2) ινοαγγειακή, 3) αιμορραγική και 4) αποκόλληση μελάγχρου επιθηλίου ως αποτέλεσμα των drusen. Η συγκέντρωση φλουορεσκεΐνης και ινδοκυανίνης στο υγρό της αποκόλλησης στην αγγειογραφία στις περισσότερες των περιπτώσεων καταδεικνύει ότι η αποκόλληση του ME σχετίζεται με κρύφια νεοαγγειακή μεμβράνη, πολυποειδή χοριοειδική αγγειοπάθεια και κεντρική ορώδης χοριοαμφιβληστροειδοπάθεια. Η αποκόλληση δημιουργείται είτε από αιμορραγία από την νεοαγγειακή μεμβράνη, είτε από την δημιουργία ινοαγγειακού ιστού, είτε όταν πολλαπλά ευμεγέθη συρρέοντα drusen ενώνονται μεταξύ τους και αφού απορροφηθεί το υλικό τους, αντικαθίσταται από ορώδες ή εξιδρωματικό υγρό.

Η εξέλιξη μιας αποκόλλησης ποικίλει και μπορεί να αυξηθεί προς όλες τις κατευθύνσεις προκαλώντας αποκόλληση του αισθητηριακού αμφιβληστροειδούς ή να υποχωρήσει αυτόματα προκαλώντας ρήξη, είτε γεωγραφική ατροφία του ME.

Ασθενείς με ιδιοπαθή πολυποειδή χοριοειδική αγγειοπάθεια εμφανίζουν επίσης πολλαπλές υποτροπές ορώδους ή οροαιματηρής αποκόλλησης του μελάγχρου επιθηλίου και του νευροεπιθηλίου. Η ιδιοπαθής πολυποειδής χοριοειδική αγγειοπάθεια αποτελεί πρωτοπαθή αγγειακή ανωμαλία του χοριοειδούς και χαρακτηρίζεται από ένα αναστομωτικό αγγειακό δίκτυο, το οποίο καταλήγει σε διευρύνσεις δίκην πολυπόδων στο επίπεδο των τριχοειδών του χοριοειδούς.¹⁹⁸ Επίσης ασθενείς με κεντρική ορώδης χοριοαμφιβληστροειδοπάθεια εμφανίζουν αποκόλληση του μελάγχρου επιθηλίου και σπανιότερα ασθενείς άνω των 50 ετών μπορεί να παρατηρηθεί νεοαγγείωση χοριοειδούς.

Ρήξεις μελάγχρου επιθηλίου

Συνήθως συμβαίνουν αυτόματα με ξαφνική επιδείνωση της οπτικής οξύτητας.¹⁹⁹ Μπορεί επίσης να επέλθει κατά τη διάρκεια ή μετά από φωτοπηξία νεοαγγείωσης του

χοριοειδούς με laser ή με φωτοδυναμική θεραπεία. Οι ενδοουλοειδικές ενέσεις επίσης μπορούν να προκαλέσουν ρήξη του ΜΕ, αλλά σε μικρότερο ποσοστό. Στην αγγειογραφία οι ρήξεις είναι καλά αφοριζόμενες περιοχές υπερφθορισμού, που ανταποκρίνονται στα ελλείμματα του ΜΕ. Οι ρήξεις τυπικά προέρχονται από την αποκόλληση του ΜΕ ως αποτέλεσμα της αυξανόμενης τάσης των ιστών. Σε μερικούς ασθενείς η φλουροαγγειογραφική εικόνα με μικρές ρήξεις του ΜΕ μιμείται την κεντρική ορώδη αμφιβληστροειδοπάθεια.²⁰⁰

Τελικού σταδίου ΗΕΩ (Δισκοειδής ουλή)

Το τελικό στάδιο της νόσου χαρακτηρίζεται από την δημιουργία δισκοειδούς ουλής. Σε αυτό το στάδιο οι αγγειογενετικοί παράγοντες και η ανάπτυξη νεοαγγείων μειώνεται και αυξάνεται η δημιουργία ινικής. Έτσι η νεοαγγείωση αντικαθίσταται από ινώδη ιστό. Η ουλή έχει χρώμα λευκοκίτρινο ή λευκό, σχήμα ωοειδές ή στρογγύλο και αναπτύσσεται υπαμφιβληστροειδικά ή υπο το μελάγχρουν επιθήλιο. Οι βλάβες διαφέρουν σε μέγεθος και μπορεί να είναι μικρότερες μιας θηλαίας διαμέτρου ή να καταλαμβάνουν σχεδόν όλο τον οπίσθιο πόλο. Οι αμφοτερόπλευρες ουλές στην περιοχή της ωχράς τείνουν να είναι συμμετρικές. Είναι δυνατόν να υπάρξει υποτροπή της νεοαγγείωσης στα όρια της ουλής ή εντός αυτής. Στη φλουροαγγειογραφία η ουλή υπερφθορίζει, λόγω του χρωματισμού της από φλουορεσεΐνη που διαρρέει από τα εναπομείναντα νεοαγγεία ή από τα παρακείμενα υγιή χοριοτριχοειδή.

Ετερόπλευρη ΗΕΩ

Διάφορες μελέτες καταδεικνύουν μεγάλη συμμετρία βλαβών σε όλες τις μορφές της νόσου.²⁰¹⁻²⁰⁵ Το ενδιαφέρον βρίσκεται στις πιθανότητες που έχει ο έτερος υγιής οφθαλμός να προσβληθεί από τη νόσο.^{206,207} Ασθενείς με ετερόπλευρη ΧΝΑ εμφανίζουν 7-12% ετησίως πιθανότητα να νοσήσει ο έτερος οφθαλμός. Μεγάλη πιθανότητα (30-50% ετησίως) εμφανίζουν ασθενείς με ετερόπλευρες ρήξεις του ΜΕ.²⁰⁸

Συγκεντρωτικά μεγάλες πιθανότητες εμφάνισης της νόσου στον υγιή οφθαλμό έχουν οι ασθενείς που παρουσιάζουν μαλακά drusen, εστιακή αύξηση εναπόθεσης

χρωστικής, εξωβοθρική γεωγραφική ατροφία, καθυστέρηση της χοριοειδικής διήθησης στον προσβεβλημένο οφθαλμό, αρτηριακή υπέρταση και κάπνισμα.

6. Διαγνωστικές μέθοδοι

6.1 Φλουοροαγγειογραφία - Αγγειογραφία με πράσινο της ινδοκυανίνης

Η αγγειογραφία με φλουορεσεΐνη αποτελεί βασικό διαγνωστικό εργαλείο του οφθαλμιάτρου στην μελέτη των παθήσεων του βυθού και συνεπώς και της ΗΕΩ.²⁰⁹ Βασίζεται στην ιδιότητα του φλουορεσεϊνικού νατρίου (Sodium fluorescein) να απαντά με φθορισμό στη διέγερση με μονοχρωματικό κυανό φως με μήκος κύματος από 465 μέχρι 490 nm. Το φως το οποίο εκπέμπει η φλουορεσεΐνη, κάτω από αυτές τις συνθήκες, είναι στο φάσμα του πράσινου-κίτρινου με μήκος κύματος 520-530 nm.

Ο ασθενής εξετάζεται σε μυδρίαση. Μετά την ενδοφλέβια χορήγηση του διαλύματος φλουορεσεΐνης 10%, το 80% της ουσίας δεσμεύεται από πρωτεΐνες του ορού και δεν παρουσιάζει φθορισμό. Την ιδιότητα του φθορισμού διατηρεί το υπόλοιπο αδέσμευτο 20% της φλουορεσεΐνης. Στην κλασσική φλουοροαγγειογραφία η εκπομπή του μονοχρωματικού φωτός διέγερσης και η καταγραφή του φθορισμού της φλουορεσεΐνης εξασφαλίζονται από ειδικά φίλτρα εφαρμοσμένα σε κάμερα βυθού και συγχρονισμένα με την συμβατική φωτογραφική μηχανή με ασπρόμαυρο φωτογραφικό φιλμ. Στην φωτογραφία οι περιοχές με φθορισμό απεικονίζονται λευκές. Ανάλογα, οι περιοχές που δεν εμφανίζουν φθορισμό, φαντάζουν μαύρες. Η διαβάθμιση της έντασης του φθορισμού καταγράφεται ως αποχρώσεις του γκριζού. Στην ψηφιακή αγγειογραφία με φλουορεσεΐνη το μονοχρωματικό φως διέγερσης παράγεται από συσκευή laser και η καταγραφή της εικόνας γίνεται σε ψηφιακή μορφή. Η ψηφιακή φλουοροαγγειογραφική εικόνα έχει την ίδια εμφάνιση με την κλασσική ασπρόμαυρη μορφή και ερμηνεύεται βάση των ίδιων κανόνων.

Η φλουορεσεΐνη, όπως και ο ορρός του αίματος, δεν διαπερνά τους αιματοαμφιβληστροειδικούς φραγμούς, τόσο τον έξω (μελάγχρουν επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς) όσο και τον έσω (ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του αμφιβληστροειδούς). Κάθε παθολογία του αμφιβληστροειδούς που συνοδεύεται από διάσπαση αυτών των φραγμών παρουσιάζει την φλουοροαγγειογραφική εικόνα υπερφθορισμού.

Εκτός από τον υπερφθορισμό, παθολογικές καταστάσεις του βυθού δύναται να απεικονισθούν με εικόνα ελάττωσης του φθορισμού, δηλαδή ως υποφθορισμός. Η μείωση της έντασης του φθορισμού μπορεί να οφείλεται σε απόκρυψη του φυσιολογικού φθορισμού από παθολογικά στοιχεία όπως αιμορραγίες (υποαμφιβληστροειδικές, ενδοαμφιβληστροειδικές και προαμφιβληστροειδικές) και σκληρά εξιδρώματα, αλλά και σε μείωση του φυσιολογικού φθορισμού.

Η αγγειογραφία με πράσινο της ινδοκυανίνης (ICG), λόγω των βιολογικών της ιδιοτήτων, είναι πολύτιμη στην μελέτη της φυσιολογικής χοριοειδικής κυκλοφορίας και είναι επίσης μια χρήσιμη βοήθεια στην φλουροαγγειογραφία για την απεικόνιση των αλλοιώσεων οι οποίες προσβάλλουν την ωχρά. Το μέγιστο της διέγερσης βρίσκεται μεταξύ 800 και 810 nm και της εκπομπής από 825 έως 835 nm, που αντιστοιχεί στο υπέρυθρο τμήμα του φάσματος. Το υπέρυθρο φως, το οποίο απορροφάται από τη φλουρορεσεΐνη με ευχέρεια δεν παρεμποδίζεται από τις φυσιολογικές οφθαλμικές χρωστικές του οφθαλμού, όπως η μελανίνη και η ξανθοφύλλη, καθώς επίσης και τα εξιδρώματα ή τα λεπτά στρώματα υποαμφιβληστροειδικής αιμορραγίας. Κατά την είσοδο της στην κυκλοφορία το 98% περίπου των μορίων της δεσμεύονται από τις πρωτεΐνες του ορού. Ο φθορισμός της ICG είναι μόνο 1/25 αυτού της φλουρορεσεΐνης. Η ICG είναι πολύ πιο ασφαλής από τη φλουρορεσεΐνη με λιγότερες παρενέργειες και ανώμαλες αντιδράσεις. Η εξέταση πραγματοποιείται ταυτόχρονα με την φλουρορεσεΐνη.

6.2 Οπτική Τομογραφία Συνοχής (Optical Coherence Tomography – OCT)

Η τομογραφία οπτικού συντονισμού (οπτική τομογραφία) αποτελεί νέα απεικονιστική μέθοδο που αναπτύχθηκε στο MIT το 1991.²¹⁰ Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην ιδιότητα του υπέρυθρου φάσματος του φωτός (μήκος 830-850 nm) να υφίσταται μεταβολές στις φυσικές του ιδιότητες όταν περνάει μέσα από έναν ημιδιαφανή ιστό. Οι μεταβολές αυτές οφείλονται στην διαφοροποίηση της μικροσκοπικής δομής του ιστού και μπορούν να καταγραφούν και να μετρηθούν. Η φωτεινή δέσμη σαρώνει τον αμφιβληστροειδή κατά μήκος προεπιλεγμένης διαδρομής και σε κάθε σάρωση πραγματοποιείται ένας αριθμός προκαθορισμένων αξονικών λήψεων κάθετα προς το επίπεδο της σάρωσης. Η ένταση του φωτός που ανακλάται από τα στοιχεία του ιστού αναπαριστάται με 16 τόνους του γκριζου, από το λευκό ως το μαύρο. Τα δεδομένα, μετά από ψηφιακή επεξεργασία, αποδίδονται ως δισδιάστατη

ψευδοχρωματική απεικόνιση. Το κόκκινο χρώμα αντιστοιχεί σε υψηλή αντανάκλαστικότητα. Στον φυσιολογικό αμφιβληστροειδή διακρίνουμε δύο στοιβάδες υψηλής αντανάκλαστικότητας, την έσω η οποία αντιστοιχεί στην στοιβάδα των οπτικών ινών, έσω αφοριστική μεμβράνη και την έξω η οποία αντιστοιχεί στο μελάγχρουν επιθήλιο και τα χοριοτριχοειδή.²¹¹

Η οπτική τομογραφία θεωρείται απαραίτητη για τη μελέτη και διάγνωση της ξηράς και υγράς μορφής της νόσου. Τα drusen απεικονίζονται ως εντοπισμένες παχύνσεις του συμπλέγματος μελάγχρου επιθηλίου – μεμβράνης του Bruch – χοριοτριχοειδών με διατήρηση της αρχιτεκτονικής των στιβάδων του αμφιβληστροειδούς και του εντυπώματος του κεντρικού βοθρίου και απουσία ενδο- ή υποαμφιβληστροειδικού υγρού.

Κατά τη γεωγραφική ατροφία τόσο οι στιβάδες του αμφιβληστροειδούς, όσο και το σύμπλεγμα μελάγχρου επιθηλίου – μεμβράνης του Bruch – χοριοτριχοειδών εμφανίζονται λεπτυσμένα, επιτρέποντας έτσι μεγαλύτερη διείσδυση του φωτεινού σήματος στις βαθύτερες στιβάδες του χοριοειδούς που, γι' αυτόν τον λόγο, παρουσιάζει σύστοιχα σήμα αυξημένης ανάκλασης. Τα όρια της γεωγραφικής ατροφίας είναι σαφώς οριοθετημένα.²¹²⁻²¹⁴

Η αμιγής ορώδης αποκόλληση του μελάγχρου επιθηλίου απεικονίζεται ως ομαλή, κωδωνοειδής υπέγερση του μελάγχρου επιθηλίου που εμφανίζεται εντελώς κενή οπτικά. Τα χαρακτηριστικά των βαθύτερων στιβάδων του χοριοειδούς σκιαγραφούνται καλά, σε αντίθεση με την αιμορραγική αποκόλληση του ΜΕ, όπου η απεικόνισή τους είναι δυσχερής λόγω της διάσπασης του φωτεινού σήματος από τη συλλογή υπαμφιβληστροειδικού αίματος.

Οι μεμβράνες κλασικού τύπου απεικονίζονται ως ανώμαλες, ατρακτοειδής ή οζώδεις παχύνσεις του μελάγχρου επιθηλίου – μεμβράνης του Bruch – χοριοτριχοειδών με σχετικά σαφή άκρα που υποδηλώνουν τα όρια της νεοαγγειακής μεμβράνης.

Οι μεμβράνες κρύφιου τύπου διαχωρίζονται σε δυο υποκατηγορίες, τις ινοαγγειακές αποκολλήσεις του ΜΕ και τις όψιμες διαρροές αδιευκρίνιστης αιτιολογίας.

Οι ινοαγγειακές αποκολλήσεις του ΜΕ απεικονίζονται ως υπεγέρσεις του συμπλέγματος μελάγχρου επιθηλίου – μεμβράνης του Bruch – χοριοτριχοειδών με ήπια αντανάκλαση προς τις χοριοειδικές στιβάδες. Ορισμένες φορές η κρύφια νεοαγγείωση απεικονίζεται στα όρια του υπεγεργμένου ΜΕ.²¹⁵

Οι όψιμες διαρροές αδιευκρίνιστης αιτιολογίας απεικονίζονται ως διάχυτες, ανώμαλες παχύνσεις του συμπλέγματος μελάγχρου επιθηλίου – μεμβράνης του Bruch – χοριοτριχοειδών.²¹⁶

Το υποαμφιβληστροειδικό υγρό απεικονίζεται ως ένας οπτικά κενός χώρος μεταξύ των αμφιβληστροειδικών στιβάδων και του συμπλέγματος μελάγχρου επιθηλίου – μεμβράνης του Bruch – χοριοτριχοειδών.

Το ενδοαμφιβληστροειδικό υγρό μπορεί να είναι είτε διάχυτο, οπότε απεικονίζεται ως αύξηση του πάχους των στιβάδων του αμφιβληστροειδούς, είτε κυστοειδές με τη μορφή στρογγυλών οπτικά κενών (κύστεων) μέσα στις αμφιβληστροειδικές στιβάδες.

Αιμορραγίες μπορεί να βρίσκονται είτε υπό το ΜΕ είτε υπό τον αμφιβληστροειδή. Στην πρώτη περίπτωση, το μεν ΜΕ απεικονίζεται υπερυψωμένο αλλά φυσιολογικού πάχους με παρουσία υποκείμενης εστίας υψηλής ανακλαστικότητας που υποδηλώνει την αιμορραγία. Λόγω της σκίασης προς τους αμέσως υποκείμενους ιστούς, το σήμα του χοριοειδούς εμφανίζεται μειωμένο. Στη δεύτερη περίπτωση, η αιμορραγία απεικονίζεται ως εστία υψηλής ανακλαστικότητας μεταξύ των επηρμένων αμφιβληστροειδικών στιβάδων και του μελάγχρου επιθηλίου, το οποίο, λόγω της σκίασης από το έντονο σήμα της αιμορραγίας, εμφανίζεται λεπτυσμένο.²¹⁷

Ο ινώδης ιστός απεικονίζεται ως υψηλής ανακλαστικότητας πάχυνση του συμπλέγματος μελάγχρου επιθηλίου – μεμβράνης του Bruch – χοριοτριχοειδών.

