



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ**

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ
ΜΥΟΣΙΛΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ
ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ (ΟΨΙΜΗΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ) ΣΤΗΝ
ΗΠΕΙΡΟ**

**ΖΑΧΑΡΙΑΣ ΗΛ. ΠΕΤΡΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2010



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ**

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ
ΜΥΟΣΙΛΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ
ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ (ΟΨΙΜΗΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ) ΣΤΗΝ
ΗΠΕΙΡΟ**

**ΖΑΧΑΡΙΑΣ ΗΛ. ΠΕΤΡΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2010

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος).

Ημερομηνία αίτησης του κ. Πέτρου Ζαχαρία: 12-11-2004

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 551^α/29-3-2005

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Κίτσος Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας

Μέλη

Ιωαννίδης Ιωάννης, Καθηγητής Υγιεινής

Petersen M.B., Διευθυντής της Διεύθυνσης Γενετικής του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού Νοσοκομείου Παίδων «Αγία Σοφία»

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 6-4-2005

«Προσδιορισμός του ρόλου του γονιδίου της Μυοσιλίνης στο πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοιχτής γωνίας (όψιμης εμφάνισης) στην Ηπειρο»

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 670^α/3-11-2009

1. Ιωαννίδης Ιωάννης, Καθηγητής Υγιεινής, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Ασπιώτης Μιλτιάδης Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Καλογερόπουλος Χρήστος Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Κίτσος Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Petersen M.B., Διευθυντής της Διεύθυνσης Γενετικής του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού Νοσοκομείου Παίδων «Αγία Σοφία»
6. Στεφανιώτου Μαρία Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Ασπρούδης Ιωάννης Επίκουρος Καθηγητής Οφθαλμολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 17-12-2009

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Γουδέβενος Ιωάννης

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



Η Γραμματέας της Σχολής

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ-ΖΩΗ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη οφείλω στον επιβλέποντα της διδακτορικής μου διατριβής αναπληρωτή καθηγητή Οφθαλμολογίας στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων κ. Γεώργιο Κίτσο, που με την επιμονή και την αστείρευτη του ενέργεια και γνώση με βοήθησε να ολοκληρώσω την εργασία αυτή.

Θερμές ευχαριστίες για την ανεκτίμητη συμβολή του τόσο στο επιστημονικό μέρος όσο και στο ανθρώπινο επίπεδο στον κ. Michael B. Petersen, Διευθυντή του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού, Διεύθυνση Γενετικής, Νοσοκομείο Παιδων «Η Αγία Σοφία».

Επίσης ευχαριστώ θερμά τον καθηγητή Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ιωάννη Ιωαννίδη για την πολύτιμη προσφορά ανεκτίμητης αξίας γνώσεων στην οργάνωση, την ερμηνεία και την ανάλυση των αποτελεσμάτων της έρευνας.

Ευχαριστώ θερμά την Κα Γιαννούλια – Καραντανά, Πρόεδρο του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού, για την εκχώρηση της άδειας για τη διεκπεραίωση της γενετικής ανάλυσης στο εργαστήριο του Ινστιτούτου.

Επίσης ευχαριστώ θερμά την Κα Μαρία Γρηγοριάδου, βιολόγο στο Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού για την καθοδήγηση και την επίβλεψη που πρόθυμα μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας των δειγμάτων.

Ευχαριστώ θερμά την κα Mary K. Wirtz για τη διαρκή, θερμή και φιλική της υποστήριξη σε όλη τη διάρκεια της έρευνας, τόσο σε επιστημονικό, όσο και σε οικονομικό επίπεδο ως υπεύθυνη των χρηματικών χορηγήσεων.

Ευχαριστώ τους συναδέλφους μου στο Γ Ν Ι «Γ Χατζηκώστα», το Διευθυντή μου κ. Βασίλειο Ευταξία και τον κ. Ιωάννη Μελισσουργό, Διευθυντή, για το αμέριστο ενδιαφέρον και την ψυχολογική υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής.

VII

Επίσης ευχαριστώ θερμά την κα Παναγιώτα Διαμάντη, Νοσηλεύτρια στα Εξωτερικά Ιατρεία του Οφθαλμολογικού Τμήματος του Γ Ν Ι «Γ Χατζηκώστα», για την πάντοτε πρόθυμη βοήθειά της στις αιμοληψίες των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη.

Τον πρώτο μου Δάσκαλο και παντοτινό, Χειρουργό και Άνθρωπο κ. Γεώργιο Τουρβά, Οφθαλμίατρο, τ. Διευθυντή του Οφθαλμολογικού Τμήματος του Βοστανείου Νοσοκομείου Μυτιλήνης τον ευγνωμονώ για την μεταλαμπάδευση της τεράστιας χειρουργικής του εμπειρίας, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, και θα είναι πάντοτε για μένα, όπως και ο πατέρας μου, το πρότυπο του Ιατρού.

Τέλος, ευχαριστώ τον πατέρα μου, Ηλία Πέτρου, τη μητέρα μου, Αρίστη Πέτρου, τη σύζυγό μου Εύη και την κόρη μου Αρίστη απλά ΓΙΑ ΟΛΑ.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	1
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	2
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ – Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΕΝΝΟΙΑΣ ΤΟΥ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ	4
2. ΤΟ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΩΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ.....	9
3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΟΡΟΛΟΓΙΑ (EUROPEAN GLAUCOMA SOCIETY).....	11
4. ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΤΟ ΓΛΑΥΚΩΜΑ.....	30
5. Η ΜΥΟΣΙΛΙΝΗ ΚΑΙ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ (MYOCILIN, MYOC)	42
5A. ΓΝΩΣΤΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΥΟΣΙΛΙΝΗΣ .	48
6. Η Thr377Met ΜΕΤΑΛΛΑΓΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΥΟΣΙΛΙΝΗΣ .	54
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	57
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	58
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	59
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	76
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	83
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	91
ABSTRACT	92
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	94

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το γλαύκωμα είναι μια σύνθετη και ετερογενής χρόνια πάθηση. Αποτελεί μια ειδική μορφή οπτικής νευροπάθειας και ανήκει στις πλέον συχνές αιτίες τύφλωσης.

Το Πρωτοπαθές Γλαύκωμα Ανοικτής Γωνίας (ΠΓΑΓ) είναι η πλέον συχνή μορφή γλαυκώματος με όψιμη εμφάνιση. Χαρακτηρίζεται από υψηλή ενδοφθάλμια πίεση (ΕΟΠ), από κοίλανση της οπτικής θηλής, από χαρακτηριστικά ελλείμματα στα οπτικά πεδία (σκοτώματα) και από απουσία χαρακτηριστικών συγγενούς ή δευτεροπαθούς γλαυκώματος.

Οι πλέον συχνοί παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση του ΠΓΑΓ είναι το θετικό οικογενειακό ιστορικό (κληρονομικότητα) η φυλή και η μυωπία.

Τα τελευταία χρόνια με τη δημοσίευση ερευνών επί μεγάλων οικογενειών με πάσχοντες από ΠΓΑΓ και με την ανίχνευση – χαρτογράφηση γονιδιακών θέσεων και γονιδίων, έχει αναδειχθεί σημαντικός ο ρόλος της γενετικής στο Γλαύκωμα.

Μια τέτοια δημοσίευση με περιγραφή τεσσάρων μεγάλων οικογενειών από την Ήπειρο με πάσχοντες από ΠΓΑΓ, προέκυψε από την Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική Ιωαννίνων. Η δημοσίευση αυτή αποτελούσε μέρος της διδακτορικής διατριβής του κ. Γεωργίου Κίτσου.

Μετά την αρχική δημοσίευση από την Πανεπ. Οφθ/κή Κλινική Ιωαννίνων το 1988, μια επόμενη δημοσίευση (σε συνεργασία με το Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, Τμήμα Γενετικής του Νοσοκ. Παιδών «Η Αγ. Σοφία», Διευθυντής κ. Petersen MB) το 1996, και τη δημοσίευση των Wirtz MK, Samples JR, Kramer PL et al, (από το Oregon Health and Sciences University, Casey Eye Institute, Department of Ophthalmology, USA) το 1997, προέκυψε συνεργασία των τριών Κέντρων – Ινστιτούτων. (Πανεπ. Οφθ/κή Κλινική Ιωαννίνων,

Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, Τμήμα Γενετικής Αθήνα, και Oregon Health and Sciences University, Casey Eye Institute, USA).

Σκοπός της συνεργασίας αυτής είναι η περαιτέρω γενετική διερεύνηση του ΠΓΑΓ. Η διερεύνηση αυτή, μετά την κατάθεση των σχετικών πρωτοκόλλων χρηματοδοτήθηκε δύο φορές από τις ΗΠΑ:

1. National Eye Institute (N.E.I.), USA. Kevin Keating Grants Management Specialist, American Health Assistance Foundation. “Genetics of adult – onset Primary Open Angle Glaucoma”. Διάρκεια: 1.08.00 – 31.07.02 (επί δύο έτη).
2. NIH (National Institute of Health), USA. “Genetics of adult – onset Primary Open Angle Glaucoma”. Διάρκεια από 08.01.03 επί πέντε έτη.

Από τη συνεργασία αυτή, μετά από την κλινική και γενετική ανάλυση των δύο μεγάλων οικογενειών, (της μιας στην Ήπειρο και της άλλης στο Oregon των ΗΠΑ), διαπιστώθηκαν ότι:

A) Οι πάσχοντες, στις δύο οικογένειες, από το ΠΓΑΓ, παρουσίαζαν τον ίδιο ακριβώς φαινότυπο και την ίδια ακριβώς μεταλλαγή στο χρωμόσωμα 3 (3q21 – q24: GLC1C). Η GLC1C γονιδιακή θέση αποτελεί πλέον την τρίτη κατά χρονική σειρά χαρτογραφηθείσα θέση για το ΠΓΑΓ που έχει καταγραφεί και κατοχυρωθεί διεθνώς.

B) Σε μέλη των δύο οικογενειών βρέθηκε επιπλέον μεταλλαγή και στο γονίδιο της Μυοσιλίνης (T377M)

Μέρος και συνέχεια της συνεργασίας μας αποτέλεσε και η παρούσα διδακτορική διατριβή, σκοπός της οποίας είναι η ανίχνευση του ρόλου της μεταλλαγής T377M του γονιδίου της Μυοσιλίνης στις διάφορες πληθυσμιακές ομάδες της περιοχής της Ηπείρου.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ – Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΕΝΝΟΙΑΣ ΤΟΥ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ

Η λέξη γλαύκωμα προέρχεται από την αρχαία Ελληνική λέξη γλαυκός, που σημαίνει άτονο ή αραιωμένο κυανούν. Ο Ιπποκράτης ανέφερε τον όρο «Γλαύκωσις» μεταξύ των αναπηριών από τις οποίες πάσχουν οι ηλικιωμένοι. Ο Ιπποκράτης εννοούσε με τον όρο αυτό, ένα υποκίανο αποχρωματισμό της κόρης του οφθαλμού. Η κατάσταση αυτή αργότερα ονομάστηκε «υπόχυμα» και ανταποκρινόταν στον καταρράκτη. Στην αρχαιότητα θεωρείτο πως η γλαύκωση και το υπόχυμα ήταν το ίδιο. Αργότερα στους Αλεξανδρινούς Χρόνους το γλαύκωμα θεωρείται πως ήταν ασθένεια του κρυσταλλώδους σώματος (ή υγρού), το οποίο αλλάζει από το κανονικό του χρώμα σε ανοικτό κυανούν. Αντιθέτως το υπόχυμα θεωρείται σαν έκκριση υγρού που αργότερα πήζει και μένει μεταξύ της ίριδας και του φακού. Όλα τα γλαυκώματα εθεωρούντο ανίατα, παρ' ότι επιστεύετο ότι μερικά υποχύματα μπορούσαν να βελτιωθούν.

Κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα, η Σχολή του Σαλέρνο εισήγαγε την έννοια της «ήρεμης σταγόνας» η οποία θεωρείτο σαν ένας τύπος ανίατου καταρράκτη στον οποίο η κόρη του οφθαλμού ήταν μυδριασμένη και καθαρή. Η κατάσταση θεωρείτο πως είναι πιθανώς συγγενής. Σύμφωνα με αυτή τη Σχολή, υπήρχε ένας ακόμη τύπος ανίατου καταρράκτη, κατά τον οποίο η κόρη του οφθαλμού θα διευρυνόταν ξαφνικά και θα φαινόταν πράσινη.

Ο Pierre Brisseau βοήθησε τη μοντέρνα οφθαλμολογία με το μικρό βιβλίο του για τον καταρράκτη και το γλαύκωμα, το οποίο εκδόθηκε το 1709. Οι συγγραφείς των Αρχαίων Χρόνων και οι Άραβες γιατροί ερμήνευσαν το γλαύκωμα σαν έναν ανίατο καταρράκτη με αποξήρανση του φακού. Ο Brisseau ήταν ο πρώτος που θεώρησε το γλαύκωμα ως θολερότητα του υαλοειδούς, ενώ ερμήνευσε τον καταρράκτη σωστά ως έναν αδιαφανή κρυστάλλινο φακό.

Η πρώτη αιτιολογημένη ικανοποιητική περιγραφή της ασθένειας εγράφη από τον St. Yves το 1722: «το γλαύκωμα είναι ένας από τους νόθους καταρράκτες. Πρώτα οι ασθενείς βλέπουν καπνό και ομίχλη. Κατόπιν χάνουν την όρασή τους, ενώ συγχρόνως, η κόρη του οφθαλμού διευρύνεται. Τελικώς, μόνο ένα υπόλειμμα όρασης παραμένει κροταφικά. Η ασθένεια μπορεί να αρχίσει με ισχυρό πόνο. Η πρόγνωση είναι πτωχή. Υπάρχει κίνδυνος και ο άλλος οφθαλμός να προσβληθεί».

Ο Chevalier Taylor έχει να κάνει με το χοριοειδή ενώ ο Platner (1745) ήταν ο πρώτος που δήλωσε ότι ο οφθαλμός είναι σκληρός, αντιστεκόμενος στην πίεση που δέχεται από τα δάχτυλα. Η θεωρία της πίεσης τονίστηκε και ξεκαθαρίστηκε από τον Makenzie (1830).

Ο Wenzel Jr., (1808) πίστευε ότι το γλαύκωμα ήταν κυρίως ασθένεια του αμφιβληστροειδούς χιτώνα, ενώ ο S. Canstatt (1831), ο J. Sichel (1841) και οι οπαδοί τους δήλωναν ότι το γλαύκωμα ήταν μια μορφή χοριοειδίτιδας. Όλοι τους πίστευαν ότι το γλαύκωμα ήταν ανίατο.

Ο Joseph Beer (1817) πίστευε ότι το γλαύκωμα ήταν θολερότητα του υαλοειδούς και το επακόλουθο μιας αρθριτικής οφθαλμίας, που θα αναπτυσσόταν σε ασθενείς με ποδάγρα (ουρική αρθρίτιδα) που δεν είχαν καμιά προηγούμενη οφθαλμική φλεγμονή.

Μερικές μάταιες προσπάθειες έγιναν για να θεραπευθεί το γλαύκωμα. Ο Makenzie πρότεινε μια σκληροτομή ή φακεκτομή. Ο George Stromeyer πρότεινε τενοντεκτομία του άνω λοξού και μυοτομή του κάτω λοξού. Ο St. Yves πρότεινε εξόρυξη του προσβεβλημένου οφθαλμού, για να προφυλαχθεί ο άλλος.

Το πρώτο πραγματικό επίτευγμα στη θεραπεία του γλαυκώματος ήταν η ανακάλυψη το 1856 από τον Albrecht von Graefe ότι η ιριδεκτομή μπορεί να είναι μια θεραπευτική μέθοδος για ορισμένους τύπους γλαυκώματος. Αρχικά είχε προσπαθήσει, χωρίς επιτυχία, να μειώσει την ΕΟΠ με ενστάλλαξη ατροπίνης και επανειλημμένες παρακεντήσεις του πρόσθιου θαλάμου.

Μόνο με την ανακάλυψη του οφθαλμοσκοπίου ήταν δυνατόν να παρατηρηθούν οι αλλαγές στην κεφαλή του οπτικού νεύρου που είχαν σχέση με το γλαύκωμα. Ο von Graefe επινόησε τον όρο «κοίλανση από πίεση». Αυτή η οφθαλμοσκοπική αρχή επιβεβαιώθηκε (ενισχύθηκε) από παθολογοανατομικές εξετάσεις που έγιναν από τον Heinrich Muller. Ο Edward Jaeger και ο Isidor Schnabel υποστήριζαν την υπόθεση ότι το γλαύκωμα χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένη ασθένεια του οπτικού νεύρου.

Γρήγορα έγινε φανερό ότι η ιριδεκτομή δε μπορούσε να θεραπεύσει όλους τους τύπους του γλαυκώματος. Ο von Graefe ήδη είχε προσέξει ότι μια κυστοειδής ουλή θα πρόσφερε συγκεκριμένα πλεονεκτήματα για να ρυθμιστεί η ΕΟΠ. Η σκληροτομή αρχικά προτάθηκε από τον L. de Wecker το 1869. χειρουργοί τότε προσπάθησαν να διατηρήσουν το τραύμα σιόπιμα ανοικτό, είτε με αναδίπλωση του επιπεφυκότα (H. Herbert, 1903), είτε με εγκλωβισμό της ιριδας (George Critchett από το Λονδίνο το 1858 και H. Holth από το Όσλο το 1904). Τελικά, η Ιριδοσκληρεκτομή επινοήθηκε από τον Pierre Lagrange στο Παρίσι το 1905 και η εγχείρηση τρυπανώσεως από τον Robert H. Elliot από το Μανδράς στις Ινδίες. Η θερμοσκληροτομή αρχικά περιγράφηκε από τον Luigi Preziosi από τη Μάλτα το 1924 και αργότερα τροποποιήθηκε και έγινε δημοφιλής από τον Harold Scheie από τη Φιλαδέλφεια το 1958.

Η ιατρική θεραπεία του γλαυκώματος άρχισε με εσερίνη, η οποία προέρχεται από το φασόλι Calabar της Δυτικής Αφρικής. Αυτό το φάρμακο αναγνωρίστηκε αρχικά ως μυωτικό και εχρησιμοποιείτο για τη θεραπεία της πρόπτωσης της ιριδας. Το 1876, ο L. Laqueur από το Στρασβούργο και ο A. Weber από την Darmstadt ήταν οι πρώτοι που χρησιμοποίησαν εσερίνη για να θεραπεύσουν το γλαύκωμα. Το αλκαλοειδές πιλοκαρπίνη απομονώθηκε το 1875. για πρώτη φορά

χρησιμοποιήθηκε τοπικώς από τον Tweedy από το Λονδίνο (1875) και από τον Weber (1876) σε μια προσπάθεια να μειωθεί η ΕΟΠ. ¹

Όπως φαίνεται λοιπόν τόσο ο ορισμός όσο και η θεραπεία του γλαυκώματος έχουν περάσει και εξακολουθούν, ακόμη και στις μέρες μας, να περνούν από πολλές φάσεις. Καινούργιες παρατηρήσεις και νέες τεχνολογίες έρχονται να προσθέσουν από λίγο η κάθε μια στην κατανόηση αρχικά και στην αντιμετώπιση τελικά της πολυπαραγοντικής αυτής νόσου.

Η εξέταση των οπτικών πεδίων με το περίμετρο του Goldmann αρχικά, και με την εξέλιξη της αυτόματης περιμετρίας αργότερα (π.χ. με τα περίμετρα Octopus και Humphrey), έχει καταστήσει δυνατή τη σταδιοποίηση και μελέτη της εξέλιξης της γλαυκωματικής βλάβης στον κάθε ασθενή.

Νέα τονόμετρα που λαμβάνουν υπ' όψιν τους περισσότερες παραμέτρους πέρα από την ενδοφθάλμια πίεση (π.χ. τις μηχανικές ιδιότητες του κερατοειδή) είναι στη διάθεση των οφθαλμιάτρων για την όσο πιο δυνατόν ακριβέστερη μέτρηση της ΕΟΠ.

Το κεντρικό πάχος του κερατοειδούς (παχυμετρία) έχει μπει και αυτό στην καθημερινότητα των οφθαλμιάτρων προσφέροντας ένα ακόμη κριτήριο για τη σταδιοποίηση και το χαρακτηρισμό των πρώιμων κυρίως βλαβών.

Τα OCT και Gdx προσφέρουν μια πολύ πιο αντικειμενική εκτίμηση της γλαυκωματικής βλάβης και της εξέλιξής της με την μελέτη της κεφαλής του οπτικού νεύρου και της στιβάδας των νευρικών ινών.

Νέα φάρμακα με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα, ευκολότερο δοσολογικό σχήμα και λιγότερες παρενέργειες έκαναν την εμφάνισή τους και έχουν περιορίσει σημαντικά τον αριθμό των ασθενών που οδηγούνται τελικά στην χειρουργική αντιμετώπιση. (π.χ. η οικογένεια των προσταγλανδινών όπως η λατανοπρόστη, βιματοπρόστη κλπ).

Και οι χειρουργικές επεμβάσεις έχουν εξελιχθεί, με νέες τεχνικές (π.χ. viscocanalostomy) που εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό επιπλοκών

και αποτελεσματικότερη μείωση της ΕΟΠ για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Ο τομέας της Γενετικής είναι ό,τι πιο νέο και ελπιδοφόρο ίσως αυτή τη στιγμή στην προσπάθεια της κατανόησης του μηχανισμού και της αντιμετώπισης, στη συνέχεια, του γλαυκώματος. Έχουν αναγνωριστεί και ταυτοποιηθεί αρκετά γονίδια και μεταλλάξεις τους, που σχετίζονται με το γλαύκωμα. Ένα από αυτά, το γονίδιο της Μυοσιλίνης και η T377M μεταλλαγή του θα αποτελέσουν το αντικείμενο της παρούσας διατριβής.