7. Θεραπεία

Ολοκληρωτική θεραπεία της ξηράς μορφής δεν υπάρχει. Σκοπός είναι η πρόληψη και η αποτροπή της εξέλιξης των πρώιμων σταδίων της σε σοβαρότερες καταστάσεις όπως είναι η γεωγραφική ατροφία και η χοριοειδική νεοαγγείωση. Ο έλεγχος των παραγόντων κινδύνου, όπως κάπνισμα και δείκτη μάζα σώματος μπορούν να μειώσουν στο μισό την πιθανότητα επιδείνωσης της νόσου.²¹⁸ Αντικρουόμενα είναι τα αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών όσον αφορά άλλες παραμέτρους, όπως είναι: η χρήση αλκοόλ, η υπέρταση, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η υπερλιπιδαιμία, η έκθεση στο φως και ιδιαίτερα στην υπεριώδη ακτινοβολία.²¹⁹

Αντιοξειδωτικοί παράγοντες και ψευδάργυρος μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε περιπτώσεις υπέρξεως στον ένα ή και στους δύο οφθαλμούς έστω και ενός μεγάλου

μαλακού drusen >125 μm ή και μερικών ενδιάμεσου μεγέθους drusen (63-125μm) ή ακόμη και γεωγραφικής ατροφίας που δεν προσβάλλει όμως το κέντρο της ωχράς. Σύμφωνα με τη μελέτη της AREDS (Age-Related Eye Disease Study), τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα χορηγούνται ημερησίως και αποτελούνται από: 500 mg βιταμίνη C, 400 IU βιταμίνη E, 15 mg β-καροτίνη, 80 mg οξειδίου του ψευδαργύρου και 2 mg οξειδίου του χαλκού.²²⁰ Ασθενείς μετά από χρήση των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων παρουσίασαν προβλήματα από το ουρογεννητικό σύστημα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Η χρήση σκευασμάτων με β-καροτίνη σε συνδυασμό με κάπνισμα, σύμφωνα με μελέτες εμφάνισαν μικρή, αλλά στατιστικά σημαντική αύξηση του καρκίνου των πνευμόνων.^{221,222} Ευεργετική δράση έχει και η χρησιμοποίηση στην καθημερινή μας διατροφή της λουτεΐνης, ζεαξανθίνης και ωμέγα-3 λιπαρών οξέων.

Η χρήση της φωτοπηξίας με argon green laser, ακόμη και όταν δεν εφαρμόζεται άμεσα πάνω σε αυτά, είναι δυνατόν να προκαλέσει την αποδρομή των drusen. Σε μελέτη που έγινε σε 20 ασθενείς που παρουσίαζαν μεγάλα μαλακά drusen στην περιοχή της ωχράς και του κεντρικού βοθρίου, εφήρμοσαν άμεση φωτοπηξία argon green laser, χαμηλής έντασης, σε εκείνα μόνο τα drusen που εντοπίζονταν κροταφικά της περιοχής. Ως αποτέλεσμα η φωτοπηξία είχε την απορρόφηση σε μικρό χρονικό διάστημα των κροταφικών drusen, ενώ, μετά την πάροδο κάποιου χρόνου, υπήρξε και ανάλογη αποδρομή και των μη φωτοπηχθέντων drusen τόσο του κεντρικού βοθρίου όσο και ρινικά αυτού. Η οπτική οξύτητα βελτιώθηκε τουλάχιστον κατά μία γραμμή ή και περισσότερο στο 30% των ασθενών, λόγω απορρόφησης των drusen του κεντρικού βοθρίου, παρέμεινε αμετάβλητη στο 65% και μειώθηκε στο 5% των ασθενών. Μετά από 18μηνη παρακολούθηση, οι ασθενείς δεν παρουσίασαν καμία επιπλοκή από την φωτοπηξία, ούτε εκδηλώθηκε χοριοειδική νεοαγγείωση.²²³

Ο μηχανισμός δράσης της φωτοπηξίας παραμένει άγνωστος. Μια μελέτη που έγινε σε οφθαλμούς πιθήκων, έδειξε ότι το argon laser προκαλεί μετανάστευση φαγοκυττάρων, τα οποία πιθανώς προέρχονται από τα περικύτταρα των χοριοτριχοειδών και τα οποία φαγοκυττάρωνουν τα drusen.²²⁴

Όσο αναφορά την υγρή μορφή της HEΩ χρησιμοποιήθηκαν κατά καιρούς και χρησιμοποιούνται: η φωτοπηξία με laser, ενδοουλοειδική έγχυση κορτικοστεροειδών, φωτοδυναμική θεραπεία με βερτεπορφίνη, ενδοουλοειδική έγχυση αντιαγγειογενετικών παραγόντων, συνδυασμένες θεραπείες και χειρουργική αποκατάσταση.

Η φωτοπηξία με laser ήταν η πρώτη ουσιώδη προσπάθεια καταπολέμησης της υγρής ΗΕΩ. Η laser φωτοπηξία παραμένει μια πολύ σημαντική θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με καλά αφοριζόμενες εξωβοθρικές νεοαγγειακές μεμβράνες. Μια έρευνα που διεξήχθη το 1991 έδειξε ότι μετά από 18 μήνες θεραπείας με laser φωτοπηξία το 24% των ασθενών της ομάδας που επεβλήθη σε θεραπεία με laser είχε απώλεια όρασης περισσότερο των έξι γραμμών σε σύγκριση με την ομάδα που δεν υπεβλήθη σε θεραπεία, που το 41% παρουσίασε απώλεια όρασης.²²⁵ Ωστόσο σε βάθος χρόνου αποδείχθηκε ότι σχεδόν το μισό των ασθενών παρουσίασαν υποτροπή με ανάπτυξη υποβοθρικής νεοαγγειακής μεμβράνης και μεταγενέστερη απώλεια όρασης. Το ποσοστό ασθενών με εξωβοθρική νεοαγγειακή μεμβράνη που είναι προσβάσιμη για laser φωτοπηξία είναι μικρό.²²⁶ Με την έλευση της φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT) και αργότερα με την χρήση φαρμακευτικών ουσιών, η χρήση laser φωτοπηξίας δεν ενδείκνυται για πάρα- και υποβοθρικές ΧΝΑ.²²⁷

Η ιδέα της φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT) βασίστηκε στην υψηλή συγκέντρωση υποδοχέων λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) στους ιστούς των νεοαγγειακών μεμβρανών. Η βερτεπορφίνη εγχέεται ενδοφλεβίως στον οργανισμό, συνδέεται με τις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας και έτσι συσσωρεύεται στις ΧΝΑ μεμβράνες. Η βερτεπορφίνη ενεργοποιείται με την βοήθεια μη θερμικού laser (689 nm) και προκαλεί ενδοθηλιακή καταστροφή με δημιουργία θρόμβων δια μέσου ελευθέρων ριζών οξυγόνου χωρίς να προκαλούν την καταστροφή του υπερκείμενου αμφιβληστροειδούς.²²⁸⁻²³⁰ Η PDT μείωσε τον ποσοστό απώλειας οπτικής οξύτητας σε ασθενείς με κατ' εξοχήν υποβοθρική κλασική νεοαγγειακή μεμβράνη. Στους ασθενείς αυτούς ο μέσος όρος απώλειας της οπτικής οξύτητας μετά από δύο χρόνια θεραπείας ήταν 2.3 γραμμές σε αντίθεση με την ομάδα ασθενών που δεν υπεβλήθησαν σε καμία θεραπεία και αντιστοιχούσε σε 4.5 γραμμές.²³¹ Ο μέσος όρος του ποσού των ασθενών χρειάστηκαν πέντε με έξι συνεδρίες κατά την διάρκεια των δύο πρώτων ετών θεραπείας. Η PDT περιλαμβάνει ένα ποσοστό απώλειας οπτικής οξύτητας τεσσάρων ή περισσότερων γραμμών που ανέρχεται στο 5%.²³²

Τα αποτελέσματα της PDT στις κρύφιεσ και ελάχιστα κλασικές νεοαγγειακές μεμβράνες είναι αμφισβητήσιμα.

Η PDT είχε μέτρια αποτελέσματα στην καθυστέρηση της απώλειας όρασης με ορισμένες υποομάδες ασθενών με ΧΝΑ.²³³ Ο μη εγκεκριμένος συνδυασμός PDT με ενδοουλοειδική έγχυση τριαμκινιολόνης εμφάνισε καλύτερα αποτελέσματα²³⁴ και

μείωσε τον αριθμό συνεδριών,²³⁵ αλλά αύξησε των αριθμό επιπλοκών που σχετίζονται με τη χρήση στεροϊδών, όπως γλαύκωμα και καταρράκτης.

Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι ένας σημαντικός παράγοντας της παθογένειας της ΗΕΩ είναι η φλεγμονή, γι' αυτό το λόγο προτάθηκε η χρήση των στεροϊδών. Εκτός από την ρύθμιση της φλεγμονής τα στεροϊδή εμποδίζουν και την αύξηση του αγγειογενετικού παράγοντα, ο οποίος δημιουργείται και απελευθερώνεται από όλα τα κύτταρα της φλεγμονής.²³⁶ Επίσης μειώνουν την αγγειακή διαρροή κλείνοντας τα διάκενα μεταξύ των ενδοθυλιακών κυττάρων και την δημιουργία ινικής μειώνοντας την ουλοποίηση του αμφιβληστροειδούς.

Η τριαμκινολόνη φαίνεται να σταθεροποιεί την πορεία της ΗΕΩ με βάση την οπτική οξύτητα, την φλουροαγγειογραφική και φωτογραφική εικόνα του βυθού.²³⁷⁻²³⁹ Οι παραπάνω μελέτες χρησιμοποίησαν τα 4mg σαν θεραπευτική δόση. Σε μια μελέτη κάνοντας επαναλαμβανόμενες εγχύσεις τριαμκινολόνης 25mg απέδειξαν ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές από μελέτες που χρησιμοποίησαν τα 4 mg.²⁴⁰⁽¹³²⁾ Στον αντίποδα μελέτες αποδεικνύουν ότι η χρήση της τριαμκινολόνης ενώ στους πρώτους τρεις μήνες μειώνει το μέγεθος των νεοαγγειακών μεμβρανών μετά τον πρώτο χρόνο θεραπείας οι διαφορές από την ομάδα ελέγχου δεν ήταν σημαντικές. Το 35% και τον δυο ομάδων είχαν απώλεια πάνω από τριάντα γράμματα στο ETDRS, ενώ το 41% των ασθενών που χορηγήθηκε τριαμκινολόνη εμφάνισαν αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης.²⁴¹

Η δεξαμεθαδόνη έχει την ίδια περίπου αγγειογενετική ιδιότητα με την τριαμκινολόνη, έχει μικρότερη δράση, διαλύεται πιο γρήγορα στο υαλοειδές και σχετίζεται λιγότερο με την αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης.

7.1 Χειρουργική αποκατάσταση

Η δημιουργία νεοαγγειακής μεμβράνης είναι χαρακτηριστικό στοιχείο της εξιδρωματικής ΗΕΩ, γι' αυτό τον λόγο προτάθηκε η υποαμφιβληστροειδική αφαίρεση της με pars plana υαλοειδεκτομή. Τα πλεονεκτήματα της επέμβασης αυτής δεν ήταν περισσότερα από της φωτοδυναμικής θεραπείας, γι' αυτό και εγκαταλείφθηκε.

Λόγω των φτωχών αποτελεσμάτων και της καταστροφής του ΜΕ, προτάθηκε μια συνδυασμένη επέμβαση αφαίρεσης νεοαγγειακής μεμβράνης με περιστροφή της ωχράς κηλίδας σε περιοχές με ανέπαφο μελάγχρουν επιθήλιο. Η επέμβαση

ονομάζεται μετάθεση της ωχράς και πραγματοποιείται με δύο τεχνικές, την περιορισμένη και πλήρη. Τα αποτελέσματα της επέμβασης είναι αμφιλεγόμενα²⁴²⁻²⁴⁵ και δεν συστήνεται σαν πρώτης επιλογής αντιμετώπιση της ΗΕΩ. Σε πειραματικό στάδιο βρίσκεται μια άλλη χειρουργική επέμβαση όπως η αυτόλογη μεταμόσχευση ΜΕ και χοριοειδούς.^{244,245}

7.2 Συνδυαστικές θεραπείες

Η χρήση των αγγειογενετικών παραγόντων έχει ως επακόλουθο την εντατική παρακολούθηση και τις επαναλαμβανόμενες ενδοαλοειδικές εγχύσεις κάθε 4 με 6 εβδομάδες. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση του ενδιαφέροντος για συνδυασμένες θεραπείες με σκοπό την μείωση του αριθμού των θεραπειών και την αύξηση των καλών αποτελεσμάτων¹⁸².

Υπάρχουν πάρα πολλές μελέτες με όχι πολύ ξεκάθαρα αποτελέσματα. Ωστόσο υπάρχουν κάποια πλεονεκτήματα από την χρήση φωτοδυναμικής με βερτεπορφίνη σε συνδυασμό με στεροΐδη (τριαμσινολόνη) ή και αντι-αγγειογενετικούς παράγοντες.

Η φωτοδυναμική θεραπεία προκαλεί αύξηση του VEGF και άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών, ενώ η τριαμσινολόνη, δρα ανασταλτικά στην παραγωγή του VEGF και στη φλεγμονή.

Διάφορες συνδυαστικές μελέτες φωτοδυναμικής θεραπείας και ενδοαλοειδικής έγχυσης αντι-αγγειογενετικών παραγόντων είχαν παρόμοια αποτελεσματικότητα με εκείνη της μονοθεραπείας με αντι-αγγειογενετικούς παράγοντες και σε κάποιες περιπτώσεις μείωση του αριθμού ενέσεων¹⁸².

7.3 Αντι-αγγειογενετικοί παράγοντες

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) μεταβάλλει την αγγειακή διαπερατότητα και απάγει την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων βήματα απαραίτητα για την έναρξη και προώθηση της νεοαγγείωσης.²⁴⁶⁻²⁴⁹ Η σημασία της βιολογικής δράσης του VEGF στη λειτουργία του ενδοθηλίου αναδεικνύεται από το γεγονός ότι αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην εξέλιξη πολλών ασθενειών που σχετίζονται με μη φυσιολογική αγγειογένεση, αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και χρόνια φλεγμονή όπως ρετινοπάθειες (εξιδρωματική ΗΕΩ, διαβητική και

αμφιβληστροειδοπάθεια προωρότητας) και ο καρκίνος.²⁵⁰⁻²⁵² Ο VEGF περιλαμβάνει διάφορες ομάδες πρωτεϊνών: VEGF-A, B, C, D και τον παράγοντα αύξησης του πλακούντα (PlGF). Η πρωτεΐνη VEGF-A είναι υπεύθυνη της αγγειογένεσης και της αύξησης της διαπερατότητας των αγγείων. Η βιολογική δράση του VEGF είναι απόλυτα συνδεδεμένη με την ενεργοποίηση του VEGF υποδοχέα, του οποίου η έκφραση είναι σχεδόν αποκλειστική στα ενδοθηλιακά και προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Κατά συνέπεια, σε σχέση με άλλους αυξητικούς παράγοντες, η δραστηριότητα του VEGF περιορίζεται στα κύτταρα αυτά. Μέσω της σύνδεσης, στον υποδοχέα του, ο VEGF ενεργοποιεί διακριτά σηματοδοτικά μονοπάτια, προάγοντας την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα βήματα αυτά είναι απαραίτητα για την έναρξη και προώθηση της αγγειογένεσης. Παράλληλα, ο VEGF φέρει πλήθος προαγγειακών δραστηριοτήτων. Επάγει την έκφραση μεταλλοπρωτεασών, οι οποίες επιτρέπουν την αποσύνδεση από το εξωκυττάριο στρώμα και τη μετανάστευση των κυττάρων, αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα μέσω απελευθέρωσης του μονοξειδίου του αζώτου και προάγει την επιβίωση των προγονικών ενδοθηλιακών κυττάρων.^{253,254}

Τα ισομερή του VEGF-A που έχουν αναγνωρισθεί ως σήμερα είναι: το VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₄₈, VEGF₁₆₅, VEGF_{165b}, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ και το VEGF₂₀₆. Το ισομερές VEGF₁₆₅ είναι το πιο συχνό. Επίσης με μεγάλη συχνότητα εμφανίζονται τα ισομερή VEGF₁₂₁, VEGF₁₈₃ και VEGF₁₈₉.^{255,256}

Οι VEGF υποδοχείς αποτελούν μέλη της υπερικογένειας των υποδοχέων με δραστηριότητα κινάσης τυροσίνης. Η οικογένεια τους περιλαμβάνει τους VEGF-1, VEGF-2 και VEGF-3. Ο VEGF-2 προωθεί τη μορφογένεση των αγγείων και την αγγειογένεση.

Στον οφθαλμό η χοριοειδική ατροφία και μια πληθώρα παραγόντων που οδηγούν σε οξειδωτικό στρες και υποξία, έχουν σαν αποτέλεσμα την τοπική υποαμφιβληστροειδική φλεγμονή, η οποία με την σειρά της προάγει την έκκριση του VEGF.

Η παρούσα προσέγγιση αυτή βασίζεται στην ελάττωση της δράσης του VEGF μπλοκάροντας τα ισομερή του είτε χρησιμοποιώντας ολόκληρο το ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα (bevacizumab), είτε ένα ενεργό τμήμα (fragment) του ανθρώπινου μονοκλωνικού αντισώματος (ranibizumab) ή τέλος ένα ολιγονουκλεοτίδιο (pegaptanib sodium).

8. Μελέτες συσχέτισης

Η σχέση μεταξύ των γονιδίων και των διαφόρων φαινοτύπων της ΗΕΩ εξετάζεται με τις μελέτες συσχέτισης. Οι μελέτες αυτές στηρίζονται στο γεγονός ότι οι φαινοτυπικές διαφορές μεταξύ των ανθρώπων, όπως η ευαισθησία στην εκδήλωση της υπό εξέταση νόσο και η απόκριση του οργανισμού σε διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες οφείλονται σε τυχαίες αλλαγές της αλληλουχίας του γενώματος. Οι πιο συχνοί πολυμορφισμοί είναι εκείνοι που προκαλούν την αλλαγή ενός απλού νουκλεοτιδίου (SNPs: single nucleotide polymorphisms). Οι SNPs πολυμορφισμοί συναντώνται κατά μήκος ολόκληρου του και είναι πιθανόν να συμβαίνουν και κοντά στις κωδικοποιούσες περιοχές των γονιδίων. Στην περίπτωση της ΗΕΩ αναφέρονται συσχετίσεις μεταξύ παραλλαγών στην οδό του συμπληρώματος και την ευπάθεια σε ΗΕΩ, ενώ φαίνεται ότι παραλλαγές γονιδίων CFH επίσης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γενετική προδιάθεση για την ΗΕΩ^{137,141}.

Οι μελέτες συσχέτισης εξετάζουν τη συχνότητα με την οποία τα αλληλόμορφα που προκύπτουν από τους SNPs πολυμορφισμούς συναντώνται στους φορείς του υπό εξέταση νοσήματος σε σύγκριση με τη φυσιολογική ομάδα ελέγχου. Σε περίπτωση που η τιμή της συσχέτισης θεωρείται στατιστικά σημαντική, τότε ο μελετώμενος πολυμορφισμός συνδέεται άμεσα με μια γονιδιακή περιοχή υπεύθυνη για την εκδήλωση της εξεταζόμενης νόσου ή βρίσκεται σε ανισορροπία σύνδεσης με έναν άλλο λειτουργικό πολυμορφισμό. Η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων μεταξύ διάφορων μελετών που πραγματοποιούνται σε ανεξάρτητους πληθυσμούς φανερώνει ότι ο μελετούμενος πολυμορφισμός αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την εκδήλωση της υπό εξέταση νόσου.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

9. ΣΚΟΠΟΣ

Η διατριβή αυτή είχε ως στόχο την κατάδειξη της συσχέτισης των γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων CFH, ARMS2 και HTRA1 σε έλληνες ασθενείς με ΗΕΩ στον θεσσαλικό πληθυσμό. Είναι η πρώτη φορά που ασθενείς από την περιοχή της Θεσσαλίας με ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς υποβάλλονται σε τόσο λεπτομερή κλινικό και γενετικό έλεγχο με σκοπό την διερεύνηση και καταγραφή τυχόν πολυμορφισμών σε γονίδια που σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου.

Αυτό το τμήμα της μελέτης περιλαμβάνει το υλικό, τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, τα αποτελέσματα, την συζήτηση και τα συμπεράσματα της έρευνας.

10. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η μελέτη αυτή διεξήχθη στη Οφθαλμολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας από τον Ιανουάριο του 2006 έως τον Ιανουάριο του 2010.

Συμπεριλήφθησαν 236 ασθενείς (107 άνδρες 129 γυναίκες) και 239 φυσιολογικοί μάρτυρες (109 άνδρες 130 γυναίκες).

10.1 Κριτήρια συμμετοχής

Οι ασθενείς που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη αυτή έπασχαν και από τις δυο μορφές της νόσου, υγρά και ξηρά. Βρίσκονταν σε τακτική παρακολούθηση, η οποία περιελάμβανε την εκτίμηση της πορείας της νόσου με λήψη της οπτικής οξύτητας, βυθοσκόπηση, φλουοροαγγειογραφία και OCT. Προηγηθείσα θεραπεία δεν αποτελούσε κριτήριο αποκλεισμού.

10.2 Κριτήρια αποκλεισμού

Από την μελέτη αποκλείστηκαν ασθενείς που έπασχαν από άλλες παθήσεις του αμφιβληστροειδούς και της ωχράς, όπως διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια,

αγγειακές διαταραχές αμφιβληστροειδούς, κληρονομικές και άλλες νεοαγγειακές παθήσεις της ωχράς.

11. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

11.1 Ιστορικό

Η λεπτομερής λήψη του ιστορικού ήταν σημαντική για την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη ή για τον αποκλεισμό τους από αυτή. Ιδιαίτερη βαρύτητα κατά τη λήψη του ιστορικού δόθηκε στα εξής:

- στη μορφή της νόσου
- στον αν ο ασθενής πάσχει από αρτηριακή υπέρταση
- στον αν ο ασθενής πάσχει από υπερλιπιδαιμία
- στον αν ο ασθενής πάσχει από σακχαρώδη διαβήτη
- στην κληρονομικότητα της νόσου
- στο αν οι ασθενείς είχαν ιστορικό καπνίσματος
- στον δείκτη μάζας σώματος

11.2 Κλινική εξέταση

Η οφθαλμολογική εξέταση στην οποία υποβάλλονταν οι ασθενείς περιλάμβανε:

- τον προσδιορισμό της οπτικής οξύτητας με την καλύτερη δυνατή διόρθωση για μακριά στο οπτότυπο του Snellen
- τον προσδιορισμό της οπτικής οξύτητας με την καλύτερη δυνατή διόρθωση για κοντά στο οπτότυπο του Jaeger
- εξέταση του προσθίου ημιμορίου και των δύο οφθαλμών στην σχισμοειδή λυχνία
- μέτρηση της ενδοφθάλμιας πίεσης
- βιομικροσκοπική εξέταση του βυθού, σε μυδρίαση, στη σχισμοειδή λυχνία με την ύαλο τύπου Super-field
- φλουοροαγγειογραφία
- Οπτική Τομογραφία Συνοχής

11.3 Διαχωρισμός ομάδων

Το σύνολο των 475 ατόμων που συμμετείχαν χωρίστηκαν σε δυο ομάδες. 236 άτομα (107 άνδρες και 129 γυναίκες) με μέση ηλικία τα 75,4 έτη (ελαχ.49-μεγ.94) αποτέλεσαν την ομάδα των ασθενών.

Η ομάδα μαρτύρων συμπληρώθηκε από 239 άτομα (109 άνδρες 130 γυναίκες) με μέση ηλικία τα 79 έτη (ελαχ.48-μεγ.94).

	Αριθμός Ασθενών	Φύλο Α/Θ	Μέση ηλικία
Ασθενείς	236	107/129	75,4
Μάρτυρες	239	109/130	79

11.4 Στατιστική ανάλυση

Η ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE) εξετάστηκε με τη χρήση του χ^2 τεστ. Για την ανάλυση ισχύος χρησιμοποιήθηκε το CaTS (<http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/cats>) και το πρόγραμμα Power Calculator for Genetic Studies (Center for Statistical Genetics, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA). Τα ελάσσονα αλληλία εξετάστηκαν με τη χρήση της λογιστικής παλινδρόμησης (logistic regression) χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SAS (SAS Institute Inc, Cary, NC) και με την υπόθεση ενός επιπρόσθετου γενετικού μοντέλου. Τρεις αναλύσεις συσχέτισης της HEΩ πραγματοποιήθηκαν: μια και για τις δυο μορφές της νόσου (ξηρά και υγρή vs μάρτυρες), μια για την υγρή (υγρή vs μάρτυρες) και μία για την ξηρή (ξηρή vs μάρτυρες) Στις παραπάνω αναλύσεις πραγματοποιήθηκε προσαρμογή για τους διάφορους παράγοντες κινδύνου που καταγράφηκαν (ηλικία, φύλλο, κάπνισμα).

Ο έλεγχος των πολλαπλών συγκρίσεων πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του συστήματος της διόρθωσης του Bonferroni (Bonferroni's correction). Τιμές p ίσες ή μικρότερες από $0.05/10=0.005$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.

12.ΤΕΧΝΙΚΕΣ

12.1 Απομόνωση DNA

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι απομόνωσης γενωμικού DNA.

Η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, όπως το είδος και η ποσότητα των διαθέσιμων κυττάρων, το είδος και η ποιότητα του DNA που θέλουμε να απομονώσουμε. Στο συγκεκριμένο πειραματικό στάδιο εφαρμόστηκε η μέθοδος της εξαλάτωσης. Η απομόνωση γενωμικού DNA γίνεται από εμπύρηνια κύτταρα περιφερικού αίματος (πυρήνες λευκοκυττάρων). Από κάθε ασθενή και φυσιολογικό μάρτυρα γίνεται λήψη περιφερικού αίματος, περίπου 10cc από τον καθένα που θα χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση του DNA. Η τελευταία γίνεται με βάση τυποποιημένο πρωτόκολλο και με τη χρήση οργανικών διαλυτών. Χρησιμοποιήθηκε το ειδικό QIAamp DNA Mini Kit.

Προσδιορισμός ποιότητας και συγκέντρωσης του DNA

Με μικρή ποσότητα DNA πραγματοποιείται ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης 1,2% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου (EtBr) και το DNA γίνεται ορατό με υπεριώδη ακτινοβολία σε συσκευή UV. Έτσι πραγματοποιείται ο έλεγχος της ποιότητας του DNA.

12.2 Μέτρηση συγκέντρωσης

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

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

Η καθαρότητα του DNA εκτιμάται με βάση το λόγο OD_{260}/OD_{280} . Τιμές του λόγου μεταξύ 1,7 και 1,9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA, τιμές μικρότερες

του 1,7 υποδεικνύουν ότι το διάλυμα περιέχει πρωτείνες, ενώ τιμές μεγαλύτερες του 1,9 υποδηλώνουν πρόσμιξη με RNA.

Έχει αποδειχθεί ότι σε μήκος κύματος 260nm τιμή OD ίση με 1 αντιστοιχεί σε συγκέντρωση 50μg/ml δίκλωνου DNA. Βάσει αυτού του δεδομένου μπορούμε να υπολογίσουμε την συγκέντρωση του DNA με τον εξής τύπο:

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

12.3 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction)

Η τεχνική της PCR επιτρέπει τον ενζυμικό πολλαπλασιασμό *in vitro* επιλεγμένων αλληλουχιών DNA (DNA-στόχου) από ελάχιστη αρχική ποσότητα δείγματος. Η τεχνική της PCR εκμεταλλεύεται δύο χαρακτηριστικά της αντιγραφής του DNA: Το πρώτο είναι ότι η DNA πολυμεράση χρησιμοποιεί μονόκλωνο DNA ως εκμαγείο για την σύνθεση ενός νέου συμπληρωματικού κλώνου. Για το λόγο αυτό η αποδιάταξη του DNA είναι απαραίτητη για τη δράση της Taq DNA πολυμεράσης. Το δεύτερο είναι ότι για να μπορέσει η DNA πολυμεράση να αρχίσει τη σύνθεση χρειάζεται ένα μικρό τμήμα δίκλωνου DNA. Αυτό σημαίνει ότι αν μετά το διαχωρισμό των δυο αλυσίδων ενός μορίου DNA χρησιμοποιηθεί ένας εκκινητής (primer) που υβριδίζεται σε ένα σημείο της μιας αλυσίδας, τότε θα αρχίσει η σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας από το σημείο που υβριδίστηκε ο εκκινητής. Επομένως, είναι δυνατόν να επιτευχθεί η ενίσχυση οποιουδήποτε τμήματος δίκλωνου DNA επιλέγοντας δύο εκκινητές που υβριδίζονται εκατέρωθεν της αλληλουχίας-στόχου. Ο κάθε εκκινητής είναι συμπληρωματικός προς κάθε μια από τις δυο αλυσίδες DNA και οι δυο μαζί καθορίζουν τα άκρα του επιθυμητού προϊόντος.

Η τεχνική της PCR αποτελείται από επαναλαμβανόμενους κύκλους. Κάθε κύκλος της PCR περιλαμβάνει τρία στάδια και η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται εξολοκλήρου *in vitro* σ' ένα σωληνάριο τύπου erpendorf με τη χρήση θερμικού κυκλοποιητή.

1^ο στάδιο: Θερμική αποδιάταξη του DNA-εκμαγείου, όπου το δίκλωνο DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο (denaturation)

2^ο στάδιο: Σύνδεση εκκινητών, όπου οι δύο εκκινητές υβριδίζονται με τις δυο συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA-στόχου (primer annealing)

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

12.4 Πέψη με ένζυμα περιορισμού

Τα ένζυμα περιορισμού είναι ενδονουκλεάσες που κόβουν, κατά τρόπο καθορισμένο και επαναλαμβανόμενο, το δίκλωνο DNA, οποιαδήποτε κι αν είναι η προέλευση του. Ο δεσμός που υδρολύουν οι ενδονουκλεάσες εντοπίζεται στο εσωτερικό του μορίου του DNA. Η δράση των ενζύμων αυτών επάγει τη μείωση με επαναλαμβανόμενο τρόπο ενός ολόκληρου γονιδιώματος σε μια σειρά από χαρακτηριστικά τμήματα ενός συγκεκριμένου DNA. Τα γονίδια ή τα τμήματα των γονιδίων καθίστανται έτσι φυσικές ενότητες που μπορούν να απομονωθούν και όχι πληροφορίες διασκορπισμένες μέσα σε ένα τεράστιο μοριακό σύνολο.

Από τη στιγμή της ανακάλυψης των ενζύμων περιορισμού υιοθετήθηκε μια διεθνής ονοματολογία, η οποία συνήθως φανερώνει την προέλευση τους. Πιο συγκεκριμένα, το πρώτο γράμμα είναι ένα κεφαλαίο που υποδηλώνει το πρώτο γράμμα του είδους του βακτηρίου από το οποίο προέρχεται το περιοριστικό ένζυμο. Τα δύο επόμενα γράμματα είναι μικρά και δηλώνουν το γένος του βακτηρίου. Τα τρία αυτά γράμματα ακολουθούνται από έναν λατινικό αριθμό που αντιπροσωπεύει τη σειρά ανακάλυψης του ενζύμου στο βακτήριο αυτό. Τέλος, εάν είναι απαραίτητο, προστίθεται ένα κεφαλαίο γράμμα που δηλώνει το στέλεχος του βακτηρίου.

Η κοινή ιδιότητα που χαρακτηρίζει όλα τα ένζυμα περιορισμού είναι ότι αναγνωρίζουν μια εξειδικευμένη αλληλουχία νουκλεοτιδίων στο DNA. Η δράση του ενζύμου μετά την αναγνώριση αυτή εξαρτάται από τον τύπο του. Διακρίνονται τρεις τύποι :

I) Ένζυμα τύπου I: Από τη στιγμή που αναγνωρίζουν την αλληλουχία, μετακινούνται επάνω στο DNA, σταματούν τυχαία 1000 έως 5000 ζεύγη βάσεων πιο μακριά από το σημείο αυτό και απελευθερώνουν μερικές δεκάδες νουκλεοτίδια.

II) Ένζυμα τύπου II: Αναγνωρίζουν την αλληλουχία και τέμνουν το DNA στο επίπεδο της αλληλουχίας αυτής.

III) Ένζυμα τύπου III: Αναγνωρίζουν μια αλληλουχία και τέμνουν το DNA είκοσι περίπου νουκλεοτίδια πιο μακριά.

Μόνο τα ένζυμα τύπου II χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο και η δράση τους εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τη σύσταση του διαλύματος επώασης και τη μοριακή σχέση του ενζύμου με το υπόστρωμα. Το μήκος των αλληλουχιών που αναγνωρίζουν τα περιοριστικά ένζυμα τύπου II κυμαίνεται μεταξύ 4 και 8 βάσεων (πιο συχνά 4 έως 6). Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των ενζύμων τύπου II είναι ότι οι αλληλουχίες που αναγνωρίζουν είναι παλίνδρομες. Αυτό σημαίνει ότι η αλληλουχία είναι όμοια στις δυο αλυσίδες του DNA, όταν διαβάζονται με κατεύθυνση 5' → 3' ή με κατεύθυνση 3' → 5'. Η τομή επομένως γίνεται στο ίδιο σημείο και στις δύο αλυσίδες.

Τα περιοριστικά ένζυμα τύπου II μπορούν να δώσουν δύο ειδών τμήματα:

I) Τμήματα με ελεύθερα ή τυφλά άκρα (blunt or flush ends), δηλαδή άκρα χωρίς μονόκλωνες προεξοχές: στην περίπτωση αυτή το ένζυμο τέμνει ακριβώς στο ίδιο επίπεδο και τις δυο αλυσίδες του DNA. Μετά από μια τέτοιου τύπου τομή, δε μπορεί να γίνει αυτόματη ένωση των δύο τμημάτων που προκύπτουν, παρά μόνο μετά τη δράση του ενζύμου T4 λιγάση, η οποία σχηματίζει έναν φωσφοδιεστερικό δεσμό ανάμεσα στην 5'-φωσφορυλ-ομάδα του ενός κομματιού και την 3'-υδροξυλ-ομάδα ενός άλλου κομματιού.

II) Τμήματα με συνεκτικά ή συμπληρωματικά άκρα, δηλαδή άκρα με μονόκλωνες προεξοχές: σ' αυτή την περίπτωση οι τομές μετατοπίζονται η μια σε σχέση με την άλλη στις δύο αλυσίδες. Μετά από μια τέτοιου τύπου τομή, οι δυο μονόκλωνες συμπληρωματικές ομάδες μπορούν να συζευχθούν. Η θερμοκρασία σύζευξης ενός τετρανουκλεοτιδίου κυμαίνεται στους 12 με 15° C.