Ελπίδα και ευχή όλων μας είναι, κάποια στιγμή, ίσως σε βάθος δεκαετίας, η γονιδιακή θεραπεία να μπορέσει να αποδώσει απλά, οικονομικά και αποτελεσματικά την οριστική θεραπεία αυτής της σοβαρής ασθένειας.

2. ΤΟ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΩΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ

Το γλαύκωμα αποτελεί τη δεύτερη πιο κοινή αιτία τύφλωσης στον κόσμο. Υπολογίζεται ότι 4,5 εκατομμύρια άνθρωποι ανά την υφήλιο είναι τυφλοί λόγω γλαυκώματος και ότι αυτός ο αριθμός θα φτάσει τα 11,2 εκατομμύρια ως το 2020. Αξίζει να σημειωθεί ότι λόγω της σιωπηλής προόδου της ασθένειας - τουλάχιστον στα πρώτα της στάδια- ως και το 50% των ασθενών, στις ανεπτυγμένες χώρες, δεν γνωρίζουν ότι έχουν γλαύκωμα. Αυτός ο αριθμός μπορεί να ανέλθει ως και στο 90% στις υπανάπτυκτες περιοχές του κόσμου.²

Το γλαύκωμα είναι σημαντική αιτία τύφλωσης στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Είναι το πιο συχνό αίτιο τύφλωσης στους μαύρους Αμερικανούς και το τρίτο σε συχνότητα στους λευκούς, ενοχοποιούμενο, συνολικά στις ΗΠΑ, για το 12 –15 % των περιπτώσεων τύφλωσης. Περίπου 80.000 Αμερικανοί είναι "νομικά τυφλοί" λόγω γλαυκώματος, ορίζοντας νομικά ως τυφλότητα, "οπτική οξύτητα μικρότερη ή ίση με 1/10 στον καλύτερο οφθαλμό με διόρθωση ή οπτικό πεδίο στενότερο από 20° στην πιο ευρεία του διάμετρο".

Στις ΗΠΑ το ΠΓΑΓ αποτελεί, με μεγάλη διαφορά, τη συχνότερη μορφή γλαυκώματος, περιλαμβάνοντας το 60-70 % των γλαυκωμάτων που εκδηλώνονται στους ενήλικες.

Κάθε χρόνο στις ΗΠΑ προστίθενται 5.500 νομικά τυφλοί. Σχεδόν 900.000 άτομα στις ΗΠΑ εμφανίζουν προβλήματα όρασης εξαιτίας του γλαυκώματος (χρόνια ή μόνιμη μείωση της όρασης). Τουλάχιστον δύο εκατομμύρια Αμερικανών έχουν γλαύκωμα ή συναφείς καταστάσεις και ίσως οι μισοί περίπου το αγνοούν. Πέντε με δέκα εκατομμύρια Αμερικανών έχουν αυξημένη ΕΟΠ, γεγονός που τους θέτει σε ομάδα υψηλότερου κινδύνου για γλαυκωματικές βλάβες του οπτικού νεύρου. Στις ΗΠΑ πραγματοποιούνται περισσότερες από τρία εκατομμύρια επισκέψεις το χρόνο για την παρακολούθηση του γλαυκώματος, και περισσότεροι από ένα εκατομμύριο ασθενείς υποβάλλονται σε θεραπεία. Σύμφωνα με δειγματοληπτικές

στατιστικές, τα άμεσα έξοδα για την αντιμετώπιση του γλαυκώματος ξεπέρασαν τα 440 εκατομμύρια δολάρια το 1977 και υπολογίζεται ότι χάθηκαν 1,3 δισεκατομμύρια δολάρια εξαιτίας της μειωμένης παραγωγικότητας. Ακόμα και αν υποθεθεί ότι αυτοί οι υπολογισμοί είναι κατά προσέγγιση, είναι φανερό ότι το γλαύκωμα αποτελεί ένα πολύ σημαντικό δημόσιο πρόβλημα υγείας.^{3,4}

Στην Ελλάδα σύμφωνα με τα τελευταία στοιχεία, όπως αυτά προκύπτουν από τη Thessaloniki Eye Study, [Γορουνίς F. et al, Am J Ophthalmol. 2007 Oct; 144(4):511-9] η συχνότητα του γλαυκώματος ανοικτής γωνίας στο γενικό πληθυσμό είναι 3,8 % σύμφωνα με τον ορισμό 1 και 5,5 % σύμφωνα με τον ορισμό 2.⁵

Ο ορισμός 1 βασίστηκε στην παρουσία γλαυκωματικής κοίλανσης στον οπτικό δίσκο και επιβεβαιωμένης γλαυκωματικής βλάβης στα οπτικά πεδία των ασθενών.

Ο ορισμός 2 περιελάμβανε και άτομα για τα οποία η κλινική εξέταση ήταν σαφώς υπέρ της ύπαρξης γλαυκώματος, ακόμη και αν τα αυστηρά κριτήρια δεν εκπληρώνονταν στο σύνολό τους.

Η συχνότητα του ΠΓΑΓ ήταν 2,7 % και 3,8 % και η συχνότητα του ΨΑΓ ήταν 1,1 % και 1,7 % σύμφωνα με τους ορισμούς 1 και 2 αντίστοιχα. Ψευδοαποφολίδωση είχε το 11,9 % των συμμετεχόντων στη μελέτη και το 15,2 % από τους ψευδοαποφολιδωτικούς είχε ΨΑΓ.

Συμπερασματικά, η συχνότητα του γλαυκώματος ανοικτής γωνίας στη Thessaloniki Eye Study (TES), είναι παρόμοια ή ελαφρώς υψηλότερη συγκρινόμενη με άλλες πληθυσμιακές μελέτες που έγιναν σε λευκούς. Η συνολικά ελαφρώς υψηλότερη συχνότητα του γλαυκώματος ανοικτής γωνίας στην TES συγκριτικά με τις άλλες μελέτες μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή συχνότητα του ΨΑΓ στην TES.

Αντίστοιχες είναι λοιπόν οι κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις του γλαυκώματος στην Ελληνική κοινωνία, αν και δεν υπάρχουν προς τον παρόν ειδικές μελέτες.

3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΟΡΟΛΟΓΙΑ (EUROPEAN GLAUCOMA SOCIETY)

Όλα τα είδη του γλαυκώματος κατατάσσονται σε **πρωτοπαθή** και **δευτεροπαθή** ανάλογα με:

- τη γωνία του προσθίου θαλάμου κατά τη γωνιοσκοπία
- τα ευρήματα από τη μορφολογία της κεφαλής του οπτικού νεύρου κατά τη βυθοσκόπηση
- τις βλάβες στα οπτικά πεδία
- τους κύριους παράγοντες κινδύνου:
 - ενδοφθάλμια πίεση (ΕΟΠ)
 - ηλικία
 - αγγειακούς παράγοντες κινδύνου: τοπικούς και συστηματικούς
 - χαμηλή διαστολική πίεση διάχυσης
 - φυλή (κυρίως Afro-Caribbean)
- συνυπάρχουσες καταστάσεις
 - * οφθαλμικές
 - * εξω-οφθαλμικές

επιπρόσθετα χρήσιμα κλινικά στοιχεία

-αρτηριακή πίεση	-κάπνισμα
-αριθμός σφύξεων	-αλκοόλ
-σάκχαρο αίματος*	-οικογενειακό ιστορικό
-λιπίδια αίματος	απώλειας όρασης
-ημικρανία	-οικογενειακό ιστορικό
-κρύα χέρια, Raynaud's	γλαυκώματος
-νευρολογικές νόσοι	-ιστορικό απώλειας αίματος
-νόσος θυροειδούς	-ιστορικό νεφρικής νόσου

*ο ρόλος του σακχαρώδους διαβήτη ως παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη ΠΓΑΓ είναι αμφιλεγόμενος.

3.1 ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΙΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΜΟΡΦΕΣ

3.1.1-ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ

αιτιολογία: δυσγενεσία της γωνίας

παθομηχανισμός: μειωμένη εκροή υδατοειδούς υγρού

χαρακτηριστικά:

έναρξη: από τη γέννηση μέχρι το δεύτερο έτος της ζωής

κληρονομικότητα: συνήθως σποραδική, συνήθως (μέχρι 10%)

υπολειπόμενη με ποικίλη διεισδυτικότητα

φύλο: πιο συχνό στους άρρενες (65%)

μεταλλάξεις έχουν διαπιστωθεί στο γονίδιο CYP1B1 (2p22-2p21)

κλινικά σημεία και συμπτώματα:

φωτοφοβία, δακρύρροια, βλεφαρόσπασμος, τρίψιμο των ματιών

ΕΟΠ υπό γενική αναισθησία: ανεπαρκής από μόνη της να επιβεβαιώσει

τη διάγνωση, εκτός εάν είναι υπερβολικά υψηλή, καθώς η γενική

αναισθησία μπορεί να μειώσει την ΕΟΠ.

Κερατική διάμετρος > 11 mm (βούφθαλμος)

Οίδημα κερατοειδούς (+/- ρήξεις της Δεσκεμετείου μεμβράνης.)

Κεφαλή του οπτικού νεύρου: pressure distension/uniform cup

enlargement (CDR >0.3)

γωνιοσκοπία: ανοικτή γωνία

δομικά στοιχεία γωνίας ανεπαρκώς διαφοροποιημένα

τραμπεκουλοδυσγένεση (περιλαμβανομένης της μεμβράνης

του Barkan)

πρόσθια εισολκή της ίριδας

3.1.2- ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΒΡΕΦΙΚΟ (INFANTILE) ΓΛΑΥΚΩΜΑ /

πρωτοπαθές συγγενές γλαύκωμα όψιμης έναρξης

αιτιολογία: δυσγενεσία της γωνίας

παθομηχανισμός: μειωμένη εκροή υδατοειδούς υγρού

χαρακτηριστικά:

έναρξη: τρίτο με δέκατο έτος της ζωής

κληρονομικότητα: συνήθως σποραδική, μέχρι 10% υπολειπόμενη με

ποικίλη διεισδυτικότητα

κλινικά σημεία και συμπτώματα:

πόνος ασυνήθης, συνήθως εμφανίζεται αργά με συμπτώματα απώλειας

οπτικών πεδίων

μέγιστη ΕΟΠ: > 24 mm Hg χωρίς αγωγή

κερατοειδής: διάμετρος: < 11 mm (όχι βούφθαλμος, όχι οίδημα

κερατοειδούς)

Κεφαλή του οπτικού νεύρου: pressure distension/cup enlargement με

διάχυτη βλάβη του rim

γωνιοσκοπία: ανοικτή γωνία

δομικά στοιχεία γωνίας ανεπαρκώς διαφοροποιημένα

τραμπεκουλοδυσγένεση

πρόσθια εισολκή της ίριδας

3.1.3 - ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΣΥΝΔΕΟΜΕΝΟ ΜΕ ΣΥΤΤΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

- α. ανιριδία
- β. σύνδρομο Sturge-Weber
- γ. νευροϊνωμάτωση
- δ. σύνδρομο Marfan
- ε. σύνδρομο Pierre Robin
- στ. ομοκυστινουρία
- ζ. γωνιοδυσγενεσία ζ1: σύνδρομο Axenfeld-Rieger
ζ2: ανωμαλία του Peter's
- η. σύνδρομο Lowe's
- θ. μικροσφαιροφακία
- ι. μικροκερατοειδής
- κ. ερυθρά
- λ. χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- μ. broad thumb syndrome
- ν. παραμένον υπερπλαστικό πρωτογενές υαλώδες

3.2 - ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ

Ορισμός.

Τα γλαυκώματα ανοικτής γωνίας είναι χρόνιες προσοδευτικές οπτικές νευροπάθειες, που έχουν κοινές χαρακτηριστικές μορφολογικές αλλαγές στην κεφαλή του οπτικού νεύρου και στη στιβάδα των νευρικών ινών, απουσία άλλης οφθαλμικής νόσου ή συγγενών ανωμαλιών. Προοδευτικός θάνατος των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς και απώλεια οπτικών πεδίων συνδέονται με αυτές τις αλλαγές.

Ο σχετικός κίνδυνος για ΠΓΑΓ αυξάνεται συνεχώς, αυξανόμενης της ενδοφθάλμιας πίεσης (ΕΟΠ), και δεν υπάρχει ένδειξη για την ύπαρξη κάποιου ουδού ΕΟΠ για την έναρξη της κατάστασης. Εικάζεται ότι παράγοντες κινδύνου, διαφορετικοί από την ΕΟΠ, έχουν σχετικά μεγαλύτερη σημασία εάν υπάρχει γλαυκωματική οπτική νευροπάθεια στα χαμηλότερα (στατιστικά «φυσιολογικά») επίπεδα ενδοφθάλμιας πίεσης.

Το ΠΓΑΓ έχει αυθαίρετα υποδιαιρεθεί σε Υψηλής Πίεσης και Φυσιολογικής Πίεσης, αντικατοπτρίζοντας τα παραπάνω, αν και τα δύο μπορεί να αντιπροσωπεύουν ένα φάσμα οπτικών νευροπαθειών κυμαινόμενης ευαισθησίας στην ΕΟΠ.

**Παράγοντες Κινδύνου σχετιζόμενοι με αυξημένη επίπτωση
γλαυκωματικής βλάβης.**

- γλαυκωματική βλάβη στο άλλο μάτι
- ΕΟΠ
- Ηλικία
- Φυλή
- Λεπτός κερατοειδής
- Ψευδοαποφολίδωση
- Μυωπία >4 διοπτρίες
- Αγγειακοί παράγοντες κινδύνου:
 - Τοπικοί:
 - αιμορραγία οπτικού δίσκου, σχετιζόμενη επίσης με επιδείνωση της βλάβης
 - περιθηλαία ατροφία, σχετιζόμενη επίσης με επιδείνωση της βλάβης
 - Συστηματικοί:
 - εγκεφαλική νόσος
 - καρδιοαγγειακή νόσος
 - αγγειόσπασμος: κρύα χέρια και πόδια
φαινόμενα Raynaud's
ημικρανία
 - συστηματική υπόταση με νυκτερινή πτώση της πίεσης
 - χαμηλή πίεση διήθησης
 - υπερχοληστερολαιμία / υπερλιπιδαιμία
- Οικογενειακό ιστορικό γλαυκώματος σε συγγενείς 1^{ου} βαθμού
- Σακχαρώδης διαβήτης: ο ρόλος του είναι αμφιλεγόμενος

3.2.1 – ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΝΕΑΝΙΚΟ ΓΛΑΥΚΩΜΑ

Αιτιολογία: Άγνωστη

Παθομηχανισμός: Μειωμένη εκροή υδατοειδούς υγρού

Χαρακτηριστικά:

Έναρξη: 10ο έως 35ο έτος της ζωής

Κληρονομικότητα: **οικογενειακό ιστορικό μπορεί να υπάρχει. Γονίδια που σχετίζονται με το πρωτοπαθές νεανικό γλαύκωμα έχουν ταυτοποιηθεί στο χρωμόσωμα 1 (1q24-q25) MYOC^{7,8} (κληρονομικότητα κατά τον επικρατούντα χαρακτήρα)**

Κλινικά σημεία και συμπτώματα:

Ασυμπτωματικό

Μέγιστη ΕΟΠ > 21 mm Hg χωρίς θεραπεία (ημερήσια καμπύλη πίεσης)

Κεφαλή οπτικού νεύρου: διάχυτη βλάβη του rim τυπική. Κάθε τύπος ΟΝΗ γλαυκωματικής βλάβης είναι πιθανός.

Στιβάδα των νευρικών ινών: τυπικές διάχυτες βλάβες

Οπτικά πεδία: γλαυκωματικές βλάβες μπορεί να είναι παρούσες

Γωνιοσκοπία: γωνία προσθίου θαλάμου ευρεία (ανοικτή)

3.2.2 – ΠΙΘΑΝΟΛΟΓΟΥΜΕΝΟ ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΝΕΑΝΙΚΟ ΓΛΑΥΚΩΜΑ (SUSPECT)

Αιτιολογία: Άγνωστη

Παθομηχανισμός: Άγνωστος

Χαρακτηριστικά:

Έναρξη: 10ο έως 35ο έτος της ζωής

Δεν υπάρχουν δομικές ή λειτουργικές βλάβες με φυσιολογικό οπτικό δίσκο, στιβάδα νευρικών ινών και οπτικά πεδία

Κληρονομικότητα: **οικογενειακό ιστορικό μπορεί να υπάρχει. Γονίδια που σχετίζονται με το πρωτοπαθές νεανικό γλαύκωμα έχουν ταυτοποιηθεί στο χρωμόσωμα 1 (1q24-q25) και σε μεταλλαγή της MYOC^{7,8}**

ΚΑΙ

Είτε I:

Μέγιστη ΕΟΠ: > 31mm Hg (χωρίς αγωγή)

Είτε II:

Τουλάχιστον δύο από τους ακόλουθους παράγοντες κινδύνου:

A) Μέγιστη ΕΟΠ 22 mm Hg έως 30 mm Hg

B) Διαφορά ΕΟΠ > 4 mm Hg ανάμεσα στα δύο μάτια

Γ) οικογενειακό ιστορικό γλαυκώματος

Δ) έκδηλο νεανικό γλαύκωμα στο άλλο μάτι

3.2.3 – ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ/ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (ΠΓΑΓ/ΗΡΓ)

βλέπε εισαγωγή και 3.2

Αιτιολογία: Άγνωστη στο μεγαλύτερο ποσοστό. Τελευταία έχουν συσχετισθεί γονίδια και μεταλλάξεις τους

Παθομηχανισμός: Άγνωστος. **Μεταλλάξεις του γονιδίου MYOC συσχετίζονται σε ποσοστό ~5%^{7,8}**

Χαρακτηριστικά:

Έναρξη: από το 35^ο έτος της ζωής και πάνω

Κλινικά σημεία και συμπτώματα:

Ασυμπτωματικό μέχρι εμφάνισης προχωρημένων απωλειών στα οπτικά πεδία

ΕΟΠ > 21 mm Hg χωρίς θεραπεία (ημερήσια καμπύλη πίεσης)

Κεφαλή οπτικού νεύρου: επίκτητες χαρακτηριστικές

γλαυκωματικές βλάβες και/ή αλλαγές στη στιβάδα των νευρικών ινών (διάχυτες ή εντοπισμένες βλάβες)

Οπτικά πεδία: συνήθως ανιχνεύσιμες γλαυκωματικές αλλοιώσεις, που αντιστοιχούν στις βλάβες του οπτικού δίσκου, μπορεί να εμφανίζονται.

Γωνιοσκοπία: ανοικτή γωνία προσθίου θαλάμου (χωρίς γωνιοδυσγένεση, μη δυνάμενη να κλείσει).

3.2.4- ΠΙΘΑΝΟΛΟΓΟΥΜΕΝΟ ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (ΠΓΑΓ/ ΗΡΓ SUSPECT)

βλέπε εισαγωγή και 3.2

Αιτιολογία: Άγνωστη

Παθομηχανισμός:

Άγνωστος

Χαρακτηριστικά:

Οπτικά πεδία και/ή οπτικός δίσκος και/ή στιβάδα νευρικών ινών φυσιολογική ή ύποπτη, με τουλάχιστον ένα ύποπτο στοιχείο από τα παραπάνω

Μέγιστη ΕΟΠ > 21 mm Hg < 30 mm Hg χωρίς θεραπεία (ημερήσια καμπύλη πίεσης)

Γωνιοσκοπία: ανοικτή γωνία προσθίου θαλάμου

Παράγοντες κινδύνου που πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν:

Διαφορά ΕΟΠ > 4 mm Hg μεταξύ των δύο οφθαλμών

Τιμή της μέγιστης ΕΟΠ

Κάθε άλλος αγγειακός παράγοντας κινδύνου για γλαυκωματική οπτική νευροπάθεια

ΠΓΑΓ στο άλλο μάτι

ΑΙΟΝ στο άλλο μάτι (αρτηριτιδική ισχαιμική οπτική νευροπάθεια)

Σημείωση

Η ψευδοαποφολίδωση και η διασπορά χρωστικής είναι παράγοντες κινδύνου για δευτεροπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας.

Η υψηλή ΕΟΠ έχει ενοχοποιηθεί αλλά δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι αιτιολογικός παράγων για απόφραξη φλέβας, ειδικά σε ασθενείς με αρτηριακή υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία και παχυσαρκία.

3.2.5 – ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ/ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (ΠΓΑΓ/ΝΡΓ)

βλέπε εισαγωγή και 3.2

Αιτιολογία: Άγνωστη

Παθομηχανισμός: Άγνωστος. Μεταλλαγή του γονιδίου της Οπτινευρίνης έχει βρεθεί σε οικογένειες με ΝΡΓ

Χαρακτηριστικά:

Έναρξη: από το 35^ο έτος της ηλικίας και πάνω

Κλινικά σημεία και συμπτώματα:

Ασυμπτωματικό μέχρι εμφάνισης προχωρημένων αλλοιώσεων στα οπτικά πεδία

Μέγιστη ΕΟΠ < 22 mm Hg χωρίς θεραπεία (ημερήσια καμπύλη πίεσης)

Τυπική γλαυκωματική βλάβη της κεφαλής του οπτικού νεύρου

Αιμορραγία του οπτικού δίσκου

Τυπικές γλαυκωματικές αλλοιώσεις στα οπτικά πεδία, κοινές π αράκεντρες βλάβες

Γωνιοσκοπία: ανοικτή γωνία προσθίου θαλάμου(αποκλείστε διαλείπον κλείσιμο της γωνίας)

Απουσία ιστορικού ή κλινικών σημείων άλλης οφθαλμικής νόσου ή λήψης στεροειδών.

Σκέψη για μέτρηση κεντρικού πάχους κερατοειδούς εάν τα ευρήματα δεν ταιριάζουν

3.2.6 – ΠΓΑΓ/ΠΙΘΑΝΟΛΟΓΟΥΜΕΝΟ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (ΡΟΑΓ/NPG-SUSPECT)

Αιτιολογία: Άγνωστη

Παθομηχανισμός: Άγνωστος

Χαρακτηριστικά:

Κλινικά σημεία και συμπτώματα:

Οπτικά πεδία: φυσιολογικά ή ύποπτα

Οπτικός δίσκος και/ή σιβάδα νευρικών ινών: ευρήματα όχι
διαγνωστικά αλλά συμβατά με τη διάγνωση του γλαυκώματος

Μέγιστη ΕΟΠ: < 22 mm Hg χωρίς θεραπεία (ημερήσια καμπύλη
πίεσης ή επαναλαμβανόμενες μετρήσεις)

Γωνιοσκοπία: γωνία προσθίου θαλάμου ανοικτή (αποκλεισμός
διαλείποντος κλεισίματος της γωνίας)

Παράγοντες κινδύνου που πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν:

Διαφορά ΕΟΠ > 4 mm Hg ανάμεσα στα δύο μάτια

Κάθε άλλος αγγειακός παράγοντας κινδύνου για γλαυκωματική οπτική
νευροπάθεια

Γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης στο άλλο μάτι

Σκέψη για μέτρηση κεντρικού πάχους κερατοειδούς εάν τα
ευρήματα δεν ταιριάζουν

3.2.7 ΟΦΘΑΛΜΙΚΗ ΥΠΕΡΤΟΝΙΑ (OCULAR HYPERTENSION, OH)

Αιτιολογία: Άγνωστη

Παθομηχανισμός: Άγνωστος

Χαρακτηριστικά:

Κλινικά σημεία και συμπτώματα:

Μέγιστη ΕΟΠ > 21 mm Hg χωρίς θεραπεία (ημερήσια καμπύλη πίεσης)

Οπτικά πεδία: φυσιολογικά

Οπτικός δίσκος και στιβάδα νευρικών ινών: φυσιολογική

Γωνιοσκοπία: γωνία προσθίου θαλάμου ανοικτή (αποκλεισμός διαλείποντος κλεισίματος της γωνίας)

Απουσία ιστορικού ή κλινικών σημείων άλλης οφθαλμικής νόσου ή λήψης στεροειδών.

Άλλοι παράγοντες κινδύνου: κανένας

Η υψηλή ΕΟΠ έχει ενοχοποιηθεί αλλά δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι αιτιολογικός παράγων για απόφραξη φλέβας, ειδικά σε ασθενείς με αρτηριακή υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία και παχυσαρκία.

Σκέψη για μέτρηση κεντρικού πάχους κερατοειδούς εάν τα ευρήματα δεν ταιριάζουν)

Αν και στο παρελθόν έχει χρησιμοποιηθεί ως διάγνωση, και ακόμη και τώρα γίνεται διαχωρισμός για ερευνητικούς και για σιοπούς ταξινόμησης, ο όρος οφθαλμική υπερτονία (OH) θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο για να καταδεικνύει ότι η ΕΟΠ είναι συνεχώς δύο σταθερές αποκλείσεις από το φυσιολογικό μέσο όρο, έχοντας όλα τα άλλα οφθαλμικά ευρήματα μέσα στα φυσιολογικά όρια.

3.3 - ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ

Χαρακτηρίζονται από υψηλή ΕΟΠ που προκαλεί τυπική γλαυκωματική οπτική νευροπάθεια και απώλεια οπτικών πεδίων, προκαλούμενη από οφθαλμικές ή μη οφθαλμικές νόσους, φάρμακα και θεραπείες. Εκτίμηση της γλαυκωματικής βλάβης στην οπτική λειτουργία, περιλαμβανομένης και της εξέτασης των οπτικών πεδίων, μπορεί να είναι δύσκολη λόγω των υποκείμενων οφθαλμικών ασθενειών ή της περίπλοκης κλινικής εικόνας.

Η ακόλουθη ταξινόμηση βασίζεται πρωταρχικά στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς.

Όταν δεν ανευρίσκεται προφανής αιτιολογία και παθοφυσιολογικός μηχανισμός η διάγνωση θα πρέπει να κατευθύνεται προς το πρωτοπαθές γλαύκωμα.

Στα δευτεροπαθή γλαυκώματα ανοικτής γωνίας η γωνία του προσθίου θαλάμου είναι ανοικτή πλέον των 270° .

Σε πολλές μορφές δευτεροπαθούς γλαυκώματος οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί οδηγούν τόσο σε δευτεροπαθές γλαύκωμα όσο και σε γλαύκωμα κλειστής γωνίας. Είναι φανερό ότι ο αριθμός των συνδυασμών είναι πολύ υψηλός, οπότε κάθε περίπτωση πρέπει να εκτιμάται εξατομικευμένα.

Παρακάτω θα αναφερθούν επιγραμματικά τα είδη του δευτεροπαθούς γλαυκώματος ανοικτής γωνίας.

3.3.1 - ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΑ ΑΠΟ ΟΦΘΑΛΜΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

- 3.3.1.1 Ψευδοαποφολιδωτικό Γλαύκωμα (PEX)⁹
- 3.3.1.2 Χρωστικοφόρο Γλαύκωμα^{9,10,11}
- 3.3.1.3 Φακογενές Δευτεροπαθές Γλαύκωμα Ανοικτής Γωνίας
- 3.3.1.4 Γλαύκωμα σχετιζόμενο με ενδοφθάλμια αιμορραγία
- 3.3.1.5 Γλαύκωμα από Ραγοειδίτιδα²²
- 3.3.1.6 Γλαύκωμα οφειλόμενο σε ενδοφθάλμιους όγκους
- 3.3.1.7 Γλαύκωμα σχετιζόμενο με αποκόλληση αμφιβληστροειδούς²⁰
- 3.3.1.8 Γλαύκωμα οφειλόμενο σε οφθαλμικό τραύμα

3.3.2 – ΙΑΤΡΟΓΕΝΗ ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ

- 3.3.2.1 Γλαύκωμα οφειλόμενο σε θεραπεία με στεροειδή (Κορτιζονικό)^{7,8,9}
- 3.3.2.2 Δευτεροπαθές Γλαύκωμα Ανοικτής Γωνίας οφειλόμενο σε οφθαλμική χειρουργική επέμβαση και laser¹⁹

3.3.3 - ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΑ ΑΠΟ ΜΗ ΟΦΘΑΛΜΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

- 3.3.3.1 Γλαύκωμα προκαλούμενο από αυξημένη επισκληρική φλεβική πίεση

3.4 - ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ

Πρωτοπαθές γλαύκωμα κλειστής γωνίας είναι το κλείσιμο της γωνίας του προσθίου θαλάμου λόγω ιριδοκερατικής επαφής ή λόγω συνεχειών και οφείλεται σε έναν αριθμό πιθανών μηχανισμών. Αυτό μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα αύξηση της ΕΟΠ και μπορεί να προκαλέσει δομικές αλλαγές στον οφθαλμό¹⁴⁻¹⁵.

Τα γλαυκώματα κλειστής γωνίας υποδιαιρούνται κλινικά σε οξείες και σε χρόνιες μορφές. Ο παθογενετικός τους μηχανισμός ωστόσο είναι πολλαπλός και ποικίλλει αναλόγως της υποκείμενης κατάστασης. Εξ' ορισμού στο οξύ γλαύκωμα κλειστής γωνίας η γωνία του προσθίου θαλάμου είναι κλειστή λόγω ιριδοκερατικής επαφής η οποία είναι αναστρέψιμη, ενώ στο χρόνιο γλαύκωμα κλειστής γωνίας το κλείσιμο της γωνίας είναι μη αναστρέψιμο λόγω περιφερικών πρόσθιων συνεχειών¹⁴⁻¹⁵.

3.4.1 - ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ (PAC)

3.4.1.1 - Οξύ πρωτοπαθές γλαύκωμα κλειστής γωνίας

3.4.1.2 - Διαλείπον (intermittent) γλαύκωμα κλειστής γωνίας (IACG)

3.4.1.3 - Χρόνιο γλαύκωμα κλειστής γωνίας (CACG)

3.4.2 – ΣΤΑΔΙΟ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΡΙΣΗ ΟΞΕΩΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ

3.4.3– Η ΔΥΝΑΜΕΝΗ ΝΑ ΚΛΕΙΣΕΙ ΓΩΝΙΑ (ACR, Angle-Closure Risk)

3.5 - ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ

Κλινικά και αυτά διαιρούνται σε οξείες και σε χρόνιες μορφές, ο παθογενετικός μηχανισμός είναι και εδώ πολύπλοκος, και εξ' ορισμού στις οξείες μορφές το κλείσιμο της γωνίας είναι αναστρέψιμο (λόγω ιριδοκερατικής επαφής που δύναται να λυθεί) ενώ στις χρόνιες είναι μη αναστρέψιμο λόγω ύπαρξης πρόσθιων περιφερικών συνεχειών¹⁴⁻¹⁵.

3.5.1 – ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ ΜΕ ΚΟΡΙΚΟ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟ

3.5.2 - ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ ΜΕ ΠΡΟΣΘΙΟ «ΕΛΚΥΣΤΙΚΟ» (PULLING) ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΧΩΡΙΣ ΚΟΡΙΚΟ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟ

3.5.3 - ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ ΜΕ ΟΠΙΣΘΙΟ «ΩΘΗΤΙΚΟ» (PUSHING) ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΧΩΡΙΣ ΚΟΡΙΚΟ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟ

3.5.3.1 – Εσφαλμένη κατεύθυνση του υδατοειδούς (block ακτινωτού ή κακώθητες γλαύκωμα)¹³

3.5.3.2 – Κύστεις της ιριδας και του ακτινωτού, ενδοφθάλμιοι όγκοι

3.5.3.3 – Ένθεση ελαίου σιλικόνης ή αερίου στην υαλοειδική κοιλότητα

3.5.3.4 – Ραγοειδική διάχυση οφειλόμενη σε:

α) φλεγμονή όπως σε σκληρίτιδα, ραγοειδίτιδα, HIV²¹

β) αυξημένη χοριοειδική φλεβική πίεση όπως σε νανόφθαλμο, σκληρικό buckling, παναμφιβληστροειδική φωτοπηξία, απόφραξη κεντρικής φλέβας του αμφιβληστροειδούς, αρτηριοφλεβώδη επικοινωνία.

γ) όγκο

3.5.3.5 – Αμφιβληστροειδοπάθεια της προωρότητας (στάδιο 5)

3.5.3.6 – Συγγενείς ανωμαλίες που μπορούν να σχετιστούν με δευτεροπαθές γλαύκωμα (οικογενής υποπλασία της ιριδας,

ανώμαλα επιφανειακά αγγεία της ίριδας, ανιριδία, σύνδρομο Sturge- Weber, νευροϊνωμάτωση, σύνδρομο Marfan, σύνδρομο Pierre Robin, σύνδρομο Lowe, ομοκυστινουρία, γωνιοδυσγένεση, μικροκερατοειδής, μικροσφαιροφακία, ερυθρά, παραμένον υπερπλαστικό υαλοειδές, broad thumb syndrome).

4. ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΤΟ ΓΛΑΥΚΩΜΑ

Εισαγωγή

Όπως έχει προαναφερθεί, ο όρος γλαύκωμα περιγράφει μια ετερογενή ομάδα οπτικών νευροπαθειών που οδηγούν σε ατροφία του οπτικού νεύρου και μη αναστρέψιμη απώλεια της όρασης. Πρόκειται για τη δεύτερη πιο συχνή αιτία μόνιμης και μη αναστρέψιμης τύφλωσης στον αναπτυγμένο κόσμο. Σε παγκόσμιο επίπεδο έχει υπολογιστεί ότι περίπου 66,8 εκατομμύρια άνθρωποι πάσχουν από γλαύκωμα και 6,8 εκατομμύρια παρουσιάζουν αμφοτερόπλευρη τύφλωση²³. Το πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (ΠΓΑΓ) είναι ο πιο συνήθης από τους τύπους γλαυκώματος, και υπολογίζεται ότι περίπου το 1,6% των ατόμων ηλικίας άνω των 40 ετών προσβάλλεται από ΠΓΑΓ²⁴.

Η συχνότητα του ΠΓΑΓ διαφέρει ανάμεσα σε πληθυσμούς με διαφορετική εθνική καταγωγή, γεγονός που υποδεικνύει γονιδιακό υπόβαθρο της νόσου. Το ΠΓΑΓ είναι 5 φορές πιο συχνό στους Αφρο-Αμερικανούς σε σχέση με τους λευκούς (Καυκάσιους)²⁵. Οι πρώτου βαθμού συγγενείς των ατόμων που πάσχουν από ΠΓΑΓ έχουν έως 7 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσουν ΠΓΑΓ σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού²⁶. Ακόμη έχει συχνά παρατηρηθεί ότι η νόσος εμφανίζεται με αυξημένη συχνότητα σε οικογένειες γλαυκωματικών, ενώ έχουν αναφερθεί και γενεαλογικά δένδρα στα οποία το ΠΓΑΓ κληρονομείται αμιγώς σύμφωνα με τους κανόνες του Mendel^{27,28}. Επί πλέον πολλά από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι κληρονομήσιμα, συμπεριλαμβανομένων της αναλογίας κοίλανσης προς οπτικό δίσκο (c/d ratio), της ενδοφθάλμιας πίεσης, της ευκολίας εκροής του υδατοειδούς υγρού και της απάντησης στα στεροειδή²⁶.

Αν και είναι σαφές ότι η γενετική παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της νόσου, οι λεπτομέρειες σχετικά με τον τρόπο κληρονομικότητας της νόσου παραμένουν σε μεγάλο ποσοστό αδιευκρίνιστες -πλην των περιπτώσεων όπου κληρονομείται ως μονογονιδιακό νόσημα-

καθώς, κανένας από μόνος του, απλός κανόνας του Mendel δεν μπορεί να περιγράψει την κληρονομικότητα του ΠΓΑΓ στο σύνολό της. Συνεπώς θεωρείται ότι το γλαύκωμα έχει πολυπαραγοντική αιτιολογία (complex disease)²⁹. Σε ένα τέτοιο μοντέλο η αλληλεπίδραση των νοσογόνων γονιδίων και των πιθανών περιβαλλοντολογικών παραγόντων κινδύνου μπορεί να εξηγήσει την παθολογία του γλαυκώματος.

Την τελευταία δεκαετία έχει γίνει αρκετή πρόοδος στην εύρεση νέων γονιδίων, στην ανίχνευση μεταλλαγών που σχετίζονται με τη νόσο και τον καθορισμό συχνοτήτων αλληλίων μεταξύ πληθυσμών με διαφορετική εθνική καταγωγή, ωστόσο λίγα γνωρίζουμε ακόμη για τη λειτουργία των προϊόντων μιας μεταλλαγής και για τους υποκείμενους παθογενετικούς μηχανισμούς. Τουλάχιστον οκτώ loci (γονιδιακοί τόποι) έχουν συνδεθεί με το γλαύκωμα (GLC1A – N, GLC3A/B) και τρία γονίδια έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα: MYOC, CYP1B1 και OPTN.

Μέθοδοι ανίχνευσης και χαρτογράφησης των υπεύθυνων γονιδίων

Αρκετές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση των γονιδίων που προκαλούν μια ασθένεια. Χρησιμοποιώντας την προσέγγιση της εντοπισμένης κλωνοποίησης, ανιχνεύονται τα πιθανά νοσογόνα γονίδια και αξιολογούνται με βάση τη χρωμοσωμική τους εντόπιση, ανεξάρτητα από τη λειτουργική τους έκφραση. Με αυτό τον τρόπο έχουν χαρτογραφηθεί ορισμένα γονίδια που προκαλούν συγκεκριμένες μορφές αναπτυξιακού γλαυκώματος, όπως το PAX6 γονίδιο που προκαλεί ανιριδία³⁰ και τα PITX2³¹ και FKHL7^{32,33} γονίδια που προκαλούν το σύνδρομο Axenfeld-Rieger.

Όταν όμως δεν υπάρχουν υπόνοιες για την εντόπιση ενός ύποπτου για μια ασθένεια γονιδίου, τότε μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια άλλη τεχνική, η ανάλυση γενετικής σύνδεσης (genetic linkage analysis). Πρόκειται για μια

αποτελεσματική τεχνική για την εντόπιση μεταλλαγών στα γονίδια. Η μέθοδος βασίζεται στην υπόθεση αν δύο γονιδιακές θέσεις (genetic loci) βρίσκονται σε μικρή απόσταση μεταξύ τους στο γονιδίωμα, τότε θα εμφανίζουν την τάση να κληρονομούνται μαζί μέσα στις διαδοχικές μειωτικές διαδικασίες. Η μέθοδος εξαρτάται αποκλειστικά από τη δυνατότητα μελέτης μεγάλων σε μέγεθος οικογενειών, μέσα στις οποίες η νόσος μεταδίδεται σύμφωνα με τους νόμους του Mendel. Μέλη των οικογενειών αυτών μαρκιάρονται με εκατοντάδες γενετικούς δείκτες (genetic markers) γνωστών χρωμοσωμικών θέσεων με απώτερο σκοπό την ανίχνευση των δεικτών που εντοπίζονται δίπλα στο υπεύθυνο γονίδιο. Επειδή η πιθανότητα γενετικού ανασυνδυασμού ανάμεσα σε ένα γονίδιο και το γενετικό δείκτη είναι ανάλογη της μεταξύ τους απόστασης, το γονίδιο και οι δείκτες που είναι κοντά σε αυτό σχεδόν πάντα μεταβιβάζονται μαζί. Τέτοιοι συνδεδεμένοι δείκτες (linked markers) είναι εύκολο να ανιχνευθούν, κληρονομούνται δε με το φαινότυπο της νόσου πιο συχνά από ότι θα μπορούσε να εξηγηθεί κατά τύχη. Η γνωστή εντόπιση ενός συνδεδεμένου δείκτη υποδεικνύει τη γειτονική χρωμοσωμική εντόπιση του υπεύθυνου γονιδίου. Η ανάλυση σύνδεσης έχει κάποια πλεονεκτήματα που την καθιστούν ιδιαίτερα κατάλληλη για ανίχνευση των γονιδίων στο γλαύκωμα. Δεν απαιτεί την ύπαρξη κάποιας υπόθεσης σχετικής με την παθογένεια της νόσου που μελετάται ή με τη λειτουργία του υπεύθυνου γονιδίου. Αυτό έχει μεγάλη χρησιμότητα στη μελέτη νοσημάτων όπως το γλαύκωμα, στα οποία ο παθογενετικός μηχανισμός δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί.

Παρ' όλη τη δύναμη της τεχνικής, η έλλειψη μεγάλων οικογενειών που έχουν προσβληθεί από ΠΓΑΓ, μειώνει τη χρησιμότητά της στη μελέτη της νόσου. Ωστόσο, έστω και μία οικογένεια, εάν βρεθεί, μπορεί να βοηθήσει στην πρόοδο της κατανόησης της φύσης της νόσου. Επειδή οι περισσότεροι ασθενείς κατά τη διάγνωση του ΠΓΑΓ είναι ηλικιωμένοι, οι γονείς τους έχουν ήδη πεθάνει και τα παιδιά τους είναι αρκετά νεαρά για να εκδηλώσουν τη νόσο. Αυτό οδηγεί σε γενεαλογικά δένδρα (pedigrees), που είναι συνήθως

πολύ μικρά για να εκδηλωθεί σύνδεση μεταξύ του φαινοτύπου της νόσου και ενός γενετικού δείκτη. Όμως για το νεανικής έναρξης πρωτοπαθές γλαύκωμα ανοικτής γωνίας (ΝΠΓΑΓ) τα γενεαλογικά δένδρα μπορεί να είναι μερικές φορές πολύ μεγάλα, λόγω της μικρής ηλικίας εμφάνισης της νόσου και της υψηλής διεισδυτικότητας του φαινοτύπου (στην πραγματικότητα ο καθένας που μεταφέρει τη μεταλλαγή θα εκδηλώσει σημεία της νόσου από νεαρά ηλικία). Τα κλινικά σημεία του ΝΠΓΑΓ είναι παρόμοια με αυτά του ΠΓΑΓ, με τη διαφορά ότι στην περίπτωση του ΝΠΓΑΓ οι ασθενείς εμφανίζουν πιο έντονα συμπτώματα (η ΕΟΠ μπορεί να ξεπεράσει τα 60 mmHg), σε πρώιμο στάδιο (έως και από την ηλικία των 8 ετών). Ως εκ τούτου το ΝΠΓΑΓ έχει χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο για τη μελέτη του ΠΓΑΓ.

Ιστορική αναδρομή

Αρχαίες ερευνητικές ομάδες χρησιμοποίησαν την ανάλυση σύνδεσης για τη μελέτη γενεαλογικών δένδρων με ΝΠΓΑΓ, με σκοπό την ανεύρεση κάποιου υπεύθυνου γονιδίου και με την ελπίδα ότι το ίδιο γονίδιο μπορεί να σχετίζεται με την παθογένεια του πιο συχνού ΠΓΑΓ.