12.5 Προσδιορισμός γονοτύπων

Στη μελέτη αυτή προσδιορίστηκαν 16 γονότυποι. Έντεκα από αυτούς τους 16 γονότυπους έχουν ήδη συσχετιστεί κατά το παρελθόν με την ΗΕΩ. Η βιβλιοθήκη των πολυμορφισμών που μελετήθηκαν περιελάμβανε 6 SNPs του γονιδίου CFH gene: rs800292 (I62V), rs16840422, rs1061170 (Y402H), rs2284664, rs35292876, και rs1065489; 4 SNPs από το χρωμόσωμα 10: ARMS2 rs10490924 (A69S) και rs10664316 και HTRA1 rs2672598 και rs11200638; και 6 SNPs από την οδό του συμπληρώματος: C2 rs547154, C2 rs9332739, CFB rs641153, CFB rs4151667, C3 rs2230199, and C3 rs2230203. Το γενωμικό DNA εξήχθη από τα λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος με τη μέθοδο της εξαλάτωσης [28]. Ο προσδιορισμός των γονοτύπων έγινε με έναν συνδυασμό άμεσης αλληλούχισης και της αλληλοειδικής μεθόδου ενίσχυσης κατά Taqman. Προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι

αντιδράσεις αλληλούχισης, έγινε πέψη των προϊόντων της PCR σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή με ExoSAP-IT (USB Corporation, Cleveland, OH), ενώ στη συνέχεια υπεβλήθησαν σε κυκλική αντίδραση αλληλούχισης με τη χρήση του Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA), σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Η μέθοδος TaqMan περιελάμβανε είτε τα TaqMan Pre-Designed SNP Genotyping Assays είτε τα Custom TaqMan SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems) kits. Όλοι οι προσδιορισμοί των γονοτύπων πέρασαν του ουδό σε όλους τους ελέγχους ποιότητας, σε επίπεδο (call rate) τουλάχιστον 90%.

13.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα κύρια κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΗΕΩ και των φυσιολογικών μαρτύρων φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί. Συνολικά συλλέχθηκαν 236 ασθενείς με ΗΕΩ και 239 φυσιολογικοί μάρτυρες. Η μέση (mean) ηλικία των ασθενών με ΗΕΩ ήταν $75,4 \pm 7,9$ έτη και η οποία δεν είχε σημαντική διαφορά από αυτή των φυσιολογικών μαρτύρων ($79 \pm 7,2$). Επίσης δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά το φύλο. Από τους 236 ασθενείς, 93 είχαν ξηρή ΗΕΩ (AREDS 2 and 3) και 143 παραγωγική ΗΕΩ. Όσον αναφορά τους παράγοντες κινδύνου όπως κάπνισμα και υπερλιπιδαιμία δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών και φυσιολογικών μαρτύρων. Ωστόσο, διαφορά διαπιστώθηκε στη συχνότητα της υπέρτασης, η οποία ήταν συχνότερη στην ομάδα ελέγχου και στο σακχαρώδη διαβήτη που στο δείγμα μας εμφανίστηκε αποκλειστικά στους ασθενείς.

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά και η συννοσηρότητα των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Δημογραφικά και νοσολογικά χαρακτηριστικά του δείγματος

	Ασθενείς n=236 (%)	Φυσιολογικοί μάρτυρες n=239 (%)	
Μέση ηλικία, έτη	75,4±7,7	79±7,2	
Άνδρας	107 (45,3)	109 (45,6)	NS
Γυναίκα	129 (54,7)	130 (54,4)	NS
Κάπνισμα/Ιστορικό καπνίσματος	47 (20) / 54 (22,9)	38 (15,9) / 50 (21)	
Υπερλιπιδαιμία	59 (25)	65 (27,2)	NS
ΑΥ	53 (22,4)	139 (58,1)	<0,001
ΣΔ	30 (12,7)	0,0	<0,001
Ξηρά HEΩ %	93 (39,4)		
Παραγωγική HEΩ %	143 (60,6)		

Από τους 16 SNPs που ελέγχτηκαν για την συσχέτιση τους με την HEΩ, 4 παρουσίασαν σημαντική αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης και των δυο μορφών της νόσου ($p < 0,01$): Οι πολυμορφισμοί CFH SNPs rs1061170 και rs35292876 και τα 10q26 SNPs rs10490924 και rs11200638 (Πίνακες 2 & 3).

Πίνακας 2. Μονομεταβλητή ανάλυση συσχετίσεων των πολυμορφισμών με όλους τους υποτύπους ΗΕΩ έναντι της ομάδας ελέγχου με τη χρήση λογαριθμιστικής παλινδρόμησης

SNP	Γονίδιο	Χρωμ.	Εντόπιση	Αλλήλιο	Μη προσαρμοσμένο				Προσαρμοσμένο για ηλικία, φύλο και κάπνισμα			
					Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value	Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value
rs800292	CFH	1	exon 2	A	0.432	0.294	0.635	1.91E-05	0.425	0.286	0.630	2.14E-05
rs16840422	CFH	1	intron 6	T	0.541	0.330	0.888	0.0151	0.542	0.326	0.901	0.0183
rs1061170	CFH	1	exon 9	T	2.490	1.862	3.330	7.48E-10	2.530	1.867	3.429	2.18E-09
rs2284664	CFH	1	intron 15	T	0.286	0.183	0.447	3.91E-08	0.272	0.172	0.431	2.86E-08
rs35292876	CFH	1	exon 17	T	4.389	2.074	9.290	0.0001	4.321	2.000	9.338	0.0002
rs1065489	CFH	1	exon 18	T	0.869	0.600	1.260	0.4593	0.813	0.554	1.194	0.2910
rs10490924	ARMS2	10	exon 1	T	2.035	1.523	2.717	1.50E-06	2.024	1.500	2.730	3.99E-06
rs10664316	ARMS2	10	intron 1	insAT	0.731	0.558	0.957	0.0228	0.696	0.525	0.923	0.0120
rs11200638	HTRA1	10	5'/promoter	A	1.927	1.443	2.573	8.67E-06	1.914	1.419	2.582	2.11E-05
rs2672598	HTRA1	10	5'/promoter	T	0.735	0.560	0.964	0.0260	0.731	0.549	0.974	0.0324

Πίνακας 3. Μονομεταβλητή ανάλυση συσχετίσεων των πολυμορφισμών με τον υπότυπο της παραγωγικής ΗΕΩ έναντι της ομάδας ελέγχου με τη χρήση λογαριθμικής παλινδρόμησης

SNP	Γονίδιο	Χρωμ.	Εντόπιση	Αλλήλιο	Μη προσαρμοσμένο				Προσαρμοσμένο για ηλικία, φύλο και κάπνισμα			
					Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value	Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value
rs800292	CFH	1	exon 2	A	0.350	0.216	0.567	1.94E-05	0.343	0.210	0.561	1.95E-05
rs16840422	CFH	1	intron 6	T	0.422	0.225	0.791	0.0071	0.405	0.211	0.774	0.0062
rs1061170	CFH	1	exon 9	T	2.718	1.946	3.796	4.51E-09	2.738	1.932	3.881	1.52E-08
rs2284664	CFH	1	intron 15	T	0.153	0.079	0.296	2.76E-08	0.144	0.073	0.283	1.87E-08
rs35292876	CFH	1	exon 17	T	4.810	2.188	10.573	9.29E-05	4.825	2.131	10.927	0.0002
rs1065489	CFH	1	exon 18	T	0.845	0.552	1.292	0.4373	0.825	0.533	1.278	0.3892
rs10490924	ARMS2	10	exon 1	T	2.173	1.568	3.011	3.09E-06	2.236	1.590	3.144	3.70E-06
rs10664316	ARMS2	10	intron 1	insAT	0.760	0.557	1.036	0.0823	0.708	0.511	0.980	0.0373
rs11200638	HTRA1	10	5'/promoter	A	2.034	1.474	2.807	1.55E-05	2.101	1.501	2.940	1.51E-05
rs2672598	HTRA1	10	5'/promoter	T	0.720	0.529	0.981	0.0373	0.710	0.512	0.985	0.0404

Οι πολυμορφισμοί CFH SNPs rs800292 και rs2284664 και τα 10q26 SNPs rs10664316 και rs2672598 συσχετίστηκαν με σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης και των δυο μορφών της νόσου. Από όλες τις συσχετίσεις η σημαντικότερη ήταν εκείνη του CFH rs1061170(Y402H), $p < 10^{-9}$, που συσχετίστηκε με την ξηρή μορφή της νόσου. Ειδικά το αλληλίο C αύξανε τον κίνδυνο ξηρής HEΩ 2,17 φορές (πίνακας 4). Αναφορικά με τις σημαντικές συσχετίσεις που βρέθηκαν ανάμεσα στους πολυμορφισμούς rs10664316, rs10490924, rs 11200638 (SNPs των ARMS2/HTRA1) και την ξηρή ή παραγωγική HEΩ, σημειώνεται ότι ιδιαίτερα σημαντικές για τους rs10490924, και rs 11200638 ($p < 10^{-5}$). Αυτές οι συσχετίσεις παραμένουν σημαντικές συνυπολογίζοντας την ηλικία, το φύλο και το κάπνισμα. Ο rs1065489 του CFH γονιδίου, καθώς και οι πολυμορφισμοί της οδού του συμπληρώματος C2, CFB και C3 δεν εμφάνισαν σημαντική συσχέτιση με την νόσο (πίνακες 2-4).

Πίνακας 4. Πολυμεταβλητή ανάλυση συσχετίσεων των πολυμορφισμών με τον υπότυπο της ξηρής ΗΕΩ έναντι της ομάδας ελέγχου με τη χρήση λογαριθμιστικής παλινδρόμησης

SNP	Γονίδιο	Χρωμ.	Εντόπιση	Αλλήλιο	Μη προσαρμοσμένο				Προσαρμοσμένο για ηλικία, φύλο και κάπνισμα			
					Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value	Odds Ratio	95% CI Low	95% CI High	p value
rs800292	CFH	1	exon 2	A	0.581	0.337	1.000	0.0498	0.566	0.324	0.988	0.0451
rs1684042 2	CFH	1	intron 6	T	0.787	0.403	1.534	0.4811	0.804	0.408	1.585	0.5288
rs1061170	CFH	1	exon 9	C	2.168	1.418	3.314	0.0004	2.169	1.397	3.366	0.0006
rs2284664	CFH	1	intron 15	T	0.435	0.236	0.800	0.0075	0.413	0.220	0.775	0.0059
rs3529287 6	CFH	1	exon 17	T	3.407	1.293	8.973	0.0131	2.948	1.093	7.957	0.0328
rs1065489	CFH	1	exon 18	T	1.019	0.596	1.742	0.9446	0.960	0.553	1.667	0.8847
rs9332739	C2	6	exon 7	C	0.678	0.207	2.223	0.5212	0.800	0.228	2.806	0.7273
rs547154	C2	6	intron 10	T	0.295	0.064	1.362	0.1178	0.259	0.053	1.267	0.0953
rs4151667	CFB	6	exon 1	A	0.518	0.171	1.567	0.2440	0.544	0.175	1.687	0.2917
rs641153	CFB	6	exon 2	A	0.295	0.064	1.362	0.1178	0.265	0.054	1.291	0.1002
rs1049092 4	LOC387715/ARMS2	10	exon 1	T	1.875	1.229	2.859	0.0035	1.833	1.188	2.826	0.0061
rs1066431 6	LOC387715/ARMS2	10	intron 1	insAT	0.706	0.473	1.053	0.0876	0.673	0.445	1.016	0.0597
rs1120063 8	HTRA1	10	5'/promoter	A	1.872	1.220	2.871	0.0041	1.828	1.179	2.835	0.0070
rs2672598	HTRA1	10	5'/promoter	T	0.851	0.575	1.259	0.4194	0.867	0.573	1.312	0.5004
rs2230199	C3	19	exon 3	G	1.363	0.844	2.199	0.2050	1.452	0.864	2.441	0.1595
rs2230203	C3	19	exon 13	A	1.188	0.717	1.969	0.5034	1.335	0.759	2.348	0.3158

Όπως φαίνεται και στον πίνακα 5, η συχνότητα των αλληλόμορφων είναι ίδια μεταξύ ασθενών και μαρτύρων. Τα χαρακτηριστικά των πολυμορφισμών φαίνονται στον πίνακα 6.

Πίνακας 5. Γονοτυπικές και γονιδιακές συχνότητες στην ομάδα ελέγχου και στους ασθενείς

SNP	Γονότυποι/αλληλία	Ομάδα ελέγχου (συχνότητα)	Ξηρή HEΩ (συχνότητα)	Παραγωγική HEΩ (συχνότητα)
CFH rs800292				
Γονότυπος	G/G	128(0.607)	62(0.747)	114(0.826)
	G/A	73(0.346)	19(0.229)	23(0.167)
	A/A	10(0.047)	2(0.024)	1(0.007)
Αλληλίο	G	329(0.779)	143(0.862)	251(0.909)
	A	93(0.221)	23(0.138)	25(0.091)
CFH rs16840422				
Γονότυπος	C/C	166(0.791)	71(0.845)	125(0.899)
	C/T	42(0.200)	12(0.143)	14(0.101)
	T/T	2(0.009)	1(0.001)	0(0.000)
Αλληλίο	C	374(0.891)	154(0.917)	264(0.950)
	T	46(0.109)	14(0.083)	14(0.050)
CFH rs1061170				
Γονότυπος	T/T	79(0.376)	15(0.190)	23(0.172)
	T/C	105(0.500)	39(0.494)	56(0.418)
	C/C	26(0.124)	25(0.316)	55(0.410)
Αλληλίο	T	263(0.626)	69(0.437)	102(0.381)
	C	157(0.374)	89(0.563)	166(0.619)
CFH rs2284664				
Γονότυπος	C/C	133(0.624)	66(0.786)	128(0.921)
	C/T	72(0.338)	16(0.190)	11(0.079)
	T/T	8(0.038)	2(0.024)	0(0.000)
Αλληλίο	C	338(0.793)	148(0.881)	267(0.961)
	T	88(0.207)	20(0.119)	11(0.039)
CFH rs35292876				
Γονότυπος	C/C	201(0.957)	72(0.857)	114(0.820)
	C/T	9(0.043)	12(0.143)	24(0.173)
	T/T	0(0.000)	0(0.000)	1(0.007)
Αλληλίο	C	411(0.979)	156(0.929)	252(0.906)

	T	9(0.021)	12(0.071)	26(0.094)
CFH				
rs1065489				
Γονότυπος	G/G	146(0.685)	59(0.702)	102(0.739)
	G/T	63(0.296)	24(0.286)	32(0.232)
	T/T	4(0.019)	1(0.012)	4(0.029)
Αλλήλιο	G	355(0.833)	142(0.845)	236(0.855)
	T	71(0.167)	26(0.155)	40(0.145)
ARMS2				
rs10490924				
Γονότυπος	G/G	122(0.573)	35(0.417)	54(0.391)
	G/T	81(0.380)	35(0.417)	53(0.384)
	T/T	10(0.047)	14(0.166)	31(0.225)
Αλλήλιο	G	325(0.763)	105(0.625)	161(0.583)
	T	101(0.237)	63(0.375)	115(0.417)
ARMS2				
rs10664316				
Γονότυπος	AT/AT	74(0.348)	41(0.488)	60(0.432)
	--/AT	101(0.474)	32(0.381)	61(0.438)
	--/--	38(0.178)	11(0.131)	18(0.129)
Αλλήλιο	AT	249(0.584)	114(0.679)	181(0.651)
	--	177(0.416)	54(0.321)	97(0.349)
HTRA1				
rs2672598				
Γονότυπος	C/C	61(0.295)	30(0.357)	52(0.374)
	C/T	99(0.478)	41(0.488)	67(0.482)
	T/T	47(0.227)	13(0.155)	20(0.144)
Αλλήλιο	C	221(0.534)	101(0.601)	171(0.615)
	T	193(0.466)	67(0.399)	107(0.385)
HTRA1				
rs11200638				
Γονότυπος	G/G	126(0.594)	37(0.440)	60(0.432)
	G/A	76(0.359)	35(0.417)	49(0.352)
	A/A	10(0.047)	12(0.143)	30(0.216)
Αλλήλιο	G	328(0.774)	109(0.649)	169(0.608)
	A	96(0.226)	59(0.351)	109(0.392)

Υποσημείωση:

C2 intron 10 rs547154 (G>T): "T" είναι το αλλήλιο κινδύνου

C2 exon 7 rs9332739 (G>C): "C" είναι το αλλήλιο κινδύνου

C3 exon 3 rs2230199 (C>G): "G" είναι το αλλήλιο κινδύνου

C3 exon 13 rs2230203 (C>A): "A" είναι το αλλήλιο κινδύνου

CFB exon 1 rs4151667 (T>A): "A" είναι το αλλήλιο κινδύνου

CFB exon 2 rs641153 (G>A): "A" είναι το αλλήλιο κινδύνου

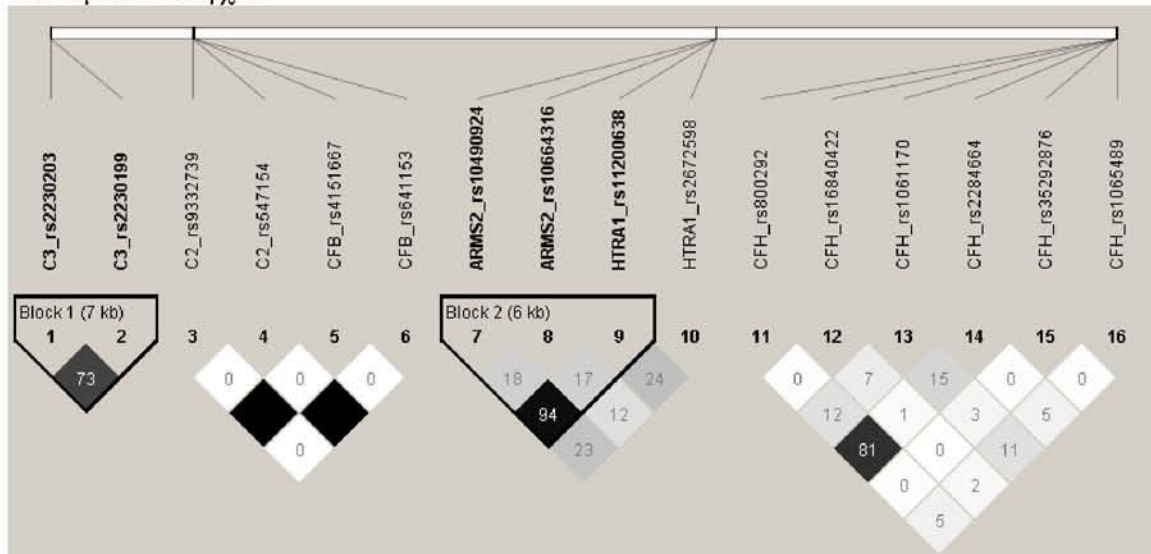
Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά των πολυμορφισμών

Γονίδιο	Rs αριθμός	Θέση χρωμοσώματος	Απόσταση από την αρχή του γονιδίου	Θέση γονιδίου	Λειτουργία	Έλασσον αλληλίο (συχνότητα) (Frequency)
	rs800292	196642233	21225	Exon 2	Missense (V62I)	A (0.217)
	rs16840422	196652834	31826	Intron 6-7	No-coding	T (0.158)
	rs1061170	196659237	38229	Exon 9	Missense (Y402H)	C (0.286)
CFH	rs2284664	196702525	81517	Intron 15-16	No-coding	T (0.195)
	rs35292876	196706642	85634	Exon 17	Synonymous (H878H)	T (0.023)
	rs1065489	196709774	88766	Exon 18	Missense ((E936D)	T (0.161)
	rs10490924	124214448		Exon 1	Missense (A69S)	T (0.212)
ARMS2	rs10664316	124216386	279 2217	Intron 1-2	No-coding	--(Unknown)
	rs2672598	124220682	-359	Promoter	Regulatory	T (0.433)
HTRA1	rs11200638	124220544	-497	Promoter	Regulatory	A (0.200)

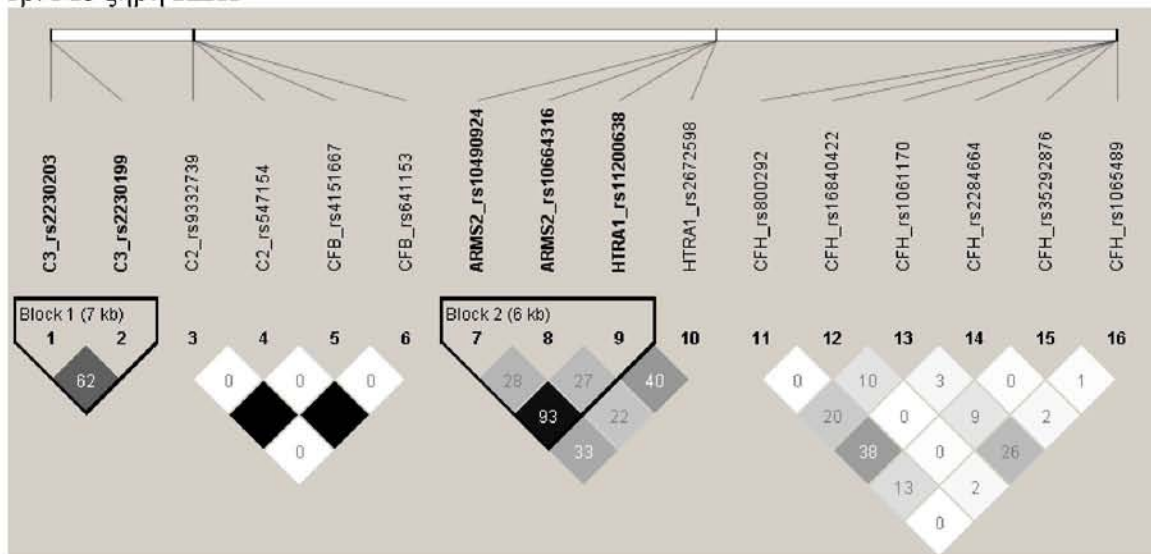
Η ανισορροπία σύνδεσης είναι σχεδόν πανομοιότυπη μεταξύ ασθενών και ομάδας ελέγχου (σχήμα 1). Οι SNPs CFH rs800292 και CFH rs2284664, C2 rs9332739 και CFB rs4151667, C2 rs547154 και CFB rs641153 και ARMS2 rs10490924 και HTRA1 rs11200638 ήταν σε υψηλή LD (Linkage Disequilibrium) ($r^2 > 0.8$). Χρησιμοποιώντας την εκτιμώμενη LD για να περιγραφεί κάθε σήμα, μια τιμή p της τάξης του 0,004 ή μικρότερη (0,05/12) θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική, λόγω των πολλαπλών δοκιμασιών που εφαρμόστηκαν.

Σχήμα 1. Ανισορροπία σύνδεσης (LD) μεταξύ των υποκειμένων των οποίων προσδιορίστηκαν οι πολυμορφισμοί, όπως εκφράζεται σε r^2

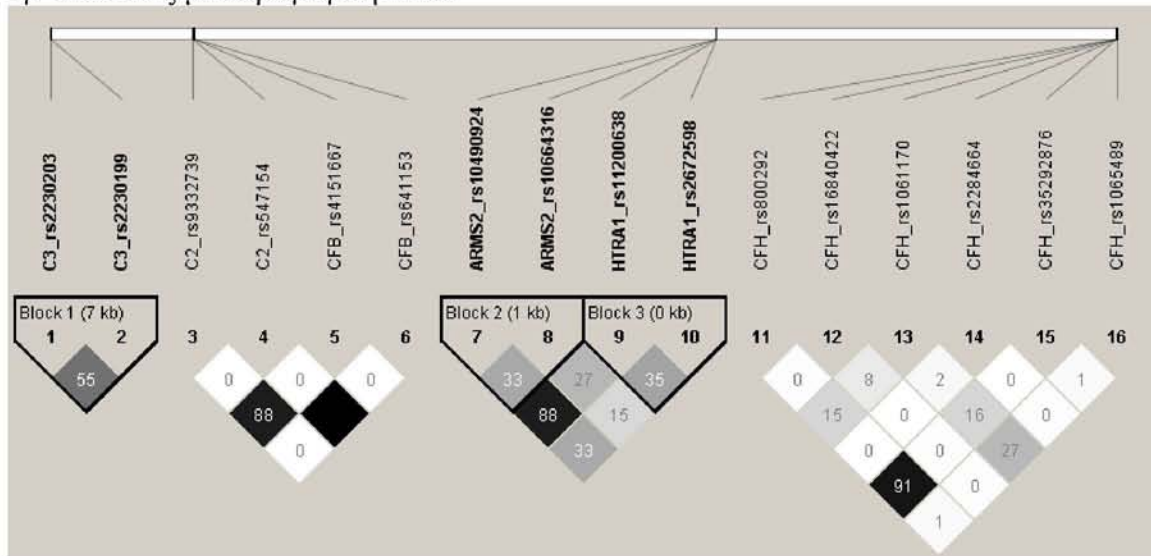
1α. Ομάδα Ελέγχου



1β. Με ξηρή ΗΕΩ



1γ. Ασθενείς με παραγωγική ΗΕΩ



14. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης επιβεβαίωσαν προηγούμενες αναφορές για συσχετίσεις μεταξύ παραλλαγών στην οδό του συμπληρώματος και την ευπάθεια σε ΗΕΩ, ενώ δείχνουν ότι οι παραλλαγές γονιδίων CFH διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γενετική προδιάθεση για την ΗΕΩ στον ελληνικό πληθυσμό, γεγονός που θα συμβάλλει στη χαρτογράφηση του γενετικού χάρτη της ΗΕΩ. Επιπλέον, βρέθηκε και μια μικρή αλληλεπίδραση ανάμεσα στο CFH και το κάπνισμα, που έχει αποδειχθεί και από άλλους ερευνητές.²⁵⁷ Στην παρούσα μελέτη εστίασαμε σε έναν ομοιογενή ελληνικό πληθυσμό Καυκάσιας καταγωγής και ακολουθήσαμε την προσέγγιση «υποψηφίου γονιδίου», προκειμένου να δοκιμαστούν και να ελεγχθούν πολυμορφισμοί που είναι ήδη γνωστό ότι σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης ΗΕΩ, αλλά και να διερευνηθούν άλλοι, λιγότερο μελετημένοι, τουλάχιστον στον ελληνικό πληθυσμό.

Ο πολυμορφισμός rs1061170 του γονιδίου CFH (Y402H), αν και πρόκειται για μια από τις πιο γνωστές παραλλαγές που αυξάνουν το σχετικό κίνδυνο για ΗΕΩ, διαφέρει ως προς τη συχνότητα και την ισχύ της συσχέτισής του μεταξύ των διαφόρων εθνοτήτων.^{67,258} Για παράδειγμα, ενώ η παραλλαγή Y402H έχει συνδεθεί με διπλάσιο κίνδυνο όψιμης-ΗΕΩ ανά αντίγραφο σε άτομα ευρωπαϊκής καταγωγής, υπάρχει μάλλον μια έλλειψη συσχέτισης σε μη Ευρωπαίους, γεγονός που απαιτεί περαιτέρω έλεγχο.²⁵⁹ Στο πλαίσιο αυτό, ο πολυμορφισμός rs1061170 του γονιδίου CFH συνδέθηκε με όλους τους φαινοτύπους ΗΕΩ σε αυτή τη μελέτη.

Οι rs800292 και rs2284664 πολυμορφισμοί του γονιδίου CFH βρέθηκαν να ασκούν μια προστατευτική επίδραση στην παρούσα μελέτη, καθώς συνδέθηκαν με μειωμένο κίνδυνο τόσο για νεοαγγειακή ΗΕΩ, όσο και για όλους τους υποτύπους ΗΕΩ. Το ίδιο αποτέλεσμα για τον rs800292 έχει αναφερθεί σε πληθυσμούς από την Κορέα και την Κίνα.²⁶⁰ Αυτό υποστηρίζεται περαιτέρω από το γεγονός ότι αυτή η παραλλαγή ανιχνεύθηκε σε υψηλές συχνότητες σε πληθυσμούς με χαμηλό ΗΕΩ επιπολασμό, μαζί με τις παραλλαγές rs2284664 και rs12066959.⁶⁷ Η παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει την προστατευτική επίδραση του rs2284664, η οποία φαίνεται ισχυρότερη από την επίδραση του rs800292, σύμφωνα με την αναλογία πιθανοτήτων, ιδιαίτερα στην περίπτωση της νεοαγγειακής ΗΕΩ. Αναφορικά με τα γονίδια C2 και CFB, κανένας από τους

πολυμορφισμούς που είχε προηγουμένως συσχετιστεί σημαντικά με ΗΕΩ σε Καυκάσιους πληθυσμούς δε δείχθηκε να συνδέεται με ΗΕΩ στην παρούσα μελέτη, διαπίστωση που συνάδει με αυτή που βρέθηκε στην Κορέα και στην Κίνα.^{262,263}

Παρά την καθιερωμένη συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και της ΗΕΩ (νυν καπνιστές έναντι εκείνων που δεν είχαν καπνίσει ποτέ),^{258,264} η διαφορά του επιπολασμού του καπνίσματος μεταξύ ασθενών και μαρτύρων (20,0% έναντι 15,9%) δεν έφθασε σε στατιστική σημαντικότητα. Αντίθετα, η υπέρταση βρέθηκε να είναι συχνότερη στην ομάδα ελέγχου. Παρόλο που μεταβολικοί και καρδιαγγειακοί παράγοντες, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και η υπέρταση έχουν συσχετιστεί με την ΗΕΩ, η σύνδεση είναι ισχυρότερη για τον διαβήτη, γεγονός που ήταν εμφανές και στην παρούσα μελέτη.

Όσον αφορά τα γονίδια ARMS2 / HTRA1, παρά το γεγονός ότι και οι δύο πολυμορφισμοί rs10490924 και rs11200638 συνδέθηκαν με ΗΕΩ στην παρούσα μελέτη, το εύρημα αυτό χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Ο σχετιζόμενος με την ΗΕΩ πολυμορφισμός rs11200638 στον υποκινητή του HTRA1 έχει αναφερθεί ότι οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα έκφρασης του mRNA και της πρωτεΐνης HTRA1.⁸⁶ Ωστόσο, τα στοιχεία για τη συσχέτιση του rs11200638 και των άλλων πολυμορφισμών με την ΗΕΩ γίνονται ασήμαντα μετά τον συνυπολογισμό του rs10490924 σε ένα μοντέλο πολλαπλής παλινδρόμησης. Φαίνεται ότι ο πολυμορφισμός rs10490924 στο εξόνιο 1 του γονιδίου ARMS2 (που μεταβάλλει την προβλεπόμενη αλληλουχία κωδικοποίησης LOC387715 / ARMS2) συνδέεται στενά με την ΗΕΩ και ότι ο rs11200638 έχει μικρή ή και καμία επίδραση στη δραστηριότητα του υποκινητή HTRA1 σε διάφορες κυτταρικές σειρές. Επίσης, μπορεί να μην υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ του γονότυπου rs11200638 και των επιπέδων HTRA1 mRNA. Ακόμα περισσότερο, ο rs10490924 μπορεί να ευθύνεται για την παρατηρούμενη συσχέτιση του rs11200638.^{265,268} Παρόλα αυτά, ο δυνητικός ρόλος του ARMS2 και του HTRA1 στην ΗΕΩ και η επίδραση της παραλλαγής rs11200638 του υποκινητή παραμένει ασαφής. Σύμφωνα με τους Francis et al.,²⁶⁹ η συσχέτιση του LOC387715 είναι ισότιμη με όλους τους κλινικούς υπότυπους της προχωρημένης ΗΕΩ, ένα εύρημα που επαληθεύτηκε σε μια μετά-ανάλυση τριών ανεξάρτητων μελετών συσχέτισης ασθενών – μαρτύρων.²⁷⁰ Η σημασία της χρωμοσωμικής περιοχής 10q26 στην εκδήλωση ΗΕΩ αναγνωρίστηκε από μελέτες

σύνδεσης. Στην περιοχή αυτή (LOC387715) βρίσκεται το γονίδιο ARMS2 το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια και που η αποστολή της παραμένει άγνωστη. Ο πολυμορφισμός rs1040924 στο ARMS2 συσχετίζεται με αυξημένη ευπάθεια στην εμφάνιση HEΩ, χωρίς ωστόσο να έχει ακόμα αποδειχθεί η αιτιολογική συσχέτιση. Η συσχέτιση της ασθένειας με τον γενικό τόπο 10q26 και το γονίδιο LOC387715 αποτελεί ένα σχετικά σταθερό εύρημα σε πληθυσμούς διαφορετικών εθνοτήτων, παρόλο που δεν έχει ακόμα στοιχειοθετηθεί σε πρωτεϊνικό επίπεδο η εμπλοκή της πρωτεΐνης LOC387715 στην ασθένεια. Το γονίδιο LOC387715 αποτελείται από δύο εξόνια και παράγει ένα μετάγραφο μήκους 818bp το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 107 αμινοξέων άγνωστης λειτουργίας. Το γεγονός ότι η έκφραση του γονιδίου είναι περιορισμένη στον αμφιβληστροειδή πιθανόν υποδεικνύει έναν ιστοειδικό ρόλο για τον προϊόν του.

Η παθογενετική διεργασία της HEΩ περιλαμβάνει μεταξύ άλλων τον πολυμορφισμό Y402H και τη CRP, η οποία βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε οφθαλμούς με HEΩ. Η ελαττωμένη ικανότητα πρόσδεσης της CRP στο CFH-402H στο χοριοειδή και η ισχυρότερη πρόσδεση της τελευταίας στις μεμβράνες των κυττάρων του μελαγχρόου επιθηλίου και των παρακείμενων μακροφάγων θα μπορούσε να ευθύνεται για την ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος, αλλά και την υπέρμετρη ενεργοποίηση της οδού των MAP κινασών και του μεταγραφικού παράγοντα NF-kB. Ως συνέπεια, παράγεται IL-8 και ενισχύεται η ενίσχυση προφλεγμονώδους δραστηριότητας.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αποτελούν απόδειξη ότι οι παραλλαγές γονιδίων CFH διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γενετική προδιάθεση για την HEΩ στον ελληνικό πληθυσμό. Τα ευρήματα αυτά έχουν άμεση σχέση με τη νόσο βοηθούν στη χαρτογράφηση του γενετικού χάρτη της HEΩ. Προκειμένου να ισχυροποιηθεί περαιτέρω η κατανόηση της βιολογίας της HEΩ, είναι απαραίτητο να διεξαχθούν μεγάλες μελέτες που να περιλαμβάνουν ομάδες διαφόρων εθνοτήτων και οι επιστήμονες σε όλο τον κόσμο εργάζονται προς την κατεύθυνση αυτή. Φυλετικές διαφορές μπορούν να αποσαφηνίσουν το ρόλο του C2, CFB και C3 στον ανάπτυξης κίνδυνο της HEΩ και θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω. Η αναγνώριση ομάδων αυξημένου κινδύνου με βάση γενετικούς παράγοντες που προδιαθέτουν για τη νόσο, θα επιτρέψει τη

συστηματική παρακολούθηση αυτών των ατόμων και την πιο αυστηρή προληπτική παρέμβαση. Επιπλέον, οι φαρμακογενωμικές θεραπευτικές προσεγγίσεις μπορούν να αξιοποιηθούν ανάλογα τις μελέτες των γενετικών πολυμορφισμών.