Το 1993, οι Sheffield et al,³⁴ χρησιμοποιώντας την ανάλυση σύνδεσης σε μια μεγάλη οικογένεια, εντόπισαν ότι ένα υπεύθυνο γονίδιο για το ΝΠΓΑΓ βρίσκεται πιθανώς σε μια περιοχή του χρωμοσώματος 1. Αυτός ο τόπος σύνδεσης ονομάστηκε GLC1A.

Ο όρος GLC1A προέρχεται από το “GLC” που σημαίνει γλαύκωμα, “1” που σημαίνει πρωτοπαθές ανοικτής γωνίας και “A” που σημαίνει την πρώτη χρονικά ανίχνευση σύνδεσης για αυτή τη νόσο. Οι όροι GLC2 και GLC3 αναφέρονται στο πρωτοπαθές γλαύκωμα κλειστής γωνίας και στο συγγενές γλαύκωμα αντίστοιχα. (Βλέπε πίνακα 1).

Η HUGO/GDB (Human Genome Organization/ Genome Database) καθόρισε:

ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ	
GLC:	γονίδια για το πρωτοπαθές γλαύκωμα
GLC 1:	γονίδια για το Π.Γ.Α.Γ.
GLC 2:	γονίδια για πρωτοπαθές γλαύκωμα κλειστής γωνίας
GLC 3:	γονίδια για το συγγενές γλαύκωμα
GLC 1A:	το πρώτο χαρτογραφηθέν γονίδιο για το Π.Γ.Α.Γ.
GLC 1B, C, D, E, F,G:	κάθε επόμενο χαρτογραφηθέν γονίδιο

Πίνακας 1: Κατάταξη των γονιδίων του Γλαυκώματος

Ακόλουθες μελέτες σύνδεσης σε επιπρόσθετες οικογένειες με ΝΠΓΑΓ επιβεβαίωσαν ότι το γονίδιο για το ΝΠΓΑΓ εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1 και στη συγκεκριμένη θέση: 1q21-q31³⁵⁻³⁸.

Μετά από αυτή την ανακάλυψη μελετήθηκε ειτεταμένα η γονιδιακή θέση GLC1A σε αυτά τα γενεαλογικά δένδρα με σκοπό την ακριβή εντόπιση του γονιδίου του υπεύθυνου για ΝΠΓΑΓ. Το αρχικό συνδεδεμένο μεσοδιάστημα ήταν αρκετά μεγάλο και περιείχε εκατοντάδες γονίδια. Με την επιστράτευση περισσότερων οικογενειών και τη μελέτη επιπρόσθετων γενετικών δεικτών, μειώθηκε η περιοχή ενδιαφέροντος σε μια περιοχή αρκετά μικρή για την έναρξη ταυτοποίησης μεμονωμένων γονιδίων. Ένα από τα γονίδια μέσα στη θέση GLC1A αναγνωρίστηκε πρώτα σε πειράματα κυτταρικής βιολογίας. Το γονίδιο αυτό, myocilin (MYOC, Μυοσιλίνη), που κωδικοποιεί την ομώνυμη πρωτεΐνη, ανακαλύφθηκε σε μια σειρά από πειράματα που εξερευνούσαν την παθοφυσιολογία του γλαυκώματος με τη χρήση ενός συστήματος καλλιέργειας κυττάρων του γωνιακού δικτυωτού.

Το 1997, οι Stone et al,⁷ αξιολόγησαν το myocilin ως γονίδιο υπεύθυνο για γλαύκωμα ελέγχοντας τα γενεαλογικά δένδρα με ΝΠΓΑΓ και ΠΓΑΓ για νοσογόνες μεταλλάξεις του MYOC. Σε όλες τις οικογένειες με ΝΠΓΑΓ ανακαλύφθηκαν μεταλλάξεις του γονιδίου. Η μεταβίβαση των μεταλλαγών του MYOC ακολουθεί πιστά την κληρονομικότητα της νόσου σε καθένα από τα γενεαλογικά δένδρα, υποδεικνύοντας μια συσχέτιση ανάμεσα στο γονίδιο και στο ΝΠΓΑΓ. Επιπρόσθετα, δύο οικογένειες με ΠΓΑΓ βρέθηκαν να έχουν μεταλλάξεις του MYOC, υποδεικνύοντας έτσι ότι οι μεταλλάξεις του γονιδίου ίσως προκαλούν επίσης και ΠΓΑΓ⁴⁰. Η συσχέτιση ανάμεσα στο γονίδιο της Μυοσιλίνης (MYOC) και στο ΠΓΑΓ επιβεβαιώθηκε με τη διαδικασία ελέγχου (screening) 330 τυχαίων ασθενών με ΠΓΑΓ και 471 ατόμων ελέγχου (controls) για τις μεταλλάξεις της Μυοσιλίνης. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου της Μυοσιλίνης ανευρέθηκαν στο 3,9% των ασθενών με ΠΓΑΓ και στο 0,2% των controls. Η συχνότητα των μεταλλαγών του γονιδίου της Μυοσιλίνης δηλαδή, ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με ΠΓΑΓ από ότι στα άτομα ελέγχου. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι οι μεταλλάξεις του MYOC σχετίζονται με ένα σημαντικό κομμάτι του ΠΓΑΓ επιπρόσθετα με το ΝΠΓΑΓ⁷. Μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί περισσότερες από 70 μεταλλάξεις του MYOC. [www.myocilin.com]. Ο ρόλος της ομώνυμης πρωτεΐνης αν και δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, πιστεύεται ότι σχετίζεται με την αντίσταση εκροής στο γωνιακό δικτυωτό.

Το 1998 οι Sarfarazi et al⁴¹ ανέφεραν, επίσης με την τεχνική της γενετικής σύνδεσης, συσχέτιση ανάμεσα σε έναν φαινότυπο γλαυκώματος φυσιολογικής πίεσης, σε μια μεγάλη οικογένεια στη Μ. Βρετανία και σε μια γονιδιακή θέση στο χρωμόσωμα 10 (GLC1E).

Το 2002 οι Rezaie et al⁴² ανίχνευσαν στη θέση αυτή (10p14-p15) ένα νέο γονίδιο που συνδέθηκε με το ΠΓΑΓ, το optineurin (optic neuropathy inducing protein, OPTN, οπτινευρίνη). Μεταλλάξεις του OPTN βρέθηκαν στο 16,7% από 52 οικογένειες με κληρονομικό ΠΓΑΓ των ενηλίκων, συμπεριλαμβανομένων και κάποιων με γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης.

Μεταλλάξεις του OPTN βρέθηκαν επίσης στο 13,6% από 124 σποραδικές περιπτώσεις γλαυκώματος, κατά κύριο λόγο φυσιολογικής πίεσης. Η έκφραση του γονιδίου παράγει την ομώνυμη πρωτεΐνη, η οποία έχει βρεθεί τόσο σε οφθαλμικούς ιστούς όπως τον αμφιβληστροειδή, το γωνιακό δικτυωτό, το μη μελαγχρωστικό επιθήλιο του ακτινωτού⁴², όσο και σε μη οφθαλμικούς ιστούς όπως στην καρδιά, τον εγκέφαλο, τον πλακούντα, τους σκελετικούς μύες και άλλα όργανα^{42,43}. Βρίσκεται επίσης και στο υδατοειδές υγρό⁴². Η πρωτεΐνη αυτή πιστεύεται ότι παίζει ένα νευροπροστατευτικό ρόλο στον οφθαλμό και στο οπτικό νεύρο⁴².

Το 2001, οι Aung et al⁵⁸ ανέφεραν τη συσχέτιση δύο πολυμορφισμών στο γονίδιο OPA1 με γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης. Το γονίδιο αυτό θεωρείται υπεύθυνο για την κληρονομική οπτική ατροφία Alexander et al⁵⁹, Delettre et al⁶⁰, η οποία εμφανίζει ορισμένα κοινά κλινικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά με το γλαύκωμα φυσιολογικής πίεσης, όπως οπτική νευροπάθεια, φυσιολογική ΕΟΠ και πρόωρη εκφύλιση των γαγγλιακών κυττάρων. Μεταγενέστερη δημοσίευση όμως, δε διαπιστώνει συσχέτιση των πολυμορφισμών του OPA1 με το ΠΓΑΓ, σε τρεις διαφορετικούς πληθυσμούς³⁹.

Επιπρόσθετα εκτός από τις δύο προαναφερθείσες γονιδιακές θέσεις με τα αντίστοιχα γονίδια που συσχετίστηκαν με το ΠΓΑΓ, έχουν βρεθεί άλλες τέσσερις ύποπτες γονιδιακές θέσεις, χωρίς όμως να ανιχνευτούν επί του παρόντος άλλα υπεύθυνα γονίδια. (Πίνακας 2.)

Πίνακας 2: Πρωτοπαθή γλαυκώματα ανοικτής γωνίας

Τύπος γλαυκώματος	Γονίδιο	Εντόπιση	Μεταβίβαση	Ηλικία εμφάνισης (έτη)
ΝΠΓΑΓ(επιθετικό) GLC1A	TIGR/myocilin	1q21-q23	Αυτοσωμικό επικρατούν	5-45
ΠΓΑΓ (φυσιολογικής/μέσης βαρύτητας GLC1B) ⁸⁹	Δεν αναγνωρίστηκε	2cen-q13	Αυτοσωμικό επικρατούν	>40
ΠΓΑΓ (υψηλή ΕΟΠ) GLC1C ⁸²	Δεν αναγνωρίστηκε	3q21-q24	Αυτοσωμικό επικρατούν	>40
ΠΓΑΓ (μέσης βαρύτητας ΕΟΠ) GLC1D ⁹⁰	Δεν αναγνωρίστηκε	8q23	Αυτοσωμικό επικρατούν	>40
ΠΓΑΓ (φυσιολογική ΕΟΠ) GLC1E ⁴¹	Optineurin (OPTN)	10p14-p15	Αυτοσωμικό επικρατούν	23-65
ΠΓΑΓ (μέσης βαρύτητας ΕΟΠ) GLC1F ⁹¹	Δεν αναγνωρίστηκε	7q35-q36	Αυτοσωμικό επικρατούν	-
ΠΓΑΓ (adult-onset) GLC1H ⁹²	Δεν αναγνωρίστηκε	2p16-p15	Αυτοσωμικό επικρατούν	-
ΠΓΑΓ(early adult onset) GLC1I ⁹³	Δεν αναγνωρίστηκε	15q11-q13	Αυτοσωμικό επικρατούν	-
ΠΓΑΓ (early-onset) GLC1J ⁹⁴	Δεν αναγνωρίστηκε	9q22	Αυτοσωμικό επικρατούν	-
ΠΓΑΓ (early-onset) GLC1K ⁹⁴	Δεν αναγνωρίστηκε	20p12	Αυτοσωμικό επικρατούν	-
ΠΓΑΓ GLC1L ⁹⁵	Δεν αναγνωρίστηκε	3p22-p21	Αυτοσωμικό επικρατούν	-
ΝΠΓΑΓ GLC1M ⁹⁶	Δεν αναγνωρίστηκε	5q22.1-q32	Αυτοσωμικό επικρατούν	-
ΠΓΑΓ (juvenile-onset) GLC1N ⁹⁷	Δεν αναγνωρίστηκε	15q22-q24	Αυτοσωμικό επικρατούν	-

(Οι περισσότεροι από αυτούς τους γενετικούς τύπους δεν μπορούν να διαχωριστούν με βάση τα κλινικά κριτήρια).

ΣΥΓΓΕΝΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ (ΣΓ)

Το ΣΓ (GLC3), είναι μια ειδικά κληρονομούμενη οφθαλμική νόσος, η οποία εκδηλώνεται αυτόματα πριν από τη συμπλήρωση του τρίτου έτους της ηλικίας⁵⁵⁻⁵⁷. Η κατάσταση θεωρείται ότι οφείλεται σε διαταραχή της ανάπτυξης του προσθίου θαλάμου. Έχει υποτεθεί ότι η διαταραχή αυτή μπλοκάρει τη ροή του υδατοειδούς υγρού διαμέσου του ΤΜ και οδηγεί σε αύξηση της ΕΟΠ. Η συσχέτιση του ΣΓ με τουλάχιστον 17 χρωμοσωμικές ανωμαλίες, είναι ήδη γνωστή από το 1984⁴⁴. Το γλαύκωμα στις περιπτώσεις αυτές συνδυάζεται με χαρακτηριστικά δυσμορφίας, πολυσυστηματικές ανωμαλίες και καθυστέρηση της ανάπτυξης.

Οι Sarfarazi et al.⁴⁵ απομόνωσαν το 1995, την πρώτη γονιδιακή θέση (GLC3A) για το ΣΓ στην περιοχή 2p21, χρησιμοποιώντας την ανάλυση σύνδεσης σε 11 από 17 οικογένειες από την Τουρκία. Οι 6 οικογένειες που δεν χαρτογραφήθηκαν στην περιοχή αυτή, παρείχαν την ένδειξη ότι υπάρχει τουλάχιστον μία ακόμη γονιδιακή θέση που αφορά το ΣΓ.

Επιβεβαίωση αυτής της αρχικής αναφοράς για τη θέση GLC3A, προέκυψε από τη μελέτη και άλλων οικογενειών από τη Σαουδική Αραβία και τη Σλοβακία^{46,47}.

Οι Stoilov et al.⁴⁸ το 1998 αναγνώρισαν μεταλλάξεις στο γονίδιο CYP1B1 (cytochrome P4501B1) στους ασθενείς GLC3A.

Οι Akarsou et al.⁴⁹ μελετώντας τις 6 οικογένειες από την Τουρκία στις οποίες δεν εντοπίστηκε συσχέτιση στη θέση GLC3A, μαζί με άλλες 2 οικογένειες, αναγνώρισαν το δεύτερο τόπο GLC3B για το ΣΓ στην περιοχή 1p36. Ωστόσο η αναγνώριση του τόπου αυτού αφορούσε τις 4 από τις 8 οικογένειες που μελετήθηκαν. Για το λόγο αυτό οι συγγραφείς συμπεραίνουν ότι πρέπει να υπάρχει τουλάχιστον ακόμη ένας γονιδιακός τόπος για το ΣΓ.

Πίνακας 3: Συγγενή γλαυκώματα

Τύπος γλαυκώματος	Γονίδιο	Εντόπιση	Μεταβίβαση	Ηλικία εμφάνισης (έτη)
Πρωτοπαθές συγγενές γλαύκωμα (βούφθαλμος) GLC3A	CYP11B1	2p21	Αυτοσωμική υπολειπόμενη	<3
Πρωτοπαθές συγγενές γλαύκωμα (βούφθαλμος) GLC3B	Δεν αναγνωρίστηκε	1p36	Αυτοσωμική υπολειπόμενη	<3

ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΑ

Διαταραχές της ανάπτυξης του οφθαλμού έχουν σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη δευτεροπαθούς γλαυκώματος. Περιστασιακά, μεταλλάξεις γονιδίων είναι δυνατόν να επιδρούν στη φυσιολογική ανάπτυξη του οφθαλμού, όπως και στην ανάπτυξη άλλων ιστών. Τα γλαυκώματα που συνήθως απαντούν στις καταστάσεις αυτές, παρατηρούνται μετά ή επιπρόσθετα με άλλες κλινικές εκδηλώσεις.

Το γονίδιο PAX-6 έχει ενοχοποιηθεί σε διάφορες οφθαλμικές διαταραχές συμπεριλαμβανομένων της ανιριδίας³⁰, Peters anomaly⁵⁰, ADK (Autosomal Dominant Keratitis)⁵¹, συγγενείς καταρράκτες με όψιμη εμφάνιση δυστροφίας κερatoειδούς⁵².

Μεταλλαγές του γονιδίου FKHL7 στην περιοχή 6p25 έχουν ενοχοποιηθεί για την ανωμαλία Axenfeld – Rieger (ARA)^{32,33}.

Τέλος, μεταλλαγές του γονιδίου PITX2 στην περιοχή 4q25, έχουν ενοχοποιηθεί στο Axenfeld – Rieger syndrome type1³¹, και στην ιριδογωνιοδυσγενεσία τύπου 2^{53,54}.

Η ηλικία εμφάνισης, ο τρόπος κληρονομικότητας, το υπεύθυνο γονίδιο και η περιοχή για καθένα από τους τύπους των δευτεροπαθών γλαυκωμάτων περιγράφεται στον πίνακα 4.

Τύπος γλαυκώματος	Γονίδιο	Εντόπιση	Μεταβίβαση	Ηλικία εμφάνισης (έτη)
Aniridia	PAX-6	11p13	Αυτοσωμικό επικρατούν	<40
Peter's anomaly (some cases)	PAX-6	11p13	Αυτοσωμικό επικρατούν	<40
Autosomal dominant keratitis	PAX-6	11p13	Αυτοσωμικό επικρατούν	<40
Axenfeld-Rieger anomaly (ARA)	FKHL7	6p25	Αυτοσωμικό επικρατούν	<40
Iridogoniodysgenesis type 1 (IRID1)	Δεν αναγνωρίστηκε	6p25	Αυτοσωμικό επικρατούν	<15
Axenfeld-Rieger syndrome type 1 (RIEG1)	PITX2	4q25	Αυτοσωμικό επικρατούν	<40
Iridogoniodysgenesis type 2 (IRID2)	PITX2	4q25	Αυτοσωμικό επικρατούν	<15
Axenfeld-Rieger syndrome type 2 (RIEG2)	Δεν αναγνωρίστηκε	13q14	Αυτοσωμικό επικρατούν	<20
Pigment dispersion syndrome (PDS)	Δεν αναγνωρίστηκε	7q35-q36	Αυτοσωμικό επικρατούν	<40
Pigment dispersion syndrome (PDS)	Δεν αναγνωρίστηκε	18q11-q21	Αυτοσωμικό επικρατούν	<40
Pseudoexfoliation of the lens	Δεν αναγνωρίστηκε	2p16	Αυτοσωμικό επικρατούν	>40
Pseudoexfoliation of the lens	Δεν αναγνωρίστηκε	Μιτοχονδριακή	Matrilineal	>40

Πίνακας 4: Δευτεροπαθή Γλαυκώματα

5. Η ΜΥΟΣΙΛΙΝΗ ΚΑΙ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ (MYOCILIN, MYOC)

Γενικά

Η Μυοσιλίνη είναι μια εκκρινόμενη 55-57 kDa γλυκοπρωτεΐνη που σχηματίζει διμερή και πολυμερή. Τα χαρακτηριστικά δομικά της μοτίβα περιλαμβάνουν μια περιοχή που μοιάζει με τη Μυοσίνη (myocin-like domain), μια περιοχή που ακολουθεί το μοντέλο του «φερμουάρ της λευκίνης» (leucine zipper region) και μια περιοχή που μοιάζει με την πρωτεΐνη olfactomedin (olfactomedin domain)⁶¹. Οι περισσότερες από τις μεταλλαγές (πάνω από το 90%)⁶² που έχουν ταυτοποιηθεί σε ασθενείς με ΠΓΑΓ βρίσκονται στην περιοχή που μοιάζει με την πρωτεΐνη olfactomedin, η οποία είναι αρκετά κοινή ανάμεσα στα διάφορα είδη του ζωικού βασιλείου.

Οι μεταλλαγές του MYOC γονιδίου που κωδικοποιεί τη Μυοσιλίνη προκαλούν ορισμένες μορφές νεανικού (Juvenile) και όψιμης εμφάνισης ΠΓΑΓ.

Στον οφθαλμό, η Μυοσιλίνη εκφράζεται σε μεγάλη ποσότητα στο γωνιακό δικτυωτό (trabecular meshwork, TM), το σκληρό, το ακτινωτό σώμα και την ίριδα και σε αρκετά χαμηλότερη ποσότητα στον αμφιβληστροειδή και την κεφαλή του οπτικού νεύρου. Εκκρινόμενη Μυοσιλίνη είναι παρούσα στο υδατοειδές υγρό. Στο TM, η Μυοσιλίνη βρίσκεται μέσα στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων του TM και στην περιοχή γύρω από το σωλήνα του Schlemm (juxtacanalicular region) σε συνδυασμό με ινώδη εξωκυττάρια υλικά⁶¹.

Εφ' όσον οι ασθενείς που φέρουν μεταλλαγές της Μυοσιλίνης ενδέχεται να έχουν υψηλές ΕΟΠ, έχει διερευνηθεί ο ρόλος της Μυοσιλίνης στην εκροή του υδατοειδούς υγρού και έχουν εξαχθεί αρκετά αλληλοσυγκρουόμενα συμπεράσματα. Η ανασυνδυασμένη Μυοσιλίνη αυξάνει την αντίσταση εκροής του υδατοειδούς υγρού σε πειραματικά μοντέλα, ενώ η

υπερ-έκφραση της Μυοσιλίνης μετά από μεταφορά γονιδίων με ιούς φαίνεται να μειώνει την αντίσταση εικροής. Στα κύτταρα του TM, η έκφραση της Μυοσιλίνης επάγεται μετά από θεραπεία με δεξαμεθαζόνη, σε χρόνο αντίστοιχο με αυτόν που απαιτείται για να παρατηρηθεί το κορτιζονικό γλαύκωμα. Άλλοι παράγοντες που επάγουν την έκφραση της Μυοσιλίνης είναι ο αυξητικός παράγοντας β (growth factor-beta) και η μηχανική τάνυση (mechanical stretch)⁶¹.

Ποντίκια με στοχευμένη διακοπή (targeted disruption) του γονιδίου της Μυοσιλίνης δεν εμφανίζουν φαινότυπο, γεγονός που δείχνει ότι ο γλαυκωματικός φαινότυπος στους ανθρώπους δεν είναι αποτέλεσμα της απώλειας της λειτουργίας της Μυοσιλίνης. Πειραματικές μελέτες δείχνουν ότι η μεταλλαγμένη Μυοσιλίνη δεν εκκρίνεται, αλλά εμφανίζεται να συσσωρεύεται μέσα στο κύτταρο. Μια τέτοια συσσώρευση μπορεί να επηρεάζει τη λειτουργία του TM και να οδηγεί σε ελαττωματική αντίσταση εικροής, αλλά μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που να αποδεικνύουν αυτή την υπόθεση. Επί πλέον η φυσιολογική λειτουργία της Μυοσιλίνης είναι εν πολλοίς ακόμη αδιευκρίνιστη⁶¹.

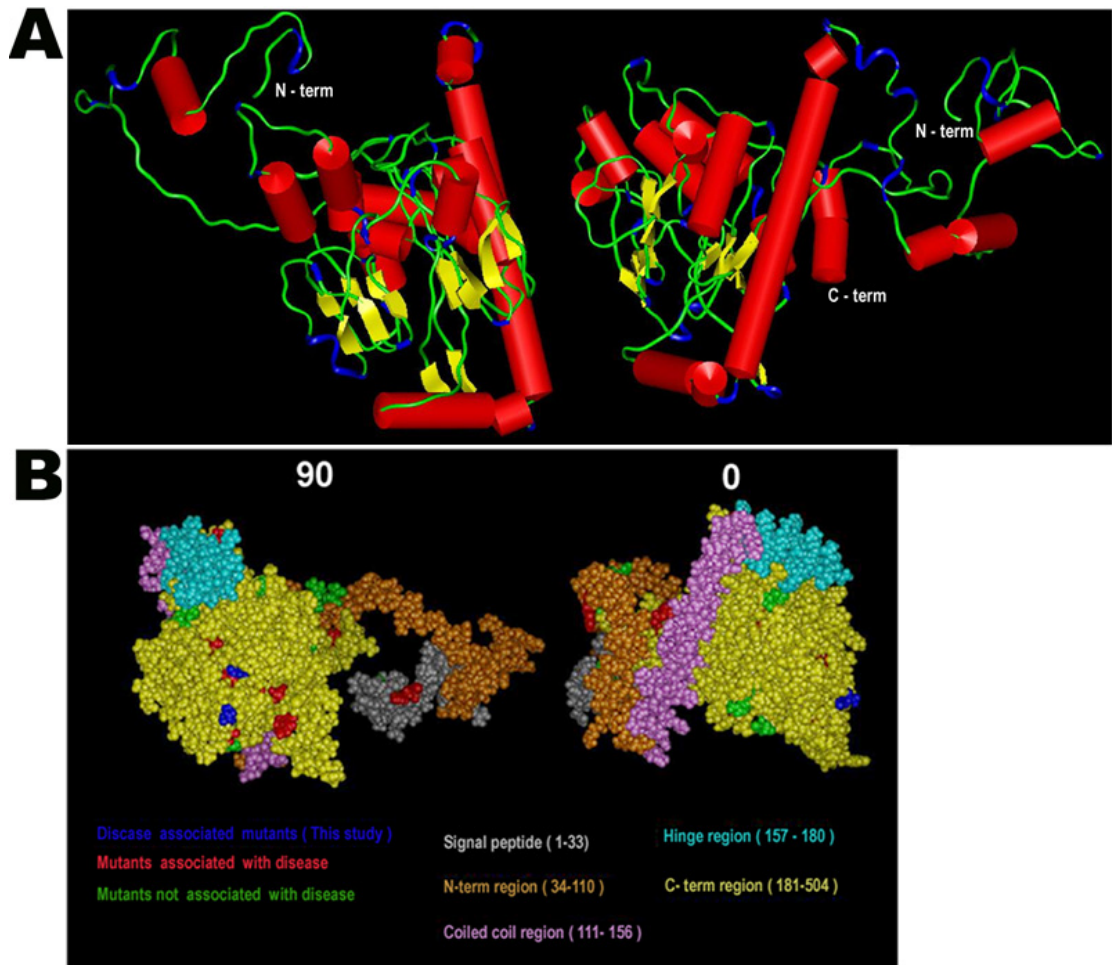
Δομή του γονιδίου της Μυοσιλίνης

Οι Fingert et al. (1998)⁶³, με genomic ανάλυση ακολουθίας καθόρισαν ότι το γονίδιο της Μυοσιλίνης αποτελείται από τρία εξόνια των 604, 126 και 782 bp. Περιέχει δύο κύριες ομόλογες περιοχές, μία περιοχή που μοιάζει με τη μυοσίνη και φέρει αμινο-τελικό άκρο και μία περιοχή που μοιάζει με την πρωτεΐνη olfactomedin και φέρει καρβοξυ-τελικό άκρο. Κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο 504 αμινοξέων και η πλειοψηφία των μεταλλαγών του βρίσκονται συγκεντρωμένες στην ομόλογη με την πρωτεΐνη olfactomedin περιοχή του τρίτου εξονίου.



Η Μυοσιλίνη εκφράζεται στους περισσότερους ιστούς του οφθαλμού, και παρά τις πολυάριθμες ανερμηνεύσιμες μεταλλαγές και τις μεταλλαγές που προκαλούν πρόωμη λήξη της πρωτεϊνοσύνθεσης της Μυοσιλίνης. Η απλοανεπάρκεια της πρωτεΐνης της Μυοσιλίνης έχει αποκλειστεί ως ο πρωτεύων νοσογόνος μηχανισμός.. Επιπλέον είναι ενδιαφέρον ότι το ΠΓΑΓ δεν επάγεται με την αύξηση ή μείωση, γενετικά, της έκφρασης της Μυοσιλίνης «αγρίου τύπου» (φυσιολογική πρωτεΐνη).

Οι Kanagavalli et al., το 2003 πρότειναν ένα πιθανό δομικό μοντέλο για τη Μυοσιλίνη το οποίο φαίνεται στο παρακάτω σχήμα⁷²:



Σχήμα 1: Ένα πιθανό δομικό μοντέλο για τη Μυοσιλίνη⁷²

A: τα δευτερεύοντα δομικά στοιχεία του μοντέλου είναι χρωματισμένα ως ακολούθως: έλικα κόκκινη, β-αλυσίδα κίτρινο, στροφές μπλε, και τυχαία σπείρα πράσινο. Το αμινοτελικό και καρβοξυ-τελικό άκρο σημειώνονται επίσης. Η αμινο-τελική περιοχή έχει λιγότερα δομικά στοιχεία και η καρβοξυ-τελική περιοχή είναι πιο συμπαγής. Η μακρά έλικα μπροστά από τη καρβοξυ-τελική περιοχή είναι η περιοχή του σπειροειδούς σπειράματος.

B: φαίνονται δύο κάθετες όψεις του μοντέλου πλήρωσης χώρου Corey–Pauling–Koltun (CPK). Η 90° οπτική γωνία είναι σα να βλέπουμε το μοντέλο που φαίνεται στο σχήμα A κοιτάζοντας πίσω από τη σελίδα. Οι διάφορες περιοχές του μορίου της Μυοσιλίνης καθώς και περιοχές που σχετίζονται με Μεταλλάγες φαίνονται με διαφορετικά χρώματα στο σχήμα B.

Χαρτογράφηση

Οι Abderrahim et al. (1998)⁶⁴ χρησιμοποιώντας interspecific backcross analysis χαρτογράφησαν το TIGR γονίδιο του ποντικού στο χρωμόσωμα 1 σε μια περιοχή ομόλογη της ανθρώπινης 1q23-q24.

Οι Kubota et al. (1997)⁶⁵ εντόπισαν το MYOC γονίδιο στη θέση 1q23-q24 στον άνθρωπο.

Οι Michels-Rautenstrauss et al. (1998)⁶⁶ παρουσίασαν τη χαρτογράφηση του γονιδίου TIGR στο χρωμόσωμα 1q24.3-q25.2.

Cloning, Ιστορική αναδρομή

Οι Escribano et al. (1995)⁶⁷, απομόνωσαν cDNA κλώνους από συγκεκριμένα κύτταρα από το ακτινωτό σώμα του οφθαλμού, έναν ιστό που είναι υπεύθυνος για την έκκριση του υδατοειδούς υγρού και για την ΕΟΠ.

Οι Stone et al. (1997)⁷ υπέδειξαν ότι ένας από αυτούς τους cDNA κλώνους που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη TIGR (trabecular meshwork-induced glucocorticoid response protein), χαρτογραφείται στο 1q, εκεί όπου είχε χαρτογραφηθεί και η γονιδιακή θέση για τη νεανική (juvenile) μορφή του γλαυκώματος ανοικτής γωνίας (GLC1A; 137750). Το γονίδιο TIGR είναι ένα πολυπεπτίδιο 497 αμινοξέων.

Οι Fingert et al. (1998)⁶³ έδειξαν χρησιμοποιώντας Northern blot analysis ότι η MYOC εκφράζεται ως ένα αντίγραφο μεγέθους 2.3-kb όχι μόνο σε δομές του οφθαλμού αλλά επίσης στην καρδιά, τους σκελετικούς μύες, το στόμαχο, το θυρεοειδή, την τραχεία, το μυελό των οστών, το θύμο αδένα, τον προστάτη, το λεπτό έντερο και το παχύ, και με χαμηλότερη έκφραση στους πνεύμονες, το πάγκρεας, τους όρχεις, τις ωοθήκες, το νωτιαίο μυελό, τους λεμφαδένες και τα επινεφρίδια. Η MYOC ΔΕΝ εκφράζεται στον εγκέφαλο, τον πλακούντα, το συκώτι, τους νεφρούς, το σπλήνα και στα λευκοκύτταρα.

5A. ΓΝΩΣΤΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΥΟΣΙΑΙΝΗΣ⁶⁸

Location	Amino Acid Change	Nucleotide Change	Glaucoma Causing
Promoter	N/A	-2084g>t	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1770g>a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1760ins_a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1422g>t	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1378ins_t	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1340del_a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1333g>a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1081a>g	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-1000c>g	Uncertain pathogenicity
Promoter	N/A	-700_699ins	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-467gt>ca	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-387c>t	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-339gt11-19	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-315g>a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-306g>a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-255t>c	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-224t>c	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-190g>t	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-153t>c	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-127t>c	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-126t>c	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-83g>a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-78t>g	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-77g>a	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-18c>t	Neutral polymorphism
Promoter	N/A	-8c>t	Neutral polymorphism
Exon 1	Phe4Ser	11T>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Cys9Ser	26G>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Gly12Arg	34G>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Pro13Pro	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 1	Pro16Leu	47C>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Ala17Ser	49G>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Val18Leu	52G>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Cys25Serfs*65	56_72dup	Glaucoma causing mutation
Exon 1	Gln19His	57G>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Cys25Arg	73T>C	Glaucoma causing mutation
Exon 1	Arg46X	136C>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Gln48His	144G>T	Uncertain pathogenicity

Location	Amino Acid Change	Nucleotide Change	Glaucoma Causing
Exon 1	Val53Ala	158T>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Ser55Thr	164G>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Asn57Asp	169A>G	Neutral polymorphism
Exon 1	Ser69Ser	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 1	Val70Val	210C>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Asn73Ser	218A>G	Neutral polymorphism
Exon 1	Arg76Lys	227G>A	Neutral polymorphism
Exon 1	Asp77Glu	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 1	Arg82Cys	244C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 1	Arg82His	245G>A	Neutral polymorphism
Exon 1	Thr88Thr	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 1	Arg91X	271C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 1	Leu95Pro	284T>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Glu96Glu	288G>A	Neutral polymorphism
Exon 1	Gln118Leu	353A>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Gly122Gly	366C>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Arg126Trp	376C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 1	Arg128Arg	384G>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Thr123Thr	396C>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Gln134Gln	402A>G	Neutral polymorphism
Exon 1	Thr135Ile	404C>T	Neutral polymorphism
Exon 1	Arg158Gln	473G>A	Uncertain pathogenicity
Exon 1	Leu159Leu	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 1	Glu162dup	484_486dup	Glaucoma causing mutation
Exon 1	Leu166Leu	502G>C	Neutral polymorphism
Exon 1	Arg168Arg	504G>A	Neutral polymorphism
Exon 1	Leu180Leu	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 1	Arg189Gln	566G>A	Neutral polymorphism
Intron 1	N/A	604+14g>a	Neutral polymorphism
Intron 1	N/A	604+16g>t	Neutral polymorphism
Intron 1	N/A	604+19g>c	Neutral polymorphism
Exon 2	Ser203Phe	608C>T	Neutral polymorphism
Exon 2	Thr204Met	611C>T	Neutral polymorphism
Exon 2	Thr204Thr	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 2	Asp208Glu	624C>G	Neutral polymorphism
Exon 2	Leu215Pro	644T>C	Neutral polymorphism
Exon 2	Lys216Lys	648G>A	Neutral polymorphism
Exon 2	Thr243Thr	Not Specified	Neutral polymorphism
Intron 2	N/A	730+35a>g	Neutral polymorphism
Intron 2	N/A	730+73c>t	Neutral polymorphism
Intron 2	N/A	730+172c>a	Neutral polymorphism
Intron 2	N/A	730+3a>g	Neutral polymorphism

Location	Amino Acid Change	Nucleotide Change	Glaucoma Causing
Exon 3	Val251Ala	731G>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly244Val	731G>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Cys245Tyr	734G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly246Arg	736G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Asp247X	739G>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Gly252Arg	754G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr256Met	767C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Ala260Ala	780A>G	Neutral polymorphism
Exon 3	Glu261Lys	781G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Lys266Lys	798G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Arg272Gly	814C>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro274Arg	821C>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr285Met	854C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr285Thr	855G>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Trp286Arg	856T>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ile288Ile	864C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Thr290Ala	868A>G	Neutral polymorphism
Exon 3	Thr293Lys	878C>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Glu300Lys	898G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Asp302Asp	906G>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Ile304Ile	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Gln309Gln	927G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Ser313Phe	938C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Leu318Leu	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Glu323Lys	967G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr325Thr	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Val329Met	985G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Val329Val	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Ser331Thr	991T>A	Uncertain pathogenicity
Exon 3	Ser331Ser	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Gln337Glu	1009C>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gln337Arg	1010A>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Arg342Lys	1025G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ile345Met	1035A>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Tyr347Tyr	1041T>C	Neutral polymorphism
Exon 3	Tyr347X	1041T>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr351Thr	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Glu352Lys	1054G>A	Uncertain pathogenicity
Exon 3	Thr353Ile	1058C>T	Uncertain pathogenicity
Exon 3	Ile360Asn	1079T>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro361Ser	1081C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ala363Thr	1087G>A	Glaucoma causing mutation

Location	Amino Acid Change	Nucleotide Change	Glaucoma Causing
Exon 3	Gly364Val	1091G>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly367Arg	1099G>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly367Arg	1099G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gln368X	1102C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Phe369Leu	1105T>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro370Leu	1109C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro370Pro	1110G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Thr353Lys	1118G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr377Met	1130C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr377Thr	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Asp380Gly	1138G>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Asp380His	1138G>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Asp380Asn	1138G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Asp380Ala	1139A>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	His367_Ser504delins138	1100_1103delinsT	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ser393Asn	1178G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ser393Arg	Not Specified	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr394Thr	1182C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Glu396dup	1186_1188dup	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Glu396Glu	1188G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Lys398Arg	1193A>G	Neutral polymorphism
Exon 3	Gly399Asp	1196G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly399Val	1196G>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Val402Ile	1204G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Leu403Leu	1209C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Glu414Lys	1240G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Arg422Cys	1264C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Arg422His	1265G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Lys423Glu	1267A>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ser425Pro	1273T>C	Neutral polymorphism
Exon 3	Ser425X	1274C>G	Neutral polymorphism
Exon 3	Val426Phe	1276G>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ala427Thr	1279G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Cys433Arg	1297T>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly434Ser	1300G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly434Gly	1303C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Tyr437His	1309T>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr438Ile	1313C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Thr438Thr	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Val439Val	Not Specified	Neutral polymorphism
Exon 3	Ala445Val	1334C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Thr448Pro	1342A>C	Glaucoma causing mutation

Location	Amino Acid Change	Nucleotide Change	Glaucoma Causing
Exon 3	Asn450Asp	1348A>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Tyr453del	1357delT	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Gly458Asp	1373G>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ile465Met	1395C>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Arg470Cys	1408C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Arg470His	1409G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Tyr471Cys	1412A>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Tyr473Cys	1418A>G	Neutral polymorphism
Exon 3	Ile477Asn	1430T>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ile477Ser	1430T>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Asn480Lys	1440C>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro481Ser	1441C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro481Thr	1441C>A	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro481Leu	1442C>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Pro481Arg	1442C>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Glu483X	1447G>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ala488Ala	1464C>T	Neutral polymorphism
Exon 3	Val495Ile	1483G>A	Neutral polymorphism
Exon 3	Ile499Phe	1495A>T	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Ile499Ser	1496T>G	Glaucoma causing mutation
Exon 3	Lys500Arg	1499A>G	Neutral polymorphism
Exon 3	Ser502Pro	1504T>C	Glaucoma causing mutation
Exon 3	N/A	*20a>g	Neutral polymorphism
Exon 3	N/A	*73g>c	Neutral polymorphism
Exon 3	N/A	*291a>g	Neutral polymorphism
Exon 3	1544ins489X	1544insC	Glaucoma causing mutation
Exon 3	1q24.3_1q31.2del	N/A	Uncertain pathogenicity
Exon 3	1q23_1q25del	N/A	Neutral polymorphism

Πίνακας 5: Γνωστές Μεταλλαγές του γονιδίου της Μυοσιλίνης

Τα ονόματα των μεταλλαγών έχουν δοθεί σύμφωνα με το Human Genome Nomenclature Working Group: (Hum Mutat 11:1-3, 1998; Hum Mutat 15:7-12, 2000; Hum Mutat 22:181-182, 2003).

Πίνακας 6: κατάταξη νοσογόνων Μεταλλαγών με βάση τον τύπο τους

Mutation type	Proportion of identified mutations
Παρερμηνεύσιμη μεταλλαγή (Missense mutation)	86.1%
Ανερμηνεύσιμη μεταλλαγή (Nonsense mutation)	5.6%
Small deletion (<21bp)	1.4%
Small indel (<21bp)	2.8%
Small insertion (<21bp)	4.2%
Repeat expansion	0%
Complex rearrangement including inversions	0%
Gross deletion (>20bp)	0%
Gross insertion and duplication (>20bp)	0%
Splicing mutation	0%
Regulatory mutation	0%
Non-coding region deletion	0%
Non-coding region insertion	0%
Non-coding region nucleotide substitution	0%
Other	0%

Πηγή του ανωτέρω πίνακα: <http://www.myocilin.com/summarystats.php>

6. Η THR377MET ΜΕΤΑΛΛΑΓΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΥΟΣΙΛΙΝΗΣ

Μεταλλαγές του γονιδίου της Μυοσιλίνης, που ήταν το πρώτο γονίδιο που βρέθηκε υπεύθυνο για πρόκληση ΠΓΑΓ, έχουν βρεθεί στο 4% περίπου των ασθενών με ΠΓΑΓ⁴⁰.

Παγκοσμίως, η Thr377Met μεταλλαγή του γονιδίου της Μυοσιλίνης είναι μια από τις συχνότερα ενοχοποιούμενες για πρόκληση ΠΓΑΓ και έχει βρεθεί σε πληθυσμούς πέντε διαφορετικών Ηπείρων. Η μεταλλαγή αυτή έχει βρεθεί σε τέσσερις οικογένειες που κατοικούν στην Αυστραλία, σε δυο οικογένειες στις ΗΠΑ, και από μια οικογένεια στην Ελλάδα, την Πρώην Γιουγκοσλαβική Δημοκρατία της Μακεδονίας (FYROM), την Ινδία, τη Φινλανδία και το Μαρόκο⁶⁹⁻⁷⁶. Η Thr377Met μεταλλαγή βρίσκεται μέσα στην καρβοξυ-τελική περιοχή του γονιδίου και καθιστά αδιάλυτη την πρωτεΐνη⁷⁷. Αν και αυτή η ιδιαίτερα διεισδυτική μεταλλαγή εμφανίζεται να είναι επαρκής για να προκαλέσει την ασθένεια, στοιχεία που υποστηρίζουν την γονίδιο προς γονίδιο αλληλεπίδραση στο ΠΓΑΓ όψιμης εμφάνισης έχουν περιγραφεί σε μια Ελληνική οικογένεια που φέρει αυτή την παραλλαγή⁷⁵.

Τρεις διαφορετικοί απλότυποι που σχετίζονται με την Thr377Met μεταλλαγή έχουν βρεθεί ανά τον κόσμο μέχρι στιγμής, γεγονός που υποδεικνύει ότι η συγκεκριμένη μεταλλαγή έχει προκύψει τρεις ανεξάρτητες μεταξύ τους φορές στο παρελθόν. **Μέχρι στιγμής επίσης, όλοι οι Έλληνες που φέρουν την Thr377Met μεταλλαγή έχουν τον ίδιο απλότυπο, πράγμα που υποδεικνύει την ύπαρξη ενός κοινού προγόνου (common founder) για αυτή τη μεταλλαγή⁷⁸.**

Μέλη μιας Ελληνικής οικογένειας που έφεραν και την Thr377Met μεταλλαγή του γονιδίου της Μυοσιλίνης και έναν απλότυπο που σχετίζεται με την GLC1C θέση, εμφάνισαν μεγαλύτερης βαρύτητας ασθένεια, από ότι μέλη οικογενειών που είχαν μόνο τη μια παραλλαγή⁷⁵.