Παρόλα αυτά, το γεγονός ότι όλοι οι συμμετέχοντες προέρχονται από την κεντρική Ελλάδα, αν και επιτρέπει την ισχυρή αποτύπωση της γενετικής εικόνας αυτού του ελληνικού υποπληθυσμού, δεν επιτρέπει τη γενίκευση των συμπερασμάτων στο σύνολο του ελληνικού πληθυσμού, αφού το δείγμα δεν ήταν αντιπροσωπευτικό όλων των περιφερειών της χώρας, ούτε τέθηκαν αυστηρά κριτήρια καταγωγής των συμμετεχόντων. Περαιτέρω έρευνα με μεγαλύτερο, αντιπροσωπευτικό δείγμα του ελληνικού πληθυσμού συμπεριλαμβανομένης και της βιοχημικής μελέτης της έκφρασης της πρωτεΐνης, είναι απαραίτητη προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα ευρήματά μας και να ερμηνευτούν οι γενετικές συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν.

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Penfold PL, Killingsworth MC, and Sarks SH (1985) Senile macular degeneration: the involvement of immunocompetent cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 23:69–76
2. Klein R, Klein BE, and Linton KL (1992) Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam eye study. *Ophthalmology* 99:933–943
3. Vingerling JR, Dielemans I, Hofman A, Grobbee DE, Hijmering M, Kramer CF, and de Jong PT (1995) The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. *Ophthalmology* 102:205–210
4. Hageman GS, Luthert PJ, Victor Chong NH, Johnson LV, Anderson DH, and Mullins RF (2001) An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 20:705–732
5. Kaplan HJ, Leibole MA, Tezel T, and Ferguson TA (1999) Fas ligand (CD95 ligand) controls angiogenesis beneath the retina. *Nat Med* 5:292–297
6. Krzystolik MG, Afshari MA, Adamis AP, et al. (2002) Prevention of experimental choroidal neovascularization with intravitreal anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment. *Arch Ophthalmol* 120:338–346
7. Okamoto N, Tobe T, Hackett SF, Ozaki H, Viores MA, LaRochelle W, Zack DJ, and Campochiaro PA (1997) Transgenic mice with increased expression of vascular endothelial growth factor in the retina: a new model of intraretinal and subretinal neovascularization. *Am J Pathol* 151:281–291
8. Klein R, Klein BE, Jensen SC, Mares-Perlman JA, Cruickshanks KJ, Palta M. (1999) Age-related maculopathy in a multiracial United States population: the National Health and Nutrition Examination Survey III. *Ophthalmology*, 106, 1056–1065
9. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D et al.:Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ*, 2004;82: 844–851

10. Klein R, Rowland ML, Harris MA: Racial/ethnic differences in age-related maculopathy. Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Ophthalmology* 1995;102:371-381
11. Klein R, Klein BEK, Linton KLP: Prevalence of age-related maculopathy: The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, 1992;99:933-943
12. Klein R, Klein BEK, Linton KLP: Prevalence of The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, 1997;104, 7-21
13. Bressler NM, Bressler SB, Fine SL: Age related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 1988;32:375-413
14. Yates JR, Moore AT: Genetic susceptibility to age-related macular degeneration. *J Med Genet* 2000;37:38-87
15. Στάγκος NT. Κλινική Οφθαλμολογία. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2002
16. Λαδάς ΙΑ. Αγγειακές Παθήσεις Αμφιβληστροειδούς. Πασχαλίδης 2005
17. Koln H: The architecture of functional neural circuits in the vertebrate retina (the Proctor Lecture). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:2385
18. Werblin F: Synaptic connections, receptive fields, and patterns of activity in the tiger salamander retina. A simulation of patterns of activity formed at each cellular level from photoreceptors to ganglion cells (the Friedenwald lecture). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:459
19. Apple DJ, Rabb MF: Clinicopathologic correlation of ocular diseases; A text and stereoscopic atlas. Ed 2, CV Mosby, St Louis, 1978, pp 246-362
20. Blanks JC: Morphology and topography of the retina. In Ryan SJ (ed): *Retina*. Ed 3, Vol 1, CV Mosby, St Louis, 2001, pp 32-53
21. Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE: *Histology of the human eye*. WB Saunders, Philadelphia, 1971, pp 405-98
22. Jakobiec FA: *Ocular anatomy, embryology, and teratology*. Harper & Row, New York, 1982 pp 24-46
23. Friedman DS, O'Colmain BJ, Munoz B et al. (2004) Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol*, 122, 564-572

24. Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, et al. (1995) The International ARM Epidemiological Study Group. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related maculopathy and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, 39, 367-374
25. Varma R, Fraser-Bell S, Tan S, Klein R, Azen SP (2004) Prevalence of degeneration in Latinos: the Los Angeles Latino eye study. *Ophthalmology*, 111, 1288-1297
26. Kanski JJ, Milewski SA, *Diseases of the Macula*, 2002
27. Green WR, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies. The 1992 Lorenz E Zimmerman Lecture. *Ophthalmology* 1993;100:1519–1535
28. Green WR. Histopathology of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 1999;5:27
29. Sarks S, Cherepanoff S, Killingsworth M, Sarks J. Relationship of basal laminar deposit and membranous debris to the clinical presentation of early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:968–977
30. Zarbin MA. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2004;122:598–614
31. Mullins RF, Russell SR, Anderson DH, Hageman GS. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *Faseb J* 2000;14:835–846
32. Mullins RF, Johnson LV, Anderson DH, Hageman GS. Characterization of drusen-associated glycoconjugates. *Ophthalmology* 1997;104:288–294
33. Hageman GS, Mullins RF, Russell SR, Johnson LV, Anderson DH. Vitronectin is a constituent of ocular drusen and the vitronectin gene is expressed in human retinal pigmented epithelial cells. *Faseb J* 1999;13:477–484
34. Anderson DH, Ozaki S, Nealon M, et al. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: implications for the process of drusen formation. *Am J Ophthalmol* 2001;131:767–781
35. Sarks SH, Arnold JJ, Killingsworth MC, Sarks JP. Early drusen formation in the normal and aging eye and their relation to age related maculopathy: a clinicopathological study. *Br J Ophthalmol* 1999;83:358–368

36. Gupta N, Brown KE, Milam AH. Activated microglia in human retinitis pigmentosa, late-onset retinal degeneration, and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2003;76:463–467
37. Bressler NM, Silva JC, Bressler SB, Fine SL, Green WR. Clinicopathologic correlation of drusen and retinal pigment epithelial abnormalities in age-related macular degeneration. *Retina* 1994;14:130–142
38. Lutty G, Grunwald J, Majji AB, Uyama M, Yoneya S. Changes in choriocapillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Mol Vis* 1999;5:35
39. McLeod DS, Taomoto M, Otsuji T, Green WR, Sunness JS, Lutty GA. Quantifying changes in RPE and choroidal vasculature in eyes with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1986–1993
40. Sparrow JR, Boulton M. RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Exp Eye Res* 2005;80:595–606
41. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Morphology of early choroidal neovascularisation in age-related macular degeneration: correlation with activity. *Eye* 1997;11:515–522
42. Gass JD. Choroidal neovascular membranes—their visualization and treatment. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1973;77:OP310–OP320
43. Grossniklaus HE, Green WR. Choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 2004;137:496–503
44. Kim SY, Sadda S, Pearlman J, et al. Morphometric analysis of the macula in eyes with disciform age-related macular degeneration. *Retina* 2002;22:471–477
45. Chen J, Connor KM, Smith LE. Overstaying their welcome: defective CX3CR1 microglia eyed in macular degeneration. *J Clin Invest* 2007;117:2758–2762
46. Cook HL, Patel PJ, Tufail A (2008) Age-related macular degeneration: diagnosis and management. *British Medical Bulletin* 85, 127-149
47. Mitchell P, Smith W, Attebo K, et al. (1995) Prevalence of age-related maculopathy in Australia. *Ophthalmology*, 102, 1450-1460
48. Klein R, Klein BE, Lint Klein R, Klein BE, Linton KL. (1992) Prevalence of age-related maculopathy. *Ophthalmology*, 99, 933-943

49. Cruickshanks KJ, Hamman RF, Klein R et al. (1997) The prevalence of the age-related maculopathy by geographic region and ethnicity. *Arch Ophthalmol*, 115, 242-250
50. Friedman DS, Katz J, Bressler NM, et al. (1999) Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Baltimore Eye Survey. *Ophthalmology*, 106, 1049-1055
51. Bressler NM, Bressler SB, West SK, et al. (1989) The grading and prevalence of macular degeneration in Chesapeake Bay waterman. *Arch Ophthalmol* 1989; 107:847-852
52. Van Newkirk MR, Nanjan MB, Wanh JJ, et al. (2000) The prevalence of age-related maculopathy: the visual impairment project. *Ophthalmology* 2000;107:1593-1600
53. Schachat AP et al. Features of age-related macular degeneration in a black population. The Barbados Eye Study Group. *Arch Ophthalmol*, 1195;113:728-735
54. Evans JR. Risk factors for age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res*, 2001;20:227-253
55. McCarty CA et al. Risk factors for age-related macular degeneration: the Visual Impairment Project. *Arch Ophthalmol*, 2001;119:1455-1462
56. Klein R, Klein BE, Jensen SC. The relation of cardiovascular disease and its risk factors to the 5-years incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, 1997a;104:1804-1812
57. Witteman JC et al. Increased risk of atherosclerosis in women after the menopause. *BMJ*, 1989;298:642-644
58. Meyers SM: A twin study on age-related macular degeneration. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1994;92:775-843
59. Meyers SM, Greene T, Gutman FA: A twin study of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 1995;120:757-766
60. Seddon JM, Cote J, Page WF, Aggen SH, Neale MC: The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences. *Arch Ophthalmol* 2005;123:321-327
61. Weeks DE, Conley YP, Mah TS et al. A full genome scan for age-related maculopathy. *Hum Mol Genet*, 2000;9:1329-1349

62. Weeks DE, Conley YP, Tsai HJ et al. Age-related maculopathy: a genomewide scan with continued evidence of susceptibility loci within the 1q31, 10q26 and 17q25 regions. *Am J Hum Genet*, 2004;75:174-189
63. Majewski J, Schultz DW, Weleber RG, et al. Age-related macular degeneration: a genome scan in extended families. *Am J Hum Genet*, 2003;73:540-550
64. Seddon JM, santangelo SL, Book K, et al. A genomewide scan for age-related macular degeneration provides evidence for linkage to several chromosomal regions. *Am J Hum Genet*, 2003;73:780-790
65. Abecasis GR, Yashar BM, Zhao Y, et al. Age-related macular degeneration: a high-resolution genome scan for susceptibility loci in a population enriched for late-stage disease. *Am J Hum Genet*, 2004;74:482-494
66. Schimidt S, Scott WK, Postel EA, et al. Ordered subset linkage analysis supports a susceptibility locus for age-related macular degeneration on chromosome 16p12. *BMC Genet*, 2004;5:18
67. Nicolas Leveziel, Julien Tilleul, et al. (2011) Genetic Factors Associated with Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmologica* 2011;226:87-102
68. Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of Harvard and MIT, Lund University, and Novartis Institutes of BioMedical Research, et al: Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007;316:1331-1336
69. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, et al: Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007;447:1087-1093
70. Johnson LV, Leiter WP, Staples MK, Anderson DH: Complement activation and inflammatory processes in drusen formation and age related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2001;73:887-896
71. Baudouin C, Peyman GA, Fredj-Reygrobellet D, Gordon WC, Lapalus P, Gastaud P, Bazan NG: Immunohistological study of subretinal membranes in age-related macular degeneration. *Jpn J Ophthalmol* 1992;36:443-451
72. Mandal MN, Ayyagari R. Complement factor H: spatial and temporal expression and localization in the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006;49(9):4091-7

73. de Cordoba SR, de Jorge EG. translation mini-review series on complement factor H: genetics and disease associations of human complement factor H. *Clin Exp Immunol*, 2008;151(1):1-13
74. Barlow PN, Hageman GS, Lea SM. Complement factor H: using atomic resolution structure to illuminate disease mechanisms. *Adv Exp Med Biol*, 2008;632:117-42
75. Giannakis E, Jokiranta TS, Male DA, Ranganathan S, Ormsby RJ, Fischetti VA, Mold C, Gordon DL: A common site within factor H SCR 7 responsible for binding heparin, C-reactive protein and streptococcal M protein. *Eur J Immunol* 2003;33:962-969
76. Sjoberg AP, Trouw LA, Clark SJ, Sjolander J, Heinegard D, Sim RB, Day AJ, Blom AM: The factor H variant associated with age-related macular degeneration (His-384) and the non-disease-associated form bind differentially to C-reactive protein, fibromodulin, DNA, and necrotic cells. *J Biol Chem* 2007;282:10894-10900
77. Skerka C, Lauer N, Weinberger AA, Keilhauer CN, Suhnel J, Smith R, Schlotzer-Schrehardt U, Fritsche L, Heinen S, Hartmann A, Weber BH, Zipfel PF: Defective complement control of factor H (Y402H) and FHL-1 in age-related macular degeneration. *Mol Immunol* 2007;44:3398-3406
78. Anderson DH, Radeke MJ, Gallo NB, Chapin EA, Johnson PT, Curletti CR, Hancox LS, Hu J, Ebright JN, Malek G, Hauser MA, Rickman CB, Bok D, Hageman GS, Johnson LV: The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:95-112
79. Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, Cramer K, Neel J, Bergeron J, Barile GR, Smith RT; HEΩ Genetics Clinical Study Group, Hageman GS, Dean M, Allikmets R: Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006;38:458-462
80. Spencer KL, Hauser MA, Olson LM, Schmidt S, Scott WK, Gallins P, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance MA, Haines JL: Protective effect of complement factor B and complement component 2 variants in age-related macular degeneration. *Hum Mol Genet* 2007;16:1986-1992
81. Jakobsdottir J, Conley YP, Weeks DE, Ferrell RE, Gorin MB: C2 and CFB genes in age-related maculopathy and joint action with CFH and LOC387715 genes. *PLoS One* 2008;3:e2199

82. Montes T, Tortajada A, Morgan BP, Rodriguez de Cordoba S, Harris CL: Functional basis of protection against age-related macular degeneration conferred by a common polymorphism in complement factor B. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:4366-4371
83. Jakobsdottir J, Conley YP, Weeks DE, Mah TS, Ferrell RE, Gorin MB: Susceptibility genes for age-related maculopathy on chromosome 10q26. *Am J Hum Genet* 2005;77:389-407
84. Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, Keilhauer CN, Lichtner P, Meitinger T, Weber BH: Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Hum Mol Genet* 2005;14:3227-3236
85. Dewan A, Liu M, Hartman S, Zhang SS, Liu DT, Zhao C, Tam PO, Chan WM, Lam DS, Snyder M, Barnstable C, Pang CP, Hoh J: HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science* 2006;314:989-992
86. Yang Z, Camp NJ, Sun H, Tong Z, Gibbs D, Cameron DJ, Chen H, Zhao Y, Pearson E, Li X, Chien J, Dewan A, Harmon J, Bernstein PS, Shridhar V, Zabriskie NA, Hoh J, Howes K, Zhang K: A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science* 2006;314:992-993
87. Fritsche LG, Loenhardt T, Janssen A, Fisher SA, Rivera A, Keilhauer CN, Weber BH: Age-related macular degeneration is associated with an unstable ARMS2 (LOC387715) mRNA. *Nat Genet* 2008;40:892-896
88. Kanda A, Chen W, Othman M, Branham KE, Brooks M, Khanna R, He S, Lyons R, Abecasis GR, Swaroop A: A variant of mitochondrial protein LOC387715/ARMS2, not HTRA1, is strongly associated with age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:16227-16232
89. Wang G, Spencer KL, Court BL, Olson LM, Scott WK, Haines JL, Pericak-Vance MA: Localization of age-related macular degeneration-associated ARMS2 in cytosol, not mitochondria. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3084-3090
90. Kortvely E, Hauck SM, Duetsch G, Gloeckner CJ, Kremmer E, Alge-Priglinger CS, Deeg CA, Ueffing M: ARMS2 is a constituent of the extracellular matrix providing a link between familial and sporadic age-related macular degenerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:79-88

91. Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, Keilhauer CN, Lichtner P, Meitinger T, Weber BH. Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Hum Mol Genet* 2005;14:3227-36
92. Tocharus J, Tsuchiya A, Kajikawa M, Ueta Y, Oka C, Kawaichi M. Developmentally regulated expression of mouse HtrA3 and its role as an inhibitor of TGF-beta signaling. *Dev Growth Differ* 2004;46:257-74
93. Ly DH, Lockhart DJ, Lerner RA, Schultz PG. Mitotic misregulation and human aging. *Science* 2000;287:2486-92
94. Grau S, Richards PJ, Kerr B, Hughes C, Caterson B, Williams AS, Junker U, Jones SA, Clausen T, Ehrmann M. The role of human Htra1 in arthritic disease. *J Biol Chem* 2006;281:6124-9
95. Oka C, Tsujimoto R, Kajikawa M, Koshiha-Takeuchi K, Ina J, Yano M, Tsuchiya A, Ueta Y, Soma A, Kanda H, Matsumoto M, Kawaichi M. HtrA1 serine protease inhibits signaling mediated by Tgf-bera family proteins. *Development* 2004;131:1041-53
96. Yang Z, Camp NJ, Sun H, Tong Z, Gibbs D, Cameron DJ, Chen H, Zhao Y et al. A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science* 2006;314:992-3
97. Cameron DJ, Yang Z, Gibbs D, Chen H et al. HTRA1 variant confers similar risks to geographic atrophy and neovascular age-related macular degeneration. *Cell Cycle* 2007;6:1122-5
98. Cameron DJ, Yang Z, Tong Z, Zhao Y, Praggastis A et al. 10q26 is associated with increased risk of age-related macular degeneration in the Utah population. *Adv Exp Med Biol* 2008;613:253-8
99. Pulido JS, Peterson LM, Mutapcic L, Bryant S, Highsmith WE. LOC387715/HTRA1 and complement factor H variants in patients with age-related macular degeneration seen at the mayo clinic. *Ophthalmic Genet* 2007;28:203-7
100. Deangelis MM, Ji F, Adams S, Morrison MA, Harring AJ, Sweeney MO, Capone A Jr, Miller JW, Dryja TP, Ott J, Kim IK. Allels in the HtrA Serine Peptidase 1 Gene Alter the Risk of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2008;115:1209-15