Φαινότυπος T377M μεταλλαγής του MYOC

Γενικά, άτομα με την Thr377Met μεταλλαγή του γονιδίου της Μυοσιλίνης εμφανίζουν νόσο ενδιάμεσης βαρύτητας, με τους ασθενείς τυπικά να διαγιγνώσκονται στις αρχές της πέμπτης δεκαετίας της ζωής τους (σταθμισμένος μέσος όρος ηλικίας στη διάγνωση των μελών των περιγραφέντων οικογενειών = 41,4 έτη). Αυτή είναι νεαρότερη ηλικία από αυτή που συνήθως διαγιγνώσκονται οι ασθενείς που φέρουν τη Gln368Stop μεταλλαγή, αλλά κάπως πιο μεγάλη ηλικία από ασθενείς που φέρουν άλλες μεταλλαγές της Μυοσιλίνης, όπως η Pro370Leu, που γενικά διαγιγνώσκεται περίπου στην ηλικία των 15 ετών⁶⁹⁻⁷⁶. Ασθενείς με την Thr377Met μεταλλαγή τείνουν να έχουν μέγιστη καταγεγραμμένη ενδοφθάλμια πίεση (ΕΟΠ) γύρω στα 30 mmHg, χαμηλότερη από αυτή που περιγράφεται σε μεταλλαγές που προκαλούν νεανικό γλαύκωμα (όπως η Pro370Leu), και γενικά υψηλότερη από αυτή που περιγράφεται στην Gln368Stop μεταλλαγή⁷¹.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

1. Να προσδιοριστεί ο ρόλος του γονιδίου της Μυοσιλίνης (με την ανίχνευση της T377M μεταλλαγής αυτού) στο Πρωτοπαθές Γλαύκωμα Ανοικτής Γωνίας (όψιμης εμφάνισης) στην περιοχή της Ηπείρου. Επίσης να προσδιοριστεί κατά πόσον υπάρχει φαινότυπος του ΠΓΑΓ που σχετίζεται με την παρουσία της μεταλλαγής και αν είναι δυνατόν να προβλεφθεί η εξέλιξη του ΠΓΑΓ και η πορεία της νόσου στους φορείς.
2. Να γίνει συμβουλευτική παρέμβαση, εφ' όσον υπάρξουν θετικά δείγματα ως προς την ως άνω μεταλλαγή, τόσο στους πάσχοντες όσο και στις οικογένειες και τα μέλη αυτών με σκοπό την όσο πιο έγκαιρη διάγνωση και αποτελεσματική αντιμετώπιση της νόσου.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με ΠΓΑΓ με καταγωγή από την Ήπειρο, καθώς και άτομα, επίσης από την ίδια περιοχή, που δεν έπασχαν από ΠΓΑΓ, μάρτυρες (controls). Οι ασθενείς με ΠΓΑΓ καθώς και οι μάρτυρες εξετάστηκαν:

α) στα δύο Νοσοκομεία των Ιωαννίνων:

* Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων – Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική – Τμήμα Γλαυκώματος, και στο

* Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων “Γ. Χατζηγιώστα” – Εξωτερικά Ιατρεία Οφθαλμολογικής Κλινικής.

β) στην οικία τους (μέρος των εξετάσεων) με τη βοήθεια φορητών οφθαλμολογικών μηχανημάτων. Αυτές ήταν επί το πλείστον περιπτώσεις υπερήλικων ατόμων με γνωστό οικογενειακό ιστορικό γλαυκώματος, τα οποία ήταν αδύνατο να μετακινηθούν στα παραπάνω κέντρα για εξέταση και λήψη αίματος.

Σε όλους τους **200** ασθενείς με ΠΓΑΓ οι οποίοι παρακολουθούνται τακτικά στα δύο Νοσοκομεία, μεταξύ Απριλίου 2005 και Ιανουαρίου 2006, ζητήθηκε να συμμετάσχουν στην έρευνα. Από αυτούς **94** έδωσαν τη συγκατάθεσή τους και τους έγινε λήψη αίματος για γενετικό έλεγχο. Οι **106** ασθενείς που δεν έδωσαν τη συγκατάθεσή τους για λήψη αίματος και γενετικό έλεγχο είχαν ΠΓΑΓ της ίδιας βαρύτητας (μέγιστη ΕΟΠ, c/d ratio, Οπτικά Πεδία) και η εθνικότητά τους, η ηλικία διάγνωσης και η ηλικία κατά την εξέταση ταιριάζουν με τις αντίστοιχες της ομάδας των ασθενών που ερευνήθηκε. Τα δύο παραπάνω νοσοκομεία σημειωτέον ότι καλύπτουν ως προς το γλαύωμα ολόκληρη την περιοχή της Ηπείρου.

Ασθενείς με άλλους τύπους χρόνιου γλαυκώματος ανοιχτής γωνίας (π.χ. γλαύκωμα χαμηλής πίεσης) και δευτεροπαθή γλαυκώματα ανοιχτής γωνίας όπως ψευδοαποφολιδωτικό γλαύκωμα, χρωστικό γλαύκωμα, μετατραυματικό

γλαύκωμα, μεταφλεγμονώδες γλαύκωμα (μετά ραγοειδίτιδα), νεοαγγειακό γλαύκωμα, φακολυτικό γλαύκωμα, στεροειδικό γλαύκωμα αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Από τις **94 περιπτώσεις με ΠΓΑΓ** που μελετήθηκαν, οι **80** ήταν σποραδικές και οι **14** είχαν γνωστό οικογενειακό ιστορικό γλαυιώματος, το οποίο επιβεβαιώθηκε με την κλινική εξέταση των μελών των οικογενειών τους.

Περιελήφθησαν επίσης στην παρούσα μελέτη μέλη μιας μεγάλης οικογένειας από τη Χρυσοβίτσα τα οποία είχαν βρεθεί σε μια προηγούμενη μελέτη [Kitsos et al., 2001]⁷⁹ να έχουν το GLC1C απλότυπο. Μέλη της ίδιας οικογένειας βρέθηκε σε μεταγενέστερη μελέτη να έχουν και την T377M μεταλλαγή της Μυοσιλίνης σε ιδιαίτερα μεγάλο ποσοστό μεταξύ τους [Petersen et al, 2006]⁷⁵. Συνολικά 66 από τα 73 μέλη της εν λόγω οικογένειας ήταν διαθέσιμα για εξέταση στην παρούσα μελέτη. Επί πλέον συμπεριελήφθησαν **4 σποραδικές περιπτώσεις** ασθενών με ΠΓΑΓ και **4 μάρτυρες** από τη Χρυσοβίτσα οι οποίοι δεν έχουν καμία συγγένεια με την παραπάνω οικογένεια και οι οποίοι προσμετρήθηκαν στις αντίστοιχες ομάδες (σποραδικές περιπτώσεις - μάρτυρες).

Η επιλογή των μη πασχόντων από γλαύκωμα (Μάρτυρες) έγινε από τους Ηπειρώτες ασθενείς που εισήχθησαν μεταξύ του Απριλίου 2005 και του Ιανουαρίου 2006 στο «Γ.Ν.Ι. Γ. Χατζηκώστα», προς εγχείρηση καταρράκτη. Οι ασθενείς αυτοί προτιμήθηκαν των εθελοντών αιμοδοτών (που είχε αρχικά σχεδιαστεί να περιληφθούν), καθώς το ηλικιακό τους προφίλ είναι παρόμοιο με αυτό των πασχόντων από γλαύκωμα. Σε αυτή την ηλικία το γλαύκωμα έχει ήδη εμφανείς κλινικές εκδηλώσεις στη συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών και είναι πολύ πιο ασφαλής ο αποκλεισμός της νόσου. Αντίθετα, σε νεαρότερη ηλικία η νόσος μπορεί ήδη να υφίσταται αλλά να διαδράμει με ήπια και μακρά πορεία με ενδιάμεση κλινική εικόνα.

Συνολικά **124 μάρτυρες** έδωσαν τη συγκατάθεσή τους για συμμετοχή στη μελέτη, εκ των οποίων **24** είχαν ψευδοαποφολιδωτικό υλικό στον πρόσθιο

θάλαμο, σε έναν ή και στους δύο οφθαλμούς αλλά δεν έπασχαν από γλαύκωμα. Οι κατηγορίες των ατόμων που περιελήφθησαν στη μελέτη και ο αντίστοιχος αριθμός τους συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Σποραδικές περιπτώσεις με ΠΓΑΓ /σύνολο ΠΓΑΓ	Κληρονομικό ΠΓΑΓ/ σύνολο ΠΓΑΓ	Οικογένεια από Χρυσοβίτσα (εξετασθέντα μέλη / συνολικά μέλη)	Σποραδικές περιπτώσεις ΠΓΑΓ από Χρυσοβίτσα /σύνολο σποραδικών ΠΓΑΓ	Μάρτυρες από Χρυσοβίτσα /σύνολο Μαρτύρων	Μάρτυρες (χωρίς ΠΓΑΓ)
80/94	14/94	66/73	4/80	4/124	124

Πίνακας 7: Οι κατηγορίες και ο αντίστοιχος αριθμός των ατόμων που περιελήφθησαν στη μελέτη

Το πρωτόκολλο έλαβε έγκριση από τις επιτροπές της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, της επιστημονικής επιτροπής του Γ.Ν.Ι. «Γ. Χατζηκώστα», και του Επιστημονικού Συμβουλίου του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού στην Αθήνα.

Οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε λήψη λεπτομερούς ιστορικού, ατομικού και οικογενειακού, και πραγματοποιήθηκε πλήρης οφθαλμολογικός έλεγχος που περιελάμβανε τα εξής:

1. στους ασθενείς με ΠΓΑΓ:

- Ονοματεπώνυμο, έτος γέννησης, φύλο, τόπος γέννησης και τόπος κατοικίας
- Ατομικό ιστορικό (σακχαρώδης διαβήτης, αρτηριακή υπέρταση, καρδιοπάθειες αγγειοπάθειες κλπ παθήσεις) και οικογενειακό ιστορικό
- Οικογενειακό ιστορικό για το ΠΓΑΓ
- Οφθαλμολογικό αναμνηστικό (ΗΕΩ, κερατοειδοπάθειες, ραγοειδίτιδες κλπ οφθαλμολογικές παθήσεις)

- Μέτρηση οπτικής οξύτητας ΔΟ και ΑΟ (με τα οπτότυπα Snellen),
- Εξέταση των πρόσθιων μορίων με τη σχισμοειδή λυχνία (Αποκλεισμός ύπαρξης συνδρόμου ψευδοαποφολιδωσης)
- Μέτρηση της ενδοφθάλμιας πίεσης ΔΟ και ΑΟ με προσφάτως καλιμπραρισμένο τονόμετρο επιπέδωσης Goldmann (Haag Streit AG, Bern, Switzerland).
- Γωνιοσκοπία (με την ειδική ύαλο γωνιοσκοπίας)
- Εξέταση οπτικών πεδίων (με το περίμετρο του Humphrey, πρόγραμμα 24-2) (Humphrey Inc., San Leandro, California). Η σταδιοποίηση των αποτελεσμάτων της Αυτόματης περιμετρίας [Early Glaucomatous Loss, Moderate Glaucomatous Loss – (MD moderate defect στους πίνακες) και Advanced Glaucomatous Loss - (SD, Severe Defect στους πίνακες)] έγινε βάσει της κατάταξης κατά Hodapp, όπως προτείνεται από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Γλαυκώματος.
- Βυθοσκόπηση με στερεοσκοπικό φακό (Volk Optical Inc., Mentor, Ohio), με έμφαση στην εκτίμηση του cup/disc ratio. Η περιγραφή της οπτικής θηλής περιελάμβανε: μέγεθος θηλής, πάχος χείλους του οπτικού δίσκου (rim), εγκοπές (notch), επί-/περιθηλαίες αιμορραγίες, CDR κάθετο και οριζόντιο και εκτίμηση της στιβάδας των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς (diffuse and localized RNFL loss). Η μέτρηση του μεγέθους της οπτικής θηλής έγινε σύμφωνα με τις αρχές της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Γλαυκώματος ⁸⁸.

Ως Οφθαλμική Υπερτονία (Ocular Hypertension, OHT) ορίστηκε ενδοφθάλμια πίεση ≥ 21 mmHg, με όλα τα άλλα κλινικά οφθαλμολογικά ευρήματα εντός φυσιολογικών ορίων.

Τα κριτήρια για τη διάγνωση του ΠΓΑΓ έγιναν βάσει των οδηγιών την Ευρωπαϊκής Εταιρείας Γλαυκώματος ⁸⁸.

2. Σε άτομα που δεν πάσχουν από ΠΓΑΓ (μάρτυρες) εφαρμόστηκε το ίδιο κλινικό πρωτόκολλο, εκτός της αυτόματης περιμετρίας.

Παρακάτω παρατίθεται το φύλλο για την καταγραφή των κλινικών στοιχείων που χρησιμοποιήθηκε σε όλους τους συμμετέχοντες στη μελέτη, ασθενείς και μάρτυρες.

ΚΛΙΝΙΚΟ - ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ: “ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΥΟΣΙΑΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΓΑΓ (ΟΨΙΜΗΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ) ΣΤΗΝ ΗΠΕΙΡΟ”

Ημερομηνία αιμοληψίας:

Νο:

Όνομα:

Φύλο:

Έτος γέννησης:

Τόπος γέννησης:

Όνομα μητέρας:

Τόπος κατοικίας:

Όνομα πατέρα:

Τηλέφωνο:

Όνομα μητρικής γιαγιάς:

Όνομα μητρικού παππού:

Όνομα πατρικής γιαγιάς:

Όνομα πατρικού παππού:

ΑΤΟΜΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ: Σ.Δ. Α.Υ. ΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΑ
ΑΓΓΕΙΟΠΑΘΕΙΑ

ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΟ ΑΝΑΜΝΗΣΤΙΚΟ:

ΠΑΡΟΥΣΑ ΝΟΣΟΣ

1. Διάγνωση γλαυκώματος

Έτος:

Αρχική ΕΟΠ:

Έναρξη θεραπείας:

Έτος:

Αριθμός φαρμάκων:

2. Πορεία νόσου:

Ενδοφθάλμιες πιέσεις:

Φαρμακευτική θεραπεία:

3. Κληρονομικότητα:

ΝΑΙ

ΟΧΙ

Αν ΝΑΙ, αναλυτική περιγραφή:

ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ:ΟΠΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ: ΔΟ: ΑΟ:ΕΟΠ: c/d:ΠΡΟΣΘΙΑ ΜΟΡΙΑ:Ψ/Α: ΝΑΙ ΟΧΙΓΩΝΙΑ: ΕΥΡΟΣ: ΔΟ: ΑΟ: ΧΡΩΣΤΙΚΗ: ΔΟ: ΑΟ:ΟΠΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ: ΔΟ:
ΑΟ:**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ (ΜΕΤΑΛΛΑΓΗ T377M):**

Έγινε συλλογή του υλικού (δείγματα αίματος, 10cc, σε δοκιμαστικούς σωλήνες με EDTA) στις παραπάνω ομάδες ατόμων.

Η συλλογή των δειγμάτων αίματος έγινε μετά από ενημέρωση και τελική συγκατάθεση των υπό εξέταση ατόμων που συμμετείχαν στην έρευνα αυτή. Το ενημερωτικό φυλλάδιο παρατίθεται αμέσως παρακάτω:

**ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ ΑΣΘΕΝΗ ΓΙΑ ΤΗ
ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΟΥ ΣΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ “ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ
ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΥΟΣΙΛΙΝΗΣ ΣΤΟ
ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ ΓΩΝΙΑΣ (ΟΨΙΜΗΣ
ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ) ΣΤΗΝ ΗΠΕΙΡΟ”**

Το γλαύκωμα είναι μια χρόνια νόσος του οφθαλμού και αποτελεί μια από τις κυριότερες αιτίες τύφλωσης.

Οφείλεται κυρίως στην αυξημένη πίεση του οφθαλμού που προοδευτικά με τα χρόνια προκαλεί σοβαρές βλάβες στο οπτικό νεύρο και μείωση της όρασης.

Η νόσος αυτή αν δεν προβλεφθεί, διαγνωσθεί και θεραπευθεί εγκαίρως, οδηγεί στην τύφλωση.

Το γλαύκωμα σε πολλές περιπτώσεις κληρονομείται από γενεά σε γενεά. Για να προβλέψουμε ποιος από τους συγγενείς θα νοσήσει στο μέλλον χρειάζονται γενετικές αναλύσεις οι οποίες γίνονται σε εξειδικευμένα κέντρα με τη συνεργασία οφθαλμιάτρων και γενετιστών.

Οι γενετικές αυτές αναλύσεις γίνονται μετά από λήψη αίματος (10 cc) από τους ασθενείς και τους συγγενείς τους.

Μέρος αυτής της μεγάλης προσπάθειας αποτελούν και οι γιατροί της Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής Ιωαννίνων και οι συνεργάτες τους.

Θα επιθυμούσαμε την συγκατάθεσή σας για τη λήψη αίματος από εσάς και τους συγγενείς σας για την επιτυχία του πιο πάνω σκοπού μας.

Ο επιβλέπων της έρευνας

Συγκατάθεση
εξεταζόμενου

Κίτσος Γεώργιος
Αναπλ. Καθηγητής Οφθαλμολογίας

Η απομόνωση του DNA και η ανίχνευση της μεταλλαγής T377M του γονιδίου της Μυοσιλίνης έγινε στο Εργαστήριο του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού, Διεύθυνση Γενετικής (Διευθυντής κ. M.B. Petersen). Η γενετική μελέτη πραγματοποιήθηκε σε συνεργασία με τους Γενετιστές και Βιολόγους του Εργαστηρίου και με την εποπτεία και καθοδήγηση του κ. M.B. Petersen. Το Εργαστήριο αυτό, όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί ένα εκ των τριών Κέντρων που συμμετείχαν και συμμετέχουν στα δύο χρηματοδοτούμενα προγράμματα από τις ΗΠΑ.

Η γενετική ανάλυση περιελάμβανε δύο στάδια:

1. **απομόνωση του DNA** με τη μέθοδο εκχύλισης άλατος (Miller και συν.)⁸⁰
2. **ανίχνευση της μεταλλαγής T377M** του γονιδίου της Μυοσιλίνης με τη μέθοδο PCR, χρησιμοποιώντας ένα τροποποιημένο πρωτόκολλο του Melki et al., 2003⁷³.

1. Απομόνωση DNA

Μέθοδος: Γενομικό DNA απομονώθηκε από τα λευκά κύτταρα του αίματος με τη μέθοδο του NaCl (Miller et al. 1988). Αυτή συνίσταται σε:

1) Λήψη 10 ml αίματος σε σωληνάριο με αντιπηκτικό EDTA. Προσθήκη 30 ml διαλύματος λύσης I ή dH₂O, ήπια ανάδευση και παραμονή στους 4° C για 30 min. Το διάλυμα λύσης I είναι υποτονικό αποκλειστικά για τα ερυθροκύτταρα που με αυτή τη διαδικασία υφίστανται οσμωτικό σοκ και λύνονται. Η λύση τους αυτή είναι δυνατή και με απεσταγμένο νερό (dH₂O), όμως πρέπει να παραμείνει για μικρότερο χρονικό διάστημα (10 min) μαζί με τα κύτταρα του αίματος απ' ότι το διάλυμα λύσης I, διότι είναι δυνατόν να προκαλέσουμε πλην των ερυθροκυττάρων και λύση των λευκοκυττάρων που έχουν μεγαλύτερη οσμωτική αντοχή.

2) Φυγοκέντρωση στις 3.500 rpm για 15 min στους 4° C προκειμένου να καθιζάνουν τα λευκοκύτταρα και όποιοι πυρήνες έχουν εξαχθεί από αυτά. Απομάκρυνση του υπερκείμενου που αποτελείται από τα λυμένα ερυθροκύτταρα και το πλάσμα του αίματος.

3) Προσθήκη ξανά 15 ml διαλύματος λύσης I. Ήπια ανάδευση προκειμένου να λυθούν τυχόν ερυθροκύτταρα που δεν λύθηκαν στο 1° στάδιο. Φυγοκέντρωση στις 3.500 rpm για 15 min. Απομάκρυνση του υπερκείμενου που αποτελείται από τα λυμένα ερυθροκύτταρα και το πλάσμα του αίματος.

4) Επανάληψη των προαναφερθέντων βημάτων για καλύτερο "καθαρισμό" από τα ερυθροκύτταρα.

5) Προσθήκη 5 ml διαλύματος λύσης II, ανακίνηση μέχρι την διάλυση του ιζήματος και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min. Το διάλυμα λύσης II είναι υποτονικό για τα λευκοκύτταρα προκαλώντας έτσι την λύση τους.

6) Προσθήκη 100 μl πρωτεϊνάσης K και 400 λ SDS 10%. Επώαση στους 37° C όλη νύχτα ή στους 55° C για 2 h. Η πρωτεϊνάση διασπά τις πρωτεΐνες (στην περίπτωση αυτή τις ιστόνες και τις μη ιστόνες με τις οποίες είναι φυσιολογικά

δεσμευμένο το DNA) και συντελεί στην απομάκρυνσή τους. Έτσι, υπό την επίδραση της πρωτεϊνάσης, αποδεσμεύονται από το καθαρό DNA και εν συνεχεία το SDS, που είναι αποδιατακτικό, τις μετουσιώνει, με αποτέλεσμα την κατακρήμνισή τους.