101. Weger M, Renner W, Steinbrugger I, Kofer K, Wedrich A, Groselj-Strele A, El-Shabrawi Y, Schmut O, Haas A. Association of the HTRA1 -625G>A promoter gene polymorphism with exudative age-related macular degeneration in a Central European population. *Mol Vis* 2007;13:1274-9
102. Leveziel N, Souied EH, Richard F, Barbu V, Zourdani A, Morineau G, Zerbib J, Coscas G, Soubrane G, Benlian P. PLEKHA 1-LOC387715-HTRA1 polymorphisms and exudative age-related macular degeneration in the French population. *Mol Vis* 2007;13:2153-9
103. Hughes AE, Orr N, Patterson C, Esfandiary H et al. Neovascular age-related macular degeneration risk based on CFH, LOC387715/HTRA1, and smoking. *PLoS Med* 2007;4:e355
104. Dewan A, Liu M, Hartman S, Zhang SS, Liu DT et al. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science* 2006;314:989-92
105. Mori K, Horie-Inoue K, Kohda M, Kawasaki I et al. Association of the HTRA1 gene variant with age-related macular degeneration in the Japanese population. *J Hum Genet* 2007;52:636-41
106. Kaur I, Katta S, Hussain A, Hussain N et al. Variants in the 10q26 Gene Cluster (LOC387715 and HTRA1) Exhibit Enhanced Risk of Age-Related Macular Degeneration along with CFH in Indian Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1771-6
107. Yates JR, Sepp T, Matharu BK, Khan JC, Thurlby DA, Shahid H, Clayton DG, Hayward C, Morgan J, Wright AF, Armbrecht AM, Dhillon B, Deary IJ, Redmond E, Bird AC, Moore AT; Genetic Factors in HEΩ Study Group: Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2007;357:553-561
108. Anderson DH, Radeke MJ, Gallo NB, Chapin EA, Johnson PT, Curletti CR, Hancox LS, Hu J, Ebright JN, Malek G, Hauser MA, Rickman CB, Bok D, Hageman GS, Johnson LV: The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:95-112
109. Fagerness JA, Maller JB, Neale BM, Reynolds RC, Daly MJ, Seddon JM: Variation near complement factor I is associated with risk of advanced HEΩ. *Eur J Hum Genet* 2009;17:100-104

110. Ennis S, Gibson J, Cree AJ, Collins A, Lotery AJ: Support for the involvement of complement factor I in age-related macular degeneration. *Eur J Hum Genet* 2010;18:15-16
111. Kondo N, Bessho H, Honda S, Negi A: Additional evidence to support the role of a common variant near the complement factor I gene in susceptibility to age-related macular degeneration. *Eur J Hum Genet* 2010;18:634-645
112. Yu Y, Bhangale TR, Fagerness J, Ripley S, Thorleifsson G, Tan PL, Souied EH, Richardson AJ, Merriam JE, Buitendijk GH, Reynolds R, Raychaudhuri S, Chin KA, Sobrin L, Evangelou E, Lee PH, Lee AY, Leveziel N, Zack DJ, Campochiaro B, Campochiaro P, Smith RT, Barile GR, Guymer RH, Hogg R, Chakravarthy U, Robman LD, Gustafsson O, Sigurdsson H, Ortmann W, Behrens TW, Stefansson K, Uitterlinden AG, van Duijn CM, Vingerling JR, Klaver CC, Allikmets R, Brantley MA Jr, Baird PN, Katsanis N, Thorsteinsdottir U, Ioannidis JP, Daly MJ, Graham RR, Seddon JM: Common variants near FRK/COL10A1 and VEGFA are associated with advanced age-related macular degeneration. *Hum Mol Genet* 2011, Epub ahead of print
113. Curcio CA, Presley JB, Malek G, Medeiros NE, Avery DV, Kruth HS: Esterified and unesterified cholesterol in drusen and basal deposits of eyes with age-related maculopathy. *Exp Eye Res* 2005;81:731-741
114. Li CM, Chung BH, Presley JB, Malek G, Zhang X, Dashti N, Li L, Chen J, Bradley K, Kruth HS, Curcio CA: Lipoprotein-like particles and cholesteryl esters in human Bruch's membrane: initial characterization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2576-2586
115. Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, Hui D, Weisgraber KH: Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. Characterization of the lipoproteins in cerebrospinal fluid and identification of apolipoprotein B,E (LDL) receptors in the brain. *J Biol Chem* 1987;262:14352-14360
116. Schneider WJ, Nimpf J: LDL receptor relatives at the crossroad of endocytosis and signaling. *Cell Mol Life Sci* 2003;60:892-903
117. Klaver CC, Kliffen M, van Duijn CM, Hofman A, Cruts M, Grobbee DE, van Broeckhoven C, de Jong PT: Genetic association of apolipoprotein E with age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 1998;63:200-206

118. Pang CP, Braum L, Chan WM, Lau TC, Poon PM, Lam DS: The apolipoprotein E epsilon4 allele is unlikely to be a major risk factor of age-related macular degeneration in Chinese. *Ophthalmologica* 2000;214:289-291
119. Schultz DW, Klein ML, Humpert A, Majewski J, Schain M, Weleber RG, Ott J, Acott TS: Lack of an association of apolipoprotein E gene polymorphisms with familial age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2003;121:679-683
120. Gotoh N, Kuroiwa S, Kikuchi T, Arai J, Arai S, Yoshida N, Yoshimura N: Apolipoprotein E polymorphisms in Japanese patients with polypoidal choroidal vasculopathy and exudative age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2004;138:567-573
121. De Angelis MM, Ji F, Kim IK, Adams S, Capone A Jr, Ott J, Miller JW, Dryja TP: Cigarette smoking, CFH, APOE, ELOVL4, and risk of neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2007;125:49-54
122. Utheim OA, Ritland JS, Utheim TP, Espeseth T, Lydersen S, Rootwelt H, Semb SO, Elsas T: Apolipoprotein E genotype and risk for development of cataract and age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 2008;86:401-403
123. Losonczy G, Fekete A, Voko Z, Takacs L, Kaldi I, Ajzner E, Kasza M, Vajas A, Berta A, Balogh I: Analysis of complement factor H Y402H, LOC387715, HTRA1 polymorphisms and ApoE alleles with susceptibility to age-related macular degeneration in Hungarian patients. *Acta Ophthalmol* 2011;89:255-262
124. Schmidt S, Klaver C, Saunders A, Postel E, De La Paz M, Agarwal A, Small K, Udar N, Ong J, Chalukya M, Nesburn A, Kenney C, Domurath R, Hogan M, Mah T, Conley Y, Ferrell R, Weeks D, de Jong PT, van Duijn C, Haines J, Pericak-Vance M, Gorin M: Apooled case-control study of the apolipoprotein E (APOE) gene in age-related maculopathy. *Ophthalmic Genet* 2002;23:209-223
125. Zarepari S, Reddick AC, Branham KE, Moore KB, Jessup L, Thoms S, Smith-Wheelock M, Yashar BM, Swaroop A: Association of apolipoprotein E alleles with susceptibility to age-related macular degeneration in a large cohort from a single center. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:1306-1310

126. Baird PN, Guida E, Chu DT, Vu HT, Guymer RH: The epsilon2 and epsilon4 alleles of the apolipoprotein gene are associated with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:1311-1315
127. Vergeer M, Korporaal SJ, Franssen R, Meurs I, Out R, Hovingh GK, Hoekstra M, Sierts JA, Dallinga-Thie GM, Motazacker MM, Holleboom AG, Van Berkel TJ, Kastelein JJ, Van Eck M, Kuivenhoven JA: Genetic variant of the scavenger receptor BI in humans. *N Engl J Med* 2011;364:136-145
128. Reboul E, Abou L, Mikail C, Ghiringhelli O, Andre M, Portugal H, Jourdheuil-Rahmani D, Amiot MJ, Lairon D, Borel P: Lutein transport by Caco-2 TC-7 cells occurs partly by a facilitated process involving the scavenger receptor class B type I (SR-BI). *Biochem J* 2005;387:455-461
129. Zerbib J, Seddon JM, Richard F, Reynolds R, Leveziel N, Benlian P, Borel P, Feingold J, Munnich A, Soubrane G, Kaplan J, Rozet JM, Souied EH: rs5888 variant of SCARB1 gene is a possible susceptibility factor for age-related macular degeneration. *PLoS One* 2009;4:e7341
130. Brantley MA Jr, Fang AM, King JM, Tewari A, Kymes SM, Shiels A: Association of complement factor H and LOC387715 genotypes with response of exudative age-related macular degeneration to intravitreal bevacizumab. *Ophthalmology* 2007;114:2168-2173
131. Leveziel N, Zerbib J, Richard F, Querques G, Morineau G, Fremeaux-Bacchi V, Coscas G, Soubrane G, Benlian P, Souied EH: Genotype –phenotype correlations for exudative age-related macular degeneration associated with homozygous HTRA1 and CFH genotypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:3090-3094
132. Shuler RK Jr, Schmidt S, Gallins P, Hauser MA, Scott WK, Caldwell J, Agarwal A, Haines JL, Pericak-Vance MA, Postel EA: Phenotype analysis of patients with the risk variant LOC387715 (A69S) in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2008;145:303-307
133. Brantley MA Jr, Edelstein SL, King JM, Plotzke MR, Apte RS, Kymes SM, Shiels A: Association of complement factor H and LOC387715 genotypes with response of exudative age-related macular degeneration to photodynamic therapy. *Eye* 2009;23:626-631

134. Andreoli MT, Morrison MA, Kim BJ, Chen L, Adams SM, Miller JW, De Angelis MM, Kim IK: Comprehensive analysis of complement factor H and LOC387715/ARMS2/HTRA1 variants with respect to phenotype in advanced age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2009;148:869-874
135. Gotoh N, Yamada R, Nakanishi H, et al: Correlation between CFH Y402H and HTRA1 rs11200638 genotype to typical exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy phenotype in the Japanese population. *Clin Experiment Ophthalmol* 2008;36:437-442
136. Leveziel N, Puche N, Richard F, Somner JE, Zerbib J, Bastuji-Garin S, Cohen SY, Korobelnik JF, Sahel J, Soubrane G, Benlian P, Souied EH: Genotypic influences on severity of exudative age-related macular degeneration. *Invest ophthalmol Vis Sci* 2010;51:2620-2625
137. Chen Y, Zeng J, Zhao C, Wang K, Trood E, Buehler J, Weed M, Kasuga D, Bernstein PS, Hughes G, Fu V, Chin J et al: Assessing susceptibility to age-related macular degeneration with genetic markers and environmental factors. *Arch Ophthalmol* 2011;129:344-351
138. Wegscheider BJ, Weger M, Renner W, Steinbrugger I, Marz W, Mossbock G, Temmel W, El-Shabrawi Y, Schmut O, Jahrbacher R, Hass A: Association of complement factor H Y402H gene polymorphism with different subtypes of exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2007;114:738-742
139. Brantley MA Jr, Edelstein SL, King JM, Apte RS, Kymes SM, Shiels A: Clinical phenotypes associated with the complement factor H Y402H variant in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007;144:404-408
140. Goverdhan SV, Hannan S, Newsom RB, Luff AJ, Griffiths H, Lotery AJ: An analysis of the CFH Y402H genotype in HEΩ patients and controls from the UK, and response to PDT treatment. *Eye (Lond)* 2008;22:849-854
141. Sobrin L, Reynolds R, Yu Y, Fagerness J, Leveziel N, Bernstein PS, Souied EH, Daly MJ, Seddon JM: ARMS2/HTRA1 locus can confer differential susceptibility to the advanced subtypes of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2011;151:345-352

142. Tomany SC, Wang JJ, van Leeuwen R et al: Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology*, 2004;111:1280-1287
143. Seddon JM, Reynolds R, Maller J, Fagerness JA, Daly MJ, Rosner B: Prediction model for prevalence and incidence of advanced age-related macular degeneration based on genetic, demographic, and environmental variables. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2044-2053.
144. Schmidt S, Hauser MA, Scott WK, Postel EA, Agarwal A, Gallins P, Wong F, Chen YS, Spencer K, Schnetz-Boutaud N, Haines JL, Pericak-Vance MA: Cigarette smoking strongly modifies the association of LOC387715 and age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 2006;78:852-864
145. Sepp T, Khan JC, Thurlby DA, Shahid H, Clayton DG, Moore AT, Bird AC, Yates JR: Complement factor H variant Y402H is a major risk determinant for geographic atrophy and choroidal neovascularization in smokers and nonsmokers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:536-540
146. Hughes AE, Orr N, Patterson C, Esfandiary H, Hogg R, McConnell V, Silvestri G, Chakravarthy U: Neovascular age-related macular degeneration risk based on CFH, LOC387715/HTRA1, and smoking. *PLoS Med* 2007;4:e355
147. Age-Related Eye Disease Study Research Group: Risk factors for the incidence of advanced age-related macular degeneration in the Age-related Eye Disease Study (AREDS): AREDS report No. 19. *Ophthalmology*, 2005;112:533-539
148. Age-related Eye Disease Study Report Number 3. *Ophthalmology* 2000;107:2224-2232
149. Seddon JM, Cote J, Davis N, Rosner B: Progression of age-related macular degeneration : association with body mass index, waist circumference, and waist-hip ratio. *Arch Ophthalmol* 2003;121:785-792
150. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. *JAMA* 1994;272:1413-1420
151. Snellen EL, Verbeek AL, Van Den Hoogen GW, Cruysberg JR, Hoyng CB. Neovascular age-related macular degeneration and its relationship to antioxidant intake. *Acta Ophthalmol Scand* 2002;80:368-371

152. Goldberg J, Flowerdew G, Smith E, Brody JA, Tso MO. Factors associated with age-related macular degeneration: an analysis of data from the first National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 1988;128:700–710
153. Van den Langenberg GM, Mares-Perlman JA, Klein R, Klein BE, Brady WE, Palta M. Associations between antioxidant and zinc intake and the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study. *Am J Epidemiol* 1998;148:204–214
154. Flood V, Smith W, Wang JJ, Manzi F, Webb K, Mitchell P. Dietary antioxidant intake and incidence of early age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2002;109:2272–2278
155. Vu HTV, Robman L, McCarty CA, Taylor HR, Hodge A. Does dietary lutein and zeaxanthin increase the risk of age-related macular degeneration? *Br J Ophthalmol* 2006;90:389–390
156. Van Leeuwen R, Boekhoorn S, Vingerling JR, et al. Dietary intake of antioxidants and risk of age-related macular degeneration. *JAMA* 2005;294:3101–3107
157. Taylor HR, Tikellis G, Robman LD, McCarty CA, McNeil JJ. Vitamin E supplementation and macular degeneration: randomized controlled trial. *BMJ* 2002;325:11
158. Landrum JT, Bone RA. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Arch Biochem Biophys* 2001;385:28–40
159. Eye Disease Case-Control Study Group. Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 1993;111:104–109
160. SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, et al. The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study. AREDS Report No. 22; *Arch Ophthalmol*. 2007. p. 1225-1232
161. Krinsky NI, Landrum JT, Bone RA. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annu Rev Nutr* 2003;23:171–201
162. SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, et al. The relationship of dietary lipid intake and age-related macular degeneration in a case-control study. *Arch Ophthalmol* 2007;125:671–679
163. Seddon JM, Rosner B, Sperduto RD, et al. Dietary fat and risk for advanced age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1191–1199

164. Seddon JM, Cote J, Rosner B. Progression of age-related macular degeneration: association with dietary fat, transunsaturated fat, nuts, and fish intake. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1728–1737
165. Hyman LG, Lilienfeld AM, Ferris FL III, et al. Senile macular degeneration: a case-control study. *Am J Epidemiol* 1983;118:213–227
166. Klein R, Klein BE, Jensen SC, Cruickshanks KJ. The relationship of ocular factors to the incidence and progression of age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol* 1998;116:506–513
167. Taylor HR, West S, Munoz B, Rosenthal FS, Bressler SB, Bressler NM. The long-term effects of visible light on the eye. *Arch Ophthalmol* 1992;110:99–104
168. Age-Related Eye Disease Study Research Group. Risk factors associated with age-related macular degeneration: a case-control study in the Age-Related Eye Disease Study. *Ophthalmology* 2000;107:2224–2232
169. Eye Disease Case-Control Study Group. Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 1992;110:1701–1708
170. Taylor HR, West SK, Munoz MS et al. The long-term effect of visual light to the eye. *Arch Ophthalmol* 1992;110:99-104
171. Tomany SC, Cruickshanks KJ, Klein R et al. The Beaver Dam Eye Study: sunlight and the 10-year incidence of age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol*, 2004;122:750-757
172. Klein R, Klein BE, Wong TY et al. The association of cataract and cataract surgery with the long-term incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam eye study. *Arch Ophthalmol*, 2002;120:1551-1558
173. Wang JJ, Klein R, Smith W et al. Cataract surgery and the 5-year incidence of late-stage age-related maculopathy: pooled findings from the Beaver Dam and Blue Mountains eye studies. *Ophthalmology*, 2003;110:1960-1967
174. Freeman EE, Munoz B, West SK et al. Is there an association between cataract surgery and age-related macular degeneration? Data from three population-based studies. *Am J Ophthalmol*, 2003;135:849-856
175. Margaret M. DeAngelis, Margaux A. Morrison, Alexandra C. Silveira. Systems biology-based analysis implicates a novel role for vitamin D metabolism in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Human Genomics*, 2011;5:538-568

176. Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC. Age-related macular degeneration, 2004
177. Pauleikhoff D, Bardondes MJ, Minessian D, Chisholm IH, Bird AC. Drusen as risk factors in age-related macular disease. *Am J Ophthalmol* 2000;109:38-43
178. Holz FG, Wolfensberger TJ, et al. Bilateral Macular Drusen in Age-related Macular Degeneration: Prognosis and Risk Factors. *Ophthalmology* 1994;101:1522-8
179. Klein R, Klein BE, et al. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: The Beaver Dam eye study. *Ophthalmology* 2002;109:1767-1779
180. Steinmetz RL, Haimovisi R et al. Syptomatic abnormalities of dark adaptation in patients with age-related Bruch's membrane change. *Br J Ophthalmol* 1993;77:549-554
181. Brown B, Lovie-Kitchin J. Contrast-sensitivity in central and paracentral retina in age-related macular maculopathy. *Clin Exper Optom* 1987;7:145-152
182. Παπαστρατηγάκης Βύρων Ν. Εγχειρίδιο παθήσεων ωχράς. Αθήνα 2010
183. Bressler NM, Bressler SB, West SK, et al: The grading and prevalence of macular degeneration in Chesepeake Bay watermen. *Arch Ophthalmol* 1989;107:847-852
184. Green WR, McDonnell PJ, Yeo JH: Pathologic features of senile macular degeneration, *Ophthalmology* 92:615-627,1985
185. Spaide RF. Fundus autofluorescenceand age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2003;110:392-399
186. Mitchell P, Smith W, Attebo K, et al: Prevalence of age-related maculopathy in Australia. *Ophthalmology* 102:1450-1460,1995
187. Klein R, Klein BEK, Jensen SC, et al: The five year incidence and progression of age-related maculopathy. *Ophthalmology* 104:7-21, 1997
188. Sarks SH: Drusen patterns predisposing to geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Aust J Ophthalmol* 10:91-97, 1982
189. Bressler NM, Bressler SB, West SK, et al: The grading and prevalence of macular degeneration in Chesepeake Bay watermen. *Arch Ophthalmol* 107:847-852,1989)
190. The International Age-Related Maculopathy Study Group. An international classification system for ARM. *Surv Ophthalmol* 1995;39:367-374
191. Hyman LG, Lilienfeld AM, Ferris FL III, et al:Senile macular degeneration: a case-controlle study. *Am J Epidemiol* 118:213-227, 1983

192. Leibowitz HM, Krueger DE, Maunder LR, et al: The Framingham Eye Study Monograph: VI Macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 24 (Suppl):428-457,1980
193. Burns RP, Freeney-Burns L: Clinico morphologic correlations of drusen of Bruch's membrane. *Trans Am Ophthalmol Soc* 78:206-225, 1980
194. Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, et al: An international classification of grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 39:367-374, 1995)
195. Macular Photocoagulation Study Group: Subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration: guidelines for evaluation and treatment in the macula photocoagulation study. *Arch Ophthalmol* 109:1242-1257,1991
196. Yannuzzi LA, Slacter JS, et al: Digital indocyanine green videoangiography and choroidal neovascularization. *Retina* 12:191-223, 1992
197. Treatment of age-related macular degeneration with photodynamic therapy (ATP) and verteporfin in Photodynamic Therapy Study Groups: Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization with verteporfin: fluorescein angiographic guidelines for evaluation and treatment – TAP and VIP report no.2. *Arch Ophthalmol* 121:1253-1268, 2003
198. Yannuzzi LA, Sorenson J, Spaide RF, et al: Idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina* 10: 1-8, 1990
199. Chuang EL, Bird AC. Bilaterality of tears of the retinal pigment epithelium. *Br J Ophthalmol*. 1988;72:918-920
200. Ie D, Yannuzzi LA, Spaide RF et al. Microrips of the retinal pigment epithelium. *Arch Ophthalmol* . 1992;110:1443-1449
201. Gass JDM. Drusen and disciform macular detachment and degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1973;90:206-217
202. Hyman LG, Liliensfeld AM, Ferris FL, et al. Senile macular degeneration: a case control study. *Am J Epidemiol* . 1983;118:213-227
203. Ferris FL, Fine SL, Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Arc Ophthalmol*. 1984;102:1640-1642
204. Barondes M, Pauleikhoff D, et al. Bilaterality of drusen. *Br J Ophthalmol*. 1986;74:180-187

205. Bellmann C, Jorzik J et al. Symmetry of bilateral lesions in geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 2002;120:579-584
206. Roy M, Kaiser-Kipper M. Second eye involvement in age-related macular degeneration: A four year prospective study. *Eye*. 1990;4:813-818
207. Braun O, Vinding T, Krogh E. Natural course in fellow eyes of patients with unilateral age-related exudative maculopathy. *Acta Ophthalmol Copenh*. 1993;71:398-401
208. Gross-Jendroska M, Owens SL, et al. Prophylactic laser treatment of fellow eyes of unilateral retinal pigment epithelial tears. *Am J Ophthalmol*. 1998;126:77-81
209. Ryan SJ. *Retina* 4th edn, Elsevier Inc 2006 pp.873-916
210. Haug D, Swanson EA, Lin CP et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991;254:1178-1181
211. Ryan SJ. *Retina* 4th edn, Elsevier Inc 2006 pp.1533-1538
212. Θεοδοσιάδης ΓΠ, Γρηγορόπουλος ΒΓ, et al. Οπτική τομογραφία συνοχής (OCT). Αμφιβληστροειδής – Γλαύκωμα. 2007 Αθήνα
213. Coscas G, Coscas F, et al. Optical coherence tomography and ARMD. *J Fr Ophthalmol*. 2004;27:3S7-30
214. Hee MR, Baumal CR, et al. Optical coherence tomography in age-related macular degeneration and choroidal neovascularization. *Ophthalmology*. 1996;103:1260-1270
215. Sato T, Lida T, et al. Correlation of optical coherence tomography with angiography in retinal pigment epithelial detachment associated with age-related macular degeneration. *Retina*. 2004;24:910-914
216. Costa RA, Calucci D, et al. Occult chorioretinal anastomosis in age-related macular degeneration: a prospective study by optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2005;140:107-116
217. Theodosiadis GP, Panagiotidis D, et al. Retinal hemorrhage after photodynamic therapy in patients with subfoveal choroidal neovascularization caused by age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2003;24:13-18
218. Tomany S, Wang J, van Leeuwen R, et al. Risk factors for incident age-related macular degeneration. Pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology* 2004;111:1280–1287
219. The Eye Disease Case Control Study Group: Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*, 1992;110:1701-1708

220. The Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1417–1436
221. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene and the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med* 1994;330:1029–1035
222. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996;334:1150–1155
223. Figueroa MS, Reguera A, Bertrand J: Laser photocoagulation to treat macular soft drusen in age-related macular degeneration. *Retina*, 1994;14:391:396
224. Duvall J, Tso MOM: Cellular mechanisms of resolution of drusen after laser photocoagulation. *Arch Ophthalmol*, 1985;103:694-703
225. Macular photocoagulation study group. Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy: Five-year results from randomized clinical trials. *Arch Ophthalmol*,1991;109:1109-1114
226. Zarbin M, Szirth B. Current treatment of age-related macular degeneration. *Optom Vis Sci*, 2007;84:559–72
227. Virgili G, Bini A. Laser photocoagulation for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev*,2000;8:CD004763
228. Fingar VH. Vascular effects of photodynamic therapy. *J Clin Laser Med Surg*, 1996;14:323–8.
229. Bressler NM, Arnold J, Benchaboune M, et al. Verteporfin therapy of subfoveal choroidal neovascularization in patients with age-related macular degeneration: additional information regarding baseline lesion composition's impact on vision outcomes-TAP report No. 3. *Arch Ophthalmol*, 2002;120:1443–54
230. Bressler NM, Bressler SB, Haynes LA, et al. Verteporfin therapy for subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: four-year results of an open-label extension of 2 randomized clinical trials: TAP Report No. 7. *Arch Ophthalmol*,2005;123:1283–5

231. Wormald R, Evans J, Smeeth L, Henshaw K. Photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev*,2005; 19:CD002030
232. Arias L, Garcia-Arumi J, Ramon JM, et al. Photodynamic therapy with intravitreal triamcinolone in predominantly classic choroidal neovascularization: one-year results of a randomized study. *Ophthalmology*,2006; 113:2243–50
233. Ergun E, Maar N, Ansari-Shahrezaei S, et al. Photodynamic therapy with verteporfin and intravitreal triamcinolone acetonide in the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*, 2006;142:10–16.
234. Möhle R, Green D, Moore MA, Constitutive production and thrombin-induced release of vascular endothelial growth factor by human megakaryocytes and platelets. *PNAS*. 1997;94:663–668
235. Challa JK, Gillies MC, Penfold PL, Exudative macular degeneration and intravitreal triamcinolone: 18 month follow up. *Aust N Z J Ophthalmol*.1998;26:277–281
236. Penfold PL, Gyory JF, Hunyor AB Exudative macular degeneration and intravitreal triamcinolone. A pilot study. *Aust N Z J Ophthalmol*. 1995;23:293–298
237. Danis RP, Ciulla TA, Pratt LM. Intravitreal triamcinolone acetonide in exudative age-related macular degeneration. *Retina*. 2000;20:244–250
238. Jonas JB, Akkoyun I, Budde WM. Intravitreal reinjection of triamcinolone for exudative age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 2004;122:218–222
239. Gillies MC, Simpson JM, Luo W. A randomized clinical trial of a single dose of intravitreal triamcinolone acetonide for neovascular age-related macular degeneration: one-year results. *Arch Ophthalmol*. 2003;121:667–673
240. Aisenbrey S, Lafaut BA, Szurman P, et al. Macular translocation with 360 degrees retinotomy for exudative age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*,2002; 120:451–9
241. Fujii GY, de Juan E Jr, Pieramici DJ et al. Inferior limited macular translocation for subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration: 1-year visual outcome and recurrence report. *Am J Ophthalmol*, 2002;134:69–74
242. Mruthunjaya P, Stinnett SS, Toth CA, et al. Change in visual function after macular translocation with 360 degrees retinectomy for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 2004;111:1715–24

243. Gelisken F, Voelker M, Schwabe R, et al. Full macular translocation versus photodynamic therapy with verteporfin in the treatment of neovascular age-related macular degeneration: 1-year results of a prospective, controlled, randomised pilot trial (FMT-PDT). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2007;Jan 12 (Epub)
244. MacLaren RE, Uppal GS, Balaggan KS, et al. Autologous transplantation of the retinal pigment epithelium and choroid in the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 2007;114:561–70
245. Heussen FM, Fawzy NF, Joeres S, et al. Autologous translocation of the choroid and RPE in age-related macular degeneration: 1-year follow-up in 30 patients and recommendations for patient selection. *Eye*, Jul 20,2007; (Epub ahead of print)
246. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983;219:983–5
247. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 1989;246:1306–9
248. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*, 1994;118:445–50
249. Pierce EA, Foley ED, Smith LE. Regulation of vascular endothelial growth factor by oxygen in a model of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol*, 1996;114:1219–28
250. Rakic JM, Lambert V, Devy L, et al. Placental growth factor, a member of the VEGF family, contributes to the development of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003;44:3186–93
251. Yancopoulos GD, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 2000;407(6801):242-8
252. Coultas L, Chawengsaksophak K, et al. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature*, 2005;438(7070):937-45
253. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*, 2005;109:227–41
254. Pieramici DJ, Avery RL. Ranibizumab: treatment in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Expert Opin Biol Ther*, 2006;6:1237–45

255. Lei J, Jiang A, Pei D. Identification and characterization of a new splicing variant of vascular endothelial growth factor: VEGF183. *Biochim Biophys Acta*, 1998;443:400–6
256. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*, 2003;9:669–76
257. Maller JB, Fagerness JA, Reynolds RC, Neale BM, Daly MJ, Seddon JM (2007). `Variation in complement factor 3 is associated with risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet*. 39:1200-1.
258. Chen Y, Bedell M, Zhang K (2010) Age-related macular degeneration: genetic and environmental factors of disease. *Mol Interv* 10:271-81
259. Sofat R, Casas JP, Webster AR, Bird AC, Mann SS, Yates JR, Moore AT, Sepp T, Cipriani V, Bunce C, Khan JC, Shahid H, Swaroop A, Abecasis G, Branham KE, Zarepari S, Bergen AA, Klaver CC, Baas DC, Zhang K, Chen Y, Gibbs D, Weber BH, Keilhauer CN, Fritsche LG, Lotery A, Cree AJ, Griffiths HL, Bhattacharya SS, Chen LL, Jenkins SA, Peto T, Lathrop M, Leveillard T, Gorin MB, Weeks DE, Ortube MC, Ferrell RE, Jakobsdottir J, Conley YP, Rahu M, Seland JH, Soubrane G, Topouzis F, Vioque J, Tomazzoli L, Young I, Whittaker J, Chakravarthy U, de Jong PT, Smeeth L, Fletcher A, Hingorani AD (2012) Complement factor H genetic variant and age-related macular degeneration: effect size, modifiers and relationship to disease subtype. *Int J Epidemiol*. 41:250-62.
260. Kim YH, Kim HS, Mok JW, Joo CK (2013) Gene-Gene Interactions of CFH and LOC387715/ARMS2 with Korean Exudative Age-related Macular Degeneration Patients. *Ophthalmic Genet*. 34:151-9.
261. Wu L, Tao Q, Chen W, Wang Z, Song Y, Sheng S, Li P, Zhou J (2013) Association between polymorphisms of complement pathway genes and age-related macular degeneration in a Chinese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.;54:170-4
262. Liu X, Zhao P, Tang S, Lu F, Hu J, Lei C, Yang X, Lin Y, Ma S, Yang J, Zhang D, Shi Y, Li T, Chen Y, Fan Y, Yang Z (2010) Association study of complement factor H, C2, CFB, and C3 and age-related macular degeneration in a Han Chinese population. *Retina*. 30:1177-84.

263. Kim SJ, Lee SJ, Kim NR, Chin HS (2012) Association of polymorphisms in C2, CFB and C3 with exudative age-related macular degeneration in a Korean population. *Exp Eye Res.* 96:42-7.
264. Chakravarthy U, Wong TY, Fletcher A, Pault E, Evans C, Zlateva G, Buggage R, Pleil A, Mitchell P (2010) Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol* 10:31
265. Kanda A, Chen W, Othman M, Branham KE, Brooks M, Khanna R, He S, Lyons R, Abecasis GR, Swaroop A (2007). A variant of mitochondrial protein LOC387715/ARMS2, not HTRA1, is strongly associated with age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104:16227–32.
266. Kaur I, Cantsilieris S, Katta S, Richardson AJ, Schache M, Pappuru RR, Narayanan R, Mathai A, Majji AB, Tindill N, Guymer RH, Chakrabarti S, Baird PN (2013). Association of the del443ins54 at the ARMS2 locus in Indian and Australian cohorts with age-related macular degeneration. *Mol Vis.* 19:822-8.
267. Kanda A, Stambolian D, Chen W, Curcio CA, Abecasis GR, Swaroop A (2010). Age-related macular degeneration-associated variants at chromosome 10q26 do not significantly alter ARMS2 and HTRA1 transcript levels in the human retina. *Mol Vis.* 16:1317-23.
268. Fritsche LG, Chen W, Schu M, Yaspan BL, Yu Y, Thorleifsson G, Zack DJ, Arakawa S, Cipriani V, Ripke S, Igo RP Jr, Buitendijk GH, Sim X, Weeks DE, Guymer RH, Merriam JE, Francis PJ, Hannum G, Agarwal A, Armbrecht AM, Audo I, Aung T, Barile GR, Benchaboune M, Bird AC, Bishop PN, Branham KE, Brooks M, Brucker AJ, Cade WH, Cain MS, Campochiaro PA, Chan CC, Cheng CY, Chew EY, Chin KA, Chowers I, Clayton DG, Cojocaru R, Conley YP, Cornes BK, Daly MJ, Dhillon B, Edwards AO, Evangelou E, Fagerness J, Ferreyra HA, Friedman JS, Geirsdottir A, George RJ, Gieger C, Gupta N, Hagstrom SA, Harding SP, Haritoglou C, Heckenlively JR, Holz FG, Hughes G, Ioannidis JP, Ishibashi T, Joseph P, Jun G, Kamatani Y, Katsanis N, Keilhauer C, Khan JC, Kim IK, Kiyohara Y, Klein BE, Klein R, Kovach JL, Kozak I, Lee CJ, Lee KE, Lichtner P, Lotery AJ, Meitinger T, Mitchell P, Mohand-Said S, Moore AT, Morgan DJ, Morrison MA, Myers CE, Naj AC, Nakamura Y, Okada Y, Orlin A, Ortube MC, Othman MI, Pappas C, Park KH, Pauer GJ, Peachey NS, Poch O, Priya RR,

Reynolds R, Richardson AJ, Ripp R, Rudolph G, Ryu E, Sahel JA, Schaumberg DA, Scholl HP, Schwartz SG, Scott WK, Shahid H, Sigurdsson H, Silvestri G, Sivakumaran TA, Smith RT, Sobrin L, Souied EH, Stambolian DE, Stefansson H, Sturgill-Short GM, Takahashi A, Tosakulwong N, Truitt BJ, Tsironi EE, Uitterlinden AG, van Duijn CM, Vijaya L, Vingerling JR, Vithana EN, Webster AR, Wichmann HE, Winkler TW, Wong TY, Wright AF, Zelenika D, Zhang M, Zhao L, Zhang K, Klein ML, Hageman GS, Lathrop GM, Stefansson K, Allikmets R, Baird PN, Gorin MB, Wang JJ, Klaver CC, Seddon JM, Pericak-Vance MA, Iyengar SK, Yates JR, Swaroop A, Weber BH, Kubo M, Deangelis MM, Léveillard T, Thorsteinsdottir U, Haines JL, Farrer LA, Heid IM, Abecasis GR; HE Ω Gene Consortium (2013) Seven new loci associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 45:433-9

269. Francis PJ, George S, Schultz DW, et al; 2007. The LOC387715 gene, smoking, body mass index, environmental associations with advanced age-related macular degeneration. *Hum Hered* 63(3-4):212-218.
270. Ross RJ, Bojanowski CM, Wang JJ, et al; 2007. The LOC387718 polymorphism and age-related macular degeneration: Replication in three case-control samples. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48(3):1128-1132