7) Προσθήκη 6 M NaCl και ισχυρή ανακίνηση για 30 sec. Με τον τρόπο αυτό αυξάνεται η ιονική ισχύς του αιμολύματος και καθίσταται πιο εφικτή η καταβύθιση των πρωτεϊνών και λοιπών μετουσιωμένων μεγαλομορίων.

8) Φυγοκέντρηση στις 3.500 rpm για 15 min, οπότε καθιζάνουν τα μετουσιωμένα μεγαλομόρια με μορφή ιζήματος, ενώ στο υπερκείμενο βρίσκεται διαλυμένο σε υδατικό διάλυμα το ολικό DNA.

9) Μεταφορά του υπερκείμενου σε άλλο σωληνάριο και φυγοκέντρηση στις 8.500 rpm για 10 min (ή εναλλακτικά στις 4.000 rpm για 20 min) προκειμένου να καθιζάνουν τυχόν εναπομείνουσες μετουσιωμένες πρωτεΐνες .

10) Προσθήκη 2 όγκων απόλυτης αιθανόλης, οπότε λαμβάνει χώρα η κατακρήμνιση του DNA και εν συνεχεία συλλογή του με πιπέττα Pasteur. Η προσθήκη της αιθανόλης προκαλεί αφυδάτωση του περιβάλλοντος χώρου του DNA με αποτέλεσμα τη μετουσίωσή του (καθώς είναι διαλυτό μόνο σε υδατικά διαλύματα) και την επακόλουθη κατακρήμνισή του. Έτσι μπορούμε εύκολα να το συλλέξουμε ως μια άσπρη άμορφη μάζα.

11) Έκπλυση του DNA στην μύτη της πιπέττας Pasteur με 70% αιθανόλη για σταδιακή ενυδάτωσή του και διάλυσή του σε 1 ml ρυθμιστικού TE, ή σε 1 ml dH₂O. Το διάλυμα TE είναι καταλληλότερο κυρίως για φύλαξη του DNA για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε σχέση με το dH₂O.

Υλικά - Αντιδραστήρια:

1. Αντιπηκτικό διάλυμα Na_2EDTA 10% w/v.
2. Διάλυμα Tris-EDTA (TE). (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA και pH=8).
3. Διάλυμα Lysis I (16,6 g NH_4Cl , 2,0 g KHCO_3 , 0,7 g EDTA- Na_2 και dH_2O σε τελικό όγκο 2 lt και pH=7).
4. Διάλυμα Lysis II (2,42 g Tris HCl, 46,6 g NaCl, 1,48 g EDTA- Na_2 και dH_2O σε τελικό όγκο 2 lt και pH=8,3).
5. Διάλυμα NaCl 6 M.
6. Διάλυμα SDS 10%.
7. Πρωτεΐνάση K (10 mg/ml).
8. Απόλυτη αιθανόλη.
9. Αιθανόλη 70%.

2. Ανίχνευση της μεταλλαγής Thr377Met του γονιδίου της Μυοσιλίνης

Μέθοδος: Η μεταλλαγή Thr377Met μπορεί να ανιχνευθεί με τη μέθοδο ARMS (Amplification Refractory Mutation System). Η μέθοδος αυτή αποτελεί παραλλαγή της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) και επιτρέπει την άμεση ανίχνευση γνωστής σημειακής μεταλλαγής με εξειδικευμένο πολλαπλασιασμό ενός αλληλόμορφου από το σύνολο του γονιδιακού DNA. Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης είναι μια ενζυμική μέθοδος ενίσχυσης μιας συγκεκριμένης ακολουθίας DNA *in vitro* (Saiki et al. 1988)⁸¹. Απαιτεί γνώση της πρωτοταγούς ακολουθίας του DNA, ή τουλάχιστον των άκρων του προς ενίσχυση τμήματος, προκειμένου να σχεδιαστούν και να συντεθούν ειδικοί ολιγονουκλεοτιδικοί εκκινητές που θα αποτελέσουν μόρια έναρξης (primers) για την DNA πολυμεράση. Επίσης απαιτείται η προσθήκη τριφωσφορικών δεοξυνουκλεοτιδίων που αποτελούν το υπόστρωμα της DNA πολυμεράσης αλλά και ιόντα [Mg⁺].

Πρόκειται για μια διαδικασία 3 θερμοδυναμικών αντιδράσεων (σταδίων) με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία τεραστίων ποσοτήτων νέων ελίκων γενετικού υλικού. Το πρώτο στάδιο του κύκλου αφορά τη μετατροπή της διπλής έλικας του DNA στόχου σε απλή (αποδιάταξη-denaturation). Αυτό επιτυγχάνεται με θέρμανση στους 94⁰-95⁰ C και ο χρόνος που απαιτείται για την πλήρη διάσπαση των ελίκων είναι 60 περίπου sec. Το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει την προσκόλληση (annealing) των ολιγονουκλεοτιδίων στα σημεία έναρξης της αντιγραφής του DNA στόχου, πραγματοποιείται δε συνήθως στους 50⁰-60⁰ C και ο απαιτούμενος χρόνος για να ολοκληρωθεί κυμαίνεται από 1 έως 2 min. Τέλος στο τρίτο στάδιο συντελείται σύνθεση των νέων αλυσίδων στους 72⁰ C.

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην ιδιότητα των PCR εκκινητών, σύμφωνα με την οποία ένα ολιγονουκλεοτίδιο με ένα μη συμπληρωματικό 3-άκρο δεν θα λειτουργήσει ως εκκινητής σε μια PCR αντίδραση. Για να προσδιορισθεί η ύπαρξη ή όχι μιας συγκεκριμένης σημειακής μεταλλαγής, το τελικό 3-άκρο του ενός εκκινητού σχεδιάζεται έτσι ώστε να έχει

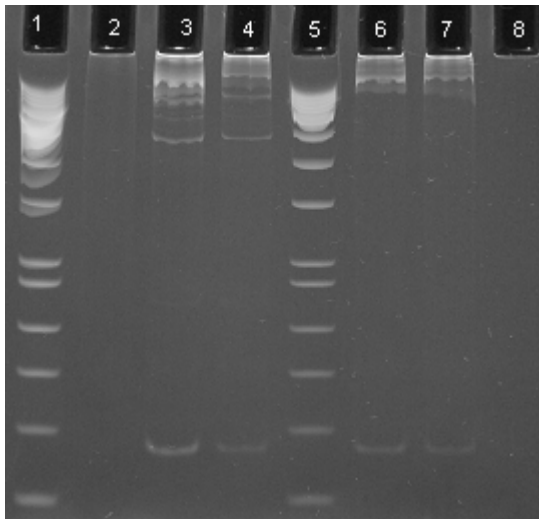
συμπληρωματικότητα με τη συγκεκριμένη μεταλλαγή. Μόνο εκείνα τα δείγματα DNA που είναι θετικά για τη μεταλλαγή τελικά θα δώσουν PCR προϊόν, ενώ αντίθετα δείγματα αρνητικά για την συγκεκριμένη μεταλλαγή δεν θα δώσουν καθόλου PCR προϊόν.

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν στο τροποποιημένο πρωτόκολλο του Melki et al., 2003 ήταν:

MYOC-F (5' – GATTATGGATTAAGTGGTGCTTCG – 3') και

MYOC-R (5' – TGAGCATCTCCTTCTGCCATTGCC – 3').

Ένα κομμάτι DNA μεγέθους 874 bp ενισχύθηκε σύμφωνα με το ακόλουθο πρωτόκολλο: 94°C για 5 min, ακολουθούμενο από 35 κύκλους των 94°C για 30 sec, 58°C για 30 sec, 72°C για 1 min, και μια τελική παράταση των 7 min. Το τελικό προϊόν της PCR στη συνέχεια επεξεργάστηκε με το ένζυμο Hsp92 II (Promega Corporation, Madison, Wisconsin) στους 37 °C για 24 ώρες και τα τελικά προϊόντα έτρεξαν σε μια γέλη 9% polyacrylamide μέσα σε ρυθμιστικό TBE buffer σε τάση 90 Volts για 3 ώρες. Στο τέλος της διεργασίας αυτής, το φυσιολογικό DNA απέδωσε τρία τμήματα των 740, 80, και 54 bp, ενώ η T377M μεταλλαγή δημιούργησε μια περιορισμένη περιοχή με κομμάτια μεγέθους 443, 297, 80, και 54 bp. (Εικόνα 1)



Εικόνα 1: Παραδείγματα των αποτελεσμάτων, όπως αυτά ελήφθησαν από τη μοριακή ανάλυση.

Λωρίδες 1 και 5: *PhiX174 DNA/HinfI marker*.

Λωρίδες 2 και 8: κενό.

Λωρίδες 3 και 4: ετεροζυγώτες για την T377M μεταλλαγή (οι μπάντες των 740 bp, 443 bp, 297 bp, και 80 bp είναι ορατές).

Λωρίδες 6 και 7: δείγματα φυσιολογικού DNA που δε φέρει την T377M μεταλλαγή. (οι μπάντες των 740 bp, και 80 bp είναι ορατές). Η 54 bp band δεν ήταν ορατή στη γέλη.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και η συσχέτιση φαινότυπου (κλινική εικόνα, κλινικές παράμετροι) και γονότυπου (ευρήματα από γενετική ανάλυση, μεταλλαγή T377M του γονιδίου της Μυοσιλίνης) πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την καθοδήγηση του Διευθυντή του, Καθηγητή κ. Ιωαννίδη Ιωάννη.

Η σύγκριση των συχνοτήτων των φορέων της T377M μεταλλαγής μεταξύ των διαφόρων ομάδων που εξετάστηκαν έγινε με exact test. Για την ανάλυση της διάγνωσης του ΠΓΑΓ σε σχέση με το χρόνο χρησιμοποιήθηκε η Kaplan-Meier μέθοδος. Για τη σύγκριση συνεχών μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε το t-test. Οι τιμές p είναι two-tailed.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συχνότητα εμφάνισης της T377M μεταλλαγής στις διάφορες ομάδες

Τα αποτελέσματα του γενετικού ελέγχου για την ύπαρξη της T377M μεταλλαγής της Μυοσιλίνης στους ασθενείς με ΠΓΑΓ και στους Μάρτυρες συνοψίζονται στον Πίνακα 8.

ομάδες	Αριθμός ατόμων	Αριθμός φορέων της T377M	Αναλογία (95 % CI)
Σποραδικές περιπτώσεις ΠΓΑΓ (Ήπειρος)	80 (76+4)*	1	1.2 (0.0-6.8) %
Περιπτώσεις με οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ (Ήπειρος)	14 ^a	2	14.2 (1.8-42.8) %
Οικογένεια από Χρυσοβίτσα	66 ^b	20 ^c	30.3 (19.6-42.9) %
Μάρτυρες από Ήπειρο	124 (120+4)**	0	0.0 (0.0-2.9) %
Σποραδικές περιπτώσεις ΠΓΑΓ (Χρυσοβίτσα)	4*	0	0.0 (0.0-60.2) %
Μάρτυρες από Χρυσοβίτσα	4**	0	0.0 (0.0-60.2) %

Πίνακας 8: Συχνότητα της MYOC T377M μεταλλαγής στις διάφορες κατηγορίες εξετασθέντων ατόμων από την Ήπειρο.

^a από οικογένειες χωρίς μεταξύ τους συγγένεια. ^b 15 άτομα της οικογένειας είχαν διαγνωστεί με ΠΓΑΓ. ^c 12 φορείς της T377M είχαν ΠΓΑΓ.

*Οι 4 σποραδικές περιπτώσεις ΠΓΑΓ από Χρυσοβίτσα περιλαμβάνονται στις 80 σποραδικές περιπτώσεις από την Ήπειρο

** Οι 4 μάρτυρες από τη Χρυσοβίτσα περιλαμβάνονται στην ομάδα των 124 μαρτύρων από την Ήπειρο.

Στην οικογένεια από τη Χρυσοβίτσα, που εμφανίζει ΠΓΑΓ κληρονομούμενο με αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα, **20** από τα **66** μέλη της (**30,3%**) που μελετήθηκαν είναι φορείς της T377M μεταλλαγής.

Στις περιπτώσεις με θετικό οικογενειακό ιστορικό γλαυκώματος **2** από τις **14** περιπτώσεις με ΠΓΑΓ από την Ήπειρο είναι φορείς της T377M μεταλλαγής (**14,2%**).

Στις σποραδικές περιπτώσεις με ΠΓΑΓ από την Ήπειρο μόνο **1** από τις **80** περιπτώσεις που μελετήθηκαν, **1,2%**, εμφανίζει την T377M μεταλλαγή. (**exact p=0,057** όσον αφορά τη σύγκριση μεταξύ των περιπτώσεων με οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ σε σχέση με τις σποραδικές).

Επί πλέον, η T377M μεταλλαγή δεν ανιχνεύτηκε σε **κανέναν** από τους **124** μάρτυρες από την Ήπειρο. (**exact p=0,001** όσον αφορά τη σύγκριση με τις περιπτώσεις με ΠΓΑΓ).

Τέλος, σε **καμία** από τις **4** σποραδικές ΠΓΑΓ περιπτώσεις από τη Χρυσοβίτσα (που δεν ανήκαν στην παραπάνω περιγραφείσα οικογένεια) δεν ανεβρέθηκε η T377M μεταλλαγή.

Κλινικά χαρακτηριστικά των φορέων της T377M μεταλλαγής με ΠΓΑΓ.

Τα κλινικά ευρήματα των 23 συνολικά φορέων της T377M μεταλλαγής που ανιχνεύτηκαν από την παρούσα μελέτη στην Ήπειρο, παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.

ID ^a	Έτος γέννησης	ΠΓΑΓ	Οφθ/κή υπερτομία	Ηλικία κατά την εξέταση	Ηλικία διάγνωσης	Μέγιστη ΕΟΠ	Μέγιστο cup/disc ratio	Οπτικά πεδία ^b	Χειρουργείο (trabeculectomy)
F2-3	1909	Ναι		85	75	28	0.9	SD	
F2-5	1917	Ναι		84	67	56	0.95	SD	
F2-6	1924	Ναι		77	60	23	0.8	SD	
F2-7	1927	Ναι		74	57	26	0.4	MD	
F2-8	1930	Ναι		71	54	43	0.9	SD	
F3-6	1949	Ναι		55	36	30	0.6	MD	
F3-11	1940			69		18	0.3		
F3-14	1949			60		19	0.2		
F3-19	1951			58		20	0.2		
F3-22	1948			61		19	0.3		
F3-25	1957	Ναι		44	34	36	0.5	MD	Ναι OD/OS
F3-38	1960	Ναι		41	36	30	0.7	SD	
F3-27	1947			62		14	0.3		
F3-29	1955	Ναι		46	39	27	0.5	MD	
F3-37	1958	Ναι		51	46	32	0.6	MD	
F3-31	1958	Ναι		43	43	26	0.5	MD	
F3-32	1959		Ναι	50		22	0.2		
F3-34	1964			45		20	0.4		
F3-35	1970	Ναι		35	32	36	0.9	SD	
F4-27	1980			29		16	0.4		
20DC	1928	Ναι		80	70	27	0.8	SD	Ναι OD/OS
K151	1946	Ναι		59	58	24	0.7	MD	
K153	1925	Ναι		80	67	35	0.9	SD	Ναι OD/OS

Πίνακας 9: Κλινικά ευρήματα στους φορείς της MYOC T377M μεταλλαγής στην Ήπειρο.

^aΤα άτομα με το γράμμα F στον κωδικό τους, υποδεικνύουν μέλη της οικογένειας από τη Χρυσοβίτσα, το 20DC είναι σποραδική περίπτωση ΠΓΑΓ, ενώ τα άτομα με το γράμμα K στον κωδικό τους είναι άτομα με γνωστό οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ. Τα άτομα: F2-3, F2-5, F2-6, F2-7, F2-8, F3-22, F3-38, F3-29, F3-34, και F3-35 έχουν επίσης και τον GLC1C απλότυπο [Petersen et al., 2006]⁷⁵. ^bSD υποδηλώνει σοβαρές βλάβες, MD υποδηλώνει βλάβες μέτριου βαθμού.

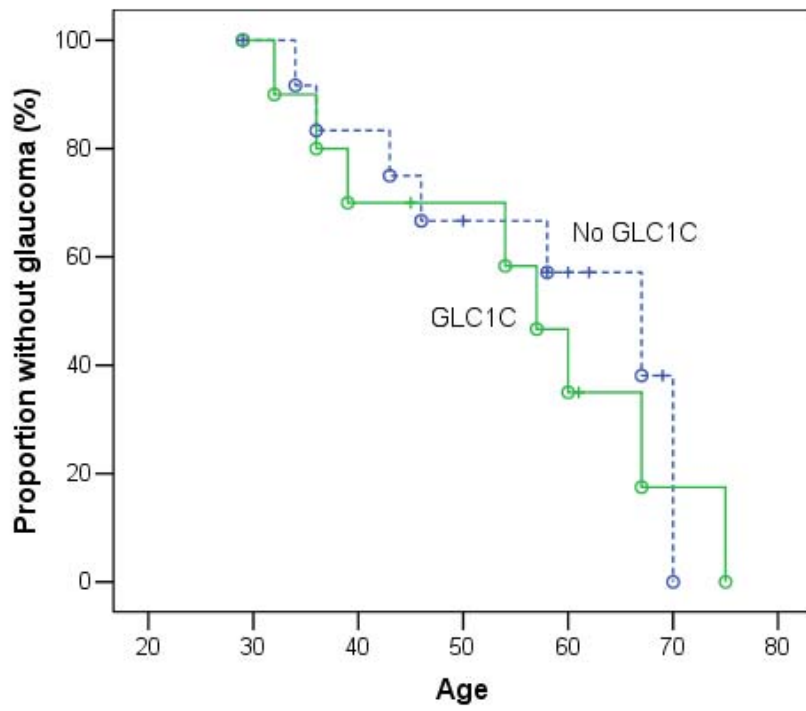
Από τα **23** άτομα που είναι φορείς της T377M μεταλλαγής τα **15** είχαν ήδη διάγνωση ΠΓΑΓ (**12** από την οικογένεια της Χρυσοβίτσας, **2** από οικογένειες με θετικό οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ, και **μια** σποραδική περίπτωση).

Οκτώ ασθενείς με ΠΓΑΓ είχαν σοβαρές αλλοιώσεις στα οπτικά πεδία και **7** είχαν μετρίου βαθμού αλλοιώσεις.

Στην Kaplan-Meier ανάλυση, η πιθανότητα διάγνωσης ΠΓΑΓ μεταξύ των φορέων της μεταλλαγής, προϊούσης της ηλικίας, ήταν 23% στην ηλικία των 40 ετών και έφθασε το 100% στην ηλικία των 75.

Τρεις από αυτούς τους ασθενείς έχουν υποβληθεί σε εγχείρηση (τραμπεκουλεκτομή) και στα δύο τους μάτια και **ένας** ακόμη (F3-38) σαφώς χρήζει χειρουργικής αντιμετώπισης, αλλά είναι απρόθυμος να συνεργαστεί.

Επίσης, μεταξύ των φορέων της T377M μεταλλαγής, η πιθανότητα ανάπτυξης γλαυκώματος, προϊούσης της ηλικίας μεταξύ των ασθενών που φέρουν τον GLC1C απλότυπο, και αυτών που δεν τον φέρουν φαίνεται στο διάγραμμα Kaplan-Meier στον πίνακα 10.



Πίνακας 10: Φορείς της T377M: πιθανότητα ανάπτυξης ΠΓΑΓ, προιούσης της ηλικίας, μεταξύ GLC1C και nonGLC1C ασθενών.

Κλινικά χαρακτηριστικά στο ΠΓΑΓ: σύγκριση φορέων της T377M μεταλλαγής με ασθενείς που δε φέρουν τη μεταλλαγή

Η μέση ηλικία διάγνωσης \pm SD, η μέση ηλικία κατά την εξέταση \pm SD, η μέση μέγιστη ΕΟΠ \pm SD, και το μέσο μέγιστο cup/disc ratio \pm SD στις διάφορες ομάδες πληθυσμού που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Ομάδες	Μέση ηλικία διάγνωσης \pm SD (έτη)	Μέση ηλικία κατά την εξέταση \pm SD (έτη)	Μέση μέγιστη ΕΟΠ \pm SD (mm Hg)	Μέσο μέγιστο cup/disc ratio \pm SD	
T377M (+) T377M φορείς με ΠΓΑΓ (n = 15)	51 \pm 13.9	61.5 \pm 17.5	31.9 \pm 8.5	0.67 \pm 0.2	
T377M (-)	Σποραδικό ΠΓΑΓ χωρίς T377M (n = 79)	63.1 \pm 11	70 \pm 10	28.1 \pm 7.1	0.60 \pm 0.21
	Χρυσοβίτσα: ΠΓΑΓ και οφθ/κη υπερτονία χωρίς T377M (n = 12)	48 \pm 16.9	51.7 \pm 17.3	24.9 \pm 4.2	0.49 \pm 0.28
	Οικογενειακό ΠΓΑΓ χωρίς T377M (n = 12)	66.8 \pm 9.8	76.4 \pm 12.9	29.1 \pm 6.3	0.69 \pm 0.18
	Μάρτυρες (n = 124)	-	74.2 \pm 8.4	14.6 \pm 2.2	0.25 \pm 0.1

Πίνακας 11: Σύγκριση κλινικών χαρακτηριστικών των φορέων της T377M μεταλλαγής με ΠΓΑΓ σε σχέση με άλλες ομάδες

Οι ασθενείς με ΠΓΑΓ, φορείς της T377M μεταλλαγής, διαγιγνώσκονται στην ηλικία των 51 \pm 13,9 ετών, που είναι νεαρότερη από τις σποραδικές ή με οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ περιπτώσεις χωρίς τη μεταλλαγή: 63,1 \pm 11 και

66,8 ± 9,8 ετών αντίστοιχα (**p<0,001** για τις ΠΓΑΓ περιπτώσεις σε σύγκριση με αυτές χωρίς την T377M μεταλλαγή).

Η μέση μέγιστη ΕΟΠ (31,9 ± 8,5 mm Hg) δεν ήταν ιδιαίτερα υψηλότερη στην T377M ΠΓΑΓ ομάδα σε σύγκριση με τις σποραδικές ή με οικογενειακό ιστορικό ΠΓΑΓ ομάδες (28,1 ± 7,1 mm Hg και 29,1 ± 6,3 mm Hg, αντίστοιχα).

Τέλος, δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο cup/disc ratio των ασθενών με ΠΓΑΓ που έφεραν τη μεταλλαγή σε σύγκριση με αυτούς που δεν την έφεραν.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε την εξάπλωση της T377M μεταλλαγής της Μυοσιλίνης στις διάφορες ομάδες ασθενών με ΠΓΑΓ καθώς και σε μάρτυρες από την περιοχή της Ηπείρου.

Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η T377M μεταλλαγή υπάρχει σε μεγάλο ποσοστό στην περιγραφείσα οικογένεια από τη Χρυσοβίτσα, ένα στα τέσσερα μέλη της οποίας ήδη έχει ΠΓΑΓ.

Επί πλέον, ορισμένοι ασθενείς με ΠΓΑΓ, με γνωστό οικογενειακό ιστορικό γλαυκώματος είναι και αυτοί φορείς της μεταλλαγής, ενώ η μεταλλαγή είναι ιδιαίτερα σπάνια στις σποραδικές περιπτώσεις ΠΓΑΓ και πρακτικά απουσιάζει στους υγιείς μάρτυρες από το γενικό πληθυσμό της Ηπείρου.

Το ΠΓΑΓ που σχετίζεται με την T377M μεταλλαγή στην περιοχή της Ηπείρου εμφανίζεται με πρόωμη έναρξη σε ένα σεβαστό ποσοστό περιπτώσεων και πρακτικά υπάρχει πλήρης διείσδυση της νόσου κατά την ηλικία των 75 ετών. Ωστόσο, η σοβαρότητα της νόσου στους φορείς δε φαίνεται ιδιαίτερα χειρότερη σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς τη μεταλλαγή.

Κληρονομικές νόσοι είναι κατά περιπτώσεις συχνές σε μικρούς πληθυσμούς που ζουν σε σχετική απομόνωση για μακρές περιόδους της ιστορίας τους. Όταν μια μεταλλαγή εμφανίζεται από έναν αρχικό ιδρυτή (founder) σε έναν απομονωμένο πληθυσμό έχει την πιθανότητα να γίνει ιδιαίτερα συχνή στα μέλη της κοινότητας αυτής, ακόμη και ενάντια στους νόμους της επιλογής.

Ένα τέτοιο παράδειγμα απομονωμένου πληθυσμού είναι η περιοχή της Ηπείρου, στη Βορειοδυτική γωνιά της Ελλάδος.

Έντεκα οικογένειες από την Ήπειρο στις οποίες το ΠΓΑΓ όψιμης εμφάνισης κληρονομούνταν με αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα περιγράφηκαν από τον κ. Κίτσο και συν. [Kitsos et al., 1988]²⁸.

Ανάλυση γενετικής σύνδεσης στη μεγαλύτερη από αυτές τις οικογένειες, που κατοικεί στο μικρό χωριό Χρυσοβίτσα (πληθυσμός 993 κάτοικοι το έτος 2001) στην οροσειρά της Πίνδου και σε υψόμετρο 940 μέτρα, έδειξε σύνδεση στον GLC1C τόπο στο χρωμόσωμα 3, θέση 3q21-q24 [Kitsos et al., 2001]⁷⁹.

Αυτή η σύνδεση είχε περιγραφεί αρχικά σε μια μεγάλη οικογένεια από το Oregon των ΗΠΑ [Wirtz et al., 1997]⁸².

Λόγω του συνήθως πολυπαραγοντικού τρόπου κληρονομικότητας του ΠΓΑΓ όψιμης εμφάνισης, οι δύο παραπάνω οικογένειες εξετάστηκαν και για μεταλλάξεις στο γονίδιο της Μυοσιλίνης [Petersen et al., 2006]⁷⁵. Προς έκπληξη των ερευνητών, η T377M μεταλλαγή της Μυοσιλίνης βρέθηκε στο 73% (11/15) των μελών της οικογένειας που έπασχαν από ΠΓΑΓ⁷⁵.

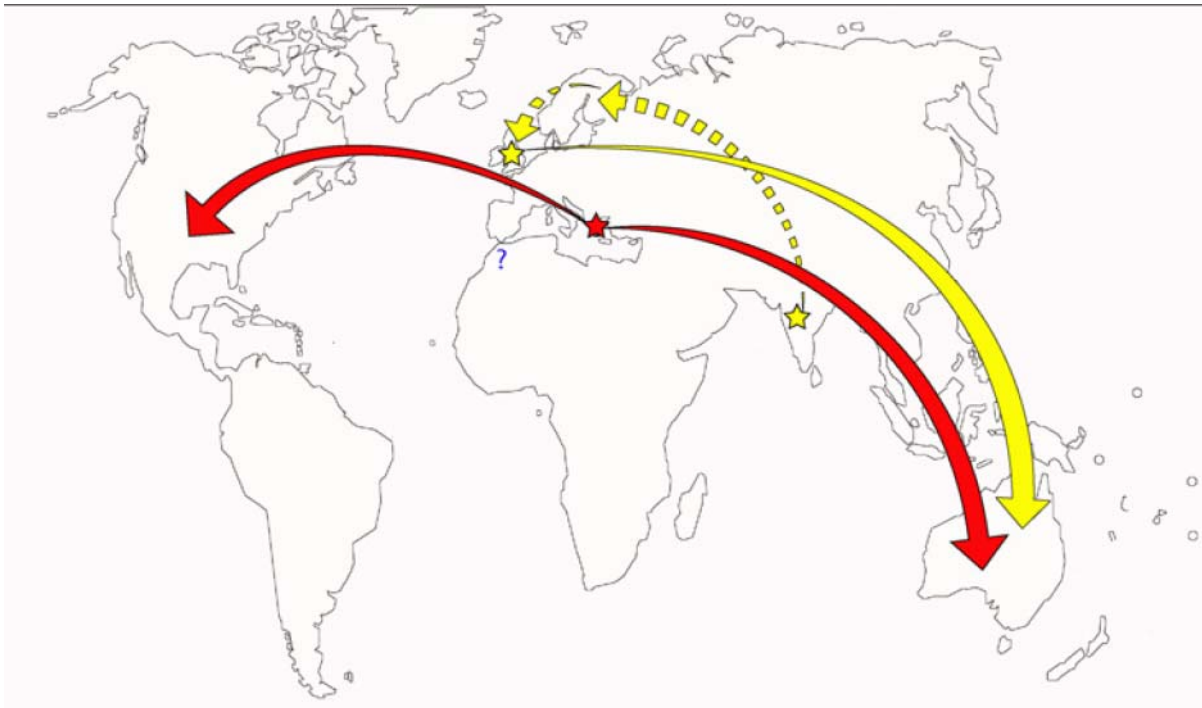
Ένα ακόμη μικρό χωριό, ο Ταξιάρχης (~1100 κάτοικοι) στο Όρος Χολομώντας στη Χαλκιδική, οι κάτοικοι του οποίου ήταν γνωστό ότι έχουν αυξημένη συχνότητα ΠΓΑΓ⁸³, μελετήθηκε πρόσφατα για την ύπαρξη της T377M μεταλλαγής⁸⁴. Η επίπτωση του γλαυκώματος ήταν 17% (22/126) και η T377M μεταλλαγή ανιχνεύτηκε στο 59% (13/22) των ασθενών με ΠΓΑΓ⁸⁴.

Ο απλότυπος της T377M μεταλλαγής στον Ταξιάρχη ήταν ο ίδιος με εκείνον της T377M μεταλλαγής στη Χρυσοβίτσα⁸⁴.

Σε μια έρευνα για την ύπαρξη ιδρυτικών μεταλλαγών (founder effects), για την T377M μεταλλαγή εξετάστηκαν εννέα οικογένειες από διαφορετικές εθνικότητες: τέσσερις από την Αυστραλία, δύο από τις ΗΠΑ, μία από την Ελλάδα, μία από την Φινλανδία και μία από την Ινδία [Hewitt et al., 2007]⁸⁵.

Οι δύο οικογένειες από τις ΗΠΑ όπως και δύο από τις Αυστραλιανές ήταν Ελληνικής καταγωγής. Μια ακόμη οικογένεια από την Αυστραλία κατάγονταν από την Πρώην Γιουγκοσλαβική Δημοκρατία της Μακεδονίας (FYROM), το Νότιο μέρος της οποίας είναι πολύ κοντά στην περιοχή της Ηπείρου. Η τελευταία οικογένεια από την Αυστραλία είχε καταγωγή από τη Μεγάλη Βρετανία.

Ο γονοτυπικός έλεγχος που έχει γίνει μέχρι στιγμής σε διάφορες εργασίες, χρησιμοποιώντας μικροδορυφορικούς δείκτες έχει αποκαλύψει έναν κοινό απλότυπο μεταξύ συνολικά επτά οικογενειών: 2 από την Ελλάδα (Χρυσοβίτσα – Τάξιάρχης), 2 από τις ΗΠΑ (Oregon) και 3 από την Αυστραλία (2 Ελληνικής καταγωγής και μία από τη FYROM). Οι οικογένειες από τη Φινλανδία και από τη Μεγάλη Βρετανία βρέθηκε να έχουν διαφορετικούς απλότυπους τόσο μεταξύ τους όσο και από τις λοιπές οικογένειες με καταγωγή από την Ελλάδα και τη FYROM. Η οικογένεια από την Ινδία βρέθηκε να έχει κάποιους κοινούς δείκτες (markers) τόσο με τη Φινλανδική οικογένεια όσο και με την Αυστραλιανή οικογένεια την καταγόμενη από τη Μεγάλη Βρετανία. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη μετανάστευση των Φινο-Ουγγρικών φύλων (Huns, Ούνοι), από την Κεντρική Ασία προς τη Βόρεια Ευρώπη πριν τουλάχιστον 1500 χρόνια. Οι γνωστές και οι πιθανολογούμενες μεταναστεύσεις της μεταλλαγής καθώς και οι μέχρι στιγμής γνωστές περιοχές που συνέβησαν οι ιδρυτικές μεταλλαγές φαίνονται σχηματικά στον Παγκόσμιο χάρτη, στο Σχήμα 2.



Σχήμα 2: Η Παγκόσμια εξάπλωση της T377M μεταλλαγής. Τα αστέρια υποδηλώνουν γνωστές ιδρυτικές μεταλλαγές, τα συνεχόμενα βέλη γνωστές μεταναστεύσεις και τα διακεκομμένα βέλη πιθανολογούμενη μετανάστευση. [Hewitt et al., 2007]⁸⁵

Από τα παραπάνω συνάγεται ότι η T377M μεταλλαγή έχει προκύψει τουλάχιστον τρεις ανεξάρτητες μεταξύ τους φορές στο παρελθόν, παγκοσμίως⁸⁵.

Το χωριό Χρυσοβίτσα στην Οροσειρά της Πίνδου, στην περιοχή της Ηπείρου υπήρξε απομονωμένο για αιώνες. Ιστορικά δεδομένα [Π. Αραβαντινός, Χρονογραφία της Ηπείρου, 1856]⁸⁶, αναφέρουν ότι το χωριό ιδρύθηκε το 15^ο αιώνα μ.Χ. γύρω στα 1486 μ.Χ., χρονιά που βρέθηκε στην περιοχή η Εικόνα της Παναγίας της Χρυσοβίτσας. Παρακινήθηκαν τότε οι κάτοικοι ενός γειτονικού χωριού που ονομάζονταν Παλαιόμυλος να κτίσουν τα σπίτια τους γύρω από τα τείχη της Μονής που ανεγέρθηκε προς τιμήν της Παναγίας της Χρυσοβίτσας, κι έτσι άρχισε το χωριό να παίρνει τη μορφή του.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι η «Ελληνική» ιδρυτική T377M μεταλλαγή πιθανόν να προέκυψε κάπου στην περιοχή της Ηπείρου. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 5, λαμβάνοντας υπ' όψιν βέβαια ότι

για κάποιες ομάδες πληθυσμού τα άτομα που εξετάστηκαν είναι λίγα, η μεταλλαγή δείχνει να προκύπτει σε αξιοσημείωτο ποσοστό στο οικογενές ΠΓΑΓ, σε σύγκριση με το χαμηλό ποσοστό εμφάνισης της μεταλλαγής στις σποραδικές περιπτώσεις ΠΓΑΓ από την ίδια περιοχή.

Ένας από τους φορείς της T377M μεταλλαγής, K151, είναι μια κυρία 63 ετών με οικογενές ΠΓΑΓ, Βλάχικης* καταγωγής και από τους δύο της γονείς, γεννήθηκε και ακόμη ζει στο Κεφαλόβρυσο. Έχει νόσο ενδιάμεσης βαρύτητας, ηλικία διάγνωσης γλαυκώματος 58 ετών, μέγιστη ΕΟΠ 24 mmHg, c/d ratio 0,7, μετρίου βαθμού αλλοιώσεις στα οπτικά πεδία και προς το παρόν καλά ρυθμιζόμενη ενδοφθάλμια πίεση με ενστάλλαξη κολλυρίου λατανοπρόστης (Xalatan). Ο πατέρας της πέθανε τυφλός από το γλαύκωμα και έχει δύο ακόμη αδελφές που πάσχουν και οι δύο από ΠΓΑΓ. Δεν κατέστη δυνατή η γενετική ανάλυση σε αυτές.

Ο άλλος φορέας της T377M μεταλλαγής με οικογενές ΠΓΑΓ, K153, είναι ένας κύριος 84 ετών που γεννήθηκε και ζει στην Πέριδικα Ιωαννίνων. Έχει πέντε αδελφούς, τέσσερις από τους οποίους έχουν ΠΓΑΓ, όπως και ο γιος του. Έχει βαρύτερου τύπου ΠΓΑΓ με μέγιστη ΕΟΠ 35 mmHg, c/d 0,9 και σοβαρές αλλοιώσεις στα οπτικά του πεδία, ενώ έχει υποβληθεί σε χειρουργική αντιμετώπιση και στα δύο του μάτια (τραμπειουλεκτομή). Ηλικία διάγνωσης ΠΓΑΓ: 67 ετών. Προς το παρόν και αυτός έχει καλά ρυθμισμένη την ενδοφθάλμια πίεσή του.

* Οι Βλάχοι είναι ένα φύλο με τουλάχιστον μέχρι πριν λίγα χρόνια πολύ κλειστή κοινωνία, καθώς οι γάμοι στη συντριπτική τους πλειοψηφία γίνονταν μόνο μεταξύ τους. Έχει ενδιαφέρον λοιπόν ή ανεύρεση της μεταλλαγής στη φυλή τους, και ίσως μια πιο εκτεταμένη έρευνα σε αυτούς να αποκάλυπτε και στοιχεία για την μετακίνηση της μεταλλαγής μέσα στο χρόνο, καθώς είναι γνωστές από την ιστορία οι μεταναστεύσεις τους στην ευρύτερη περιοχή των Βαλκανίων.

Όσον αφορά τη σποραδική περίπτωση ΠΓΑΓ, φορέα της T377M μεταλλαγής, 20DC, πρόκειται για μια κυρία 81 ετών που κατάγεται από την Καστρίτσα και ζει ακόμη εκεί. Η μητέρα της πέθανε στην ηλικία των 100 ετών και δεν είχε γλαύκωμα. Ο πατέρας της πέθανε σε νεαρή ηλικία, 35 ετών, κατά τη διάρκεια του Δευτέρου Παγκόσμιου Πολέμου και είναι προφανές ότι δεν μπορούμε να γνωρίζουμε αν θα ανέπτυξε ποτέ γλαύκωμα. Η κυρία αυτή έχει ωστόσο δύο αδελφές και τρεις αδελφούς, όλοι τους υγιείς, χωρίς γλαύκωμα. Η ίδια παρουσιάζει σοβαρότερης μορφής ΠΓΑΓ, έχει χειρουργηθεί για γλαύκωμα και στα δύο της μάτια, είναι προς το παρόν ρυθμισμένη η ενδοφθάλμια πίεσή της αλλά έχει σοβαρές αλλοιώσεις από τα οπτικά της πεδία (μέγιστη ΕΟΠ 27 mmHg, c/d ratio: 0,8). Η διάγνωση του γλαυκώματός της έγινε στην ηλικία των 70 ετών.

Τα παραπάνω τρία μικρά χωριά βρίσκονται σε απόσταση 60-70 km από τη Χρυσοβίτσα, στο νομό Ιωαννίνων. (Σχήμα 3). Κανείς από τους τρεις παραπάνω ασθενείς δεν έχει σχέση ή καταγωγή από τη Χρυσοβίτσα, πηγαίνοντας πίσω δύο γενεές (καταγωγή των παππούδων – γιαγιάδων τους).

Το χωριό Τάξιαρχης βρίσκεται σε απόσταση 300 km περίπου από τη Χρυσοβίτσα και έχουμε την πληροφορία από τους κατοίκους του ότι υπήρχε κάποια «οδός» που συνέδεε τα δύο χωριά, και που ταξιδεύονταν αρκετά συχνά, κάποιες φορές μάλιστα για να φέρουν νέες γυναίκες από την Ήπειρο ώστε να παντρευτούν στον Τάξιαρχη, φέρνοντας έτσι νέο αίμα στο χωριό.

Η ιδρυτική μεταλλαγή μπορεί να προέκυψε κάπου στην περιοχή της Ηπείρου και να εξαπλώθηκε στις υπόλοιπες περιοχές της Ελλάδας και τελικά παγκοσμίως.



Σχήμα 3: Χάρτης της Ελλάδος και των γειτονικών χωρών που δείχνει στη γεωγραφική σχέση των τοποθεσιών όπου έχει βρεθεί μέχρι στιγμής η T377M «Ελληνική» μεταλλαγή. Δεν έχει περιληφθεί στο χάρτη η Κροατία που βρίσκεται 800km βορειοδυτικά της Ηπείρου καθώς δεν έχει γίνει ανάλυση του απλοτύπου για να διαπιστωθεί η πιθανή ομοιότητα της μεταλλαγής με την Ελληνική.

Στη μελέτη του Hewitt et al., [2007], που έχουμε προαναφέρει, έξι οικογένειες είχαν τον ίδιο «Ελληνικό» απλότυπο: η οικογένεια από τη Χρυσοβίτσα, δύο Αυστραλιανές οικογένειες και δύο οικογένειες από της ΗΠΑ με Ελληνική καταγωγή και μια οικογένεια από τη FYROM η οποία είναι σε γεωγραφική εγγύτητα με την Ήπειρο.

Σε ένα πρόσφατο άρθρο από την Κροατία [Zgaga et al., 2008]⁸⁷, μελετήθηκε ένα μικρό απομονωμένο χωριό που ονομάζεται Veli Brgud (550

κάτοικοι) στα όρη της χερσονήσου Ίστρια. Στο συγκεκριμένο χωριό ήταν γνωστό από προηγούμενες μελέτες ότι οι κάτοικοί του παρουσίαζαν σε μεγάλο ποσοστό μεταξύ της ΠΓΑΓ πρώιμης έναρξης. Εννέα από της 16 ασθενείς με ΠΓΑΓ που εξετάστηκαν έφεραν την Της377Μ μεταλλαγή. Δεν έχει γίνει μέχρι στιγμής ανάλυση του απλότυπου της μεταλλαγής της ώστε να διαπιστωθεί αν υπάρχει συσχέτιση με την «Ελληνική» Της377Μ μεταλλαγή, αλλά η απόσταση του χωριού αυτού από την Ήπειρο είναι περίπου 800 km σε ευθεία γραμμή.

Εν κατακλείδει είναι πιθανόν ότι της αυτές οι μέχρι στιγμής ευρεθείσες περιπτώσεις φορέων της Της377Μ μεταλλαγής στη Νοτιοανατολική Ευρώπη να υποδεικνύουν μια κοινή ιδρυτική μεταλλαγή η οποία μέσω των μεταναστεύσεων που συνέβησαν κατά τη διάρκεια των περασμένων αιώνων να εξαπλώθηκε στην περιοχή.

Ένα ακόμη συμπέρασμα που κάνει εντύπωση, μελετώντας την ηλικία διάγνωσης του γλαυκώματος στις διάφορες πληθυσμιακές ομάδες που μελετήθηκαν, είναι το εξής: θα περίμενε κανείς λογικά σε ασθενείς με γνωστό οικογενειακό ιστορικό η ηλικία διάγνωσης του γλαυκώματος να είναι μικρότερη λόγω της ενημέρωσης ή της επαγρύπνησης μεταξύ των μελών των εν λόγω οικογενειών. Κάτι τέτοιο όμως δεν προκύπτει από τα ευρήματά μας, 63.1 ± 11 είναι η μέση ηλικία διάγνωσης γλαυκώματος στις σποραδικές περιπτώσεις έναντι 66.8 ± 9.8 αυτών με γνωστό οικογενειακό ιστορικό (και οι δύο ομάδες χωρίς τη μεταλλαγή Τ377Μ).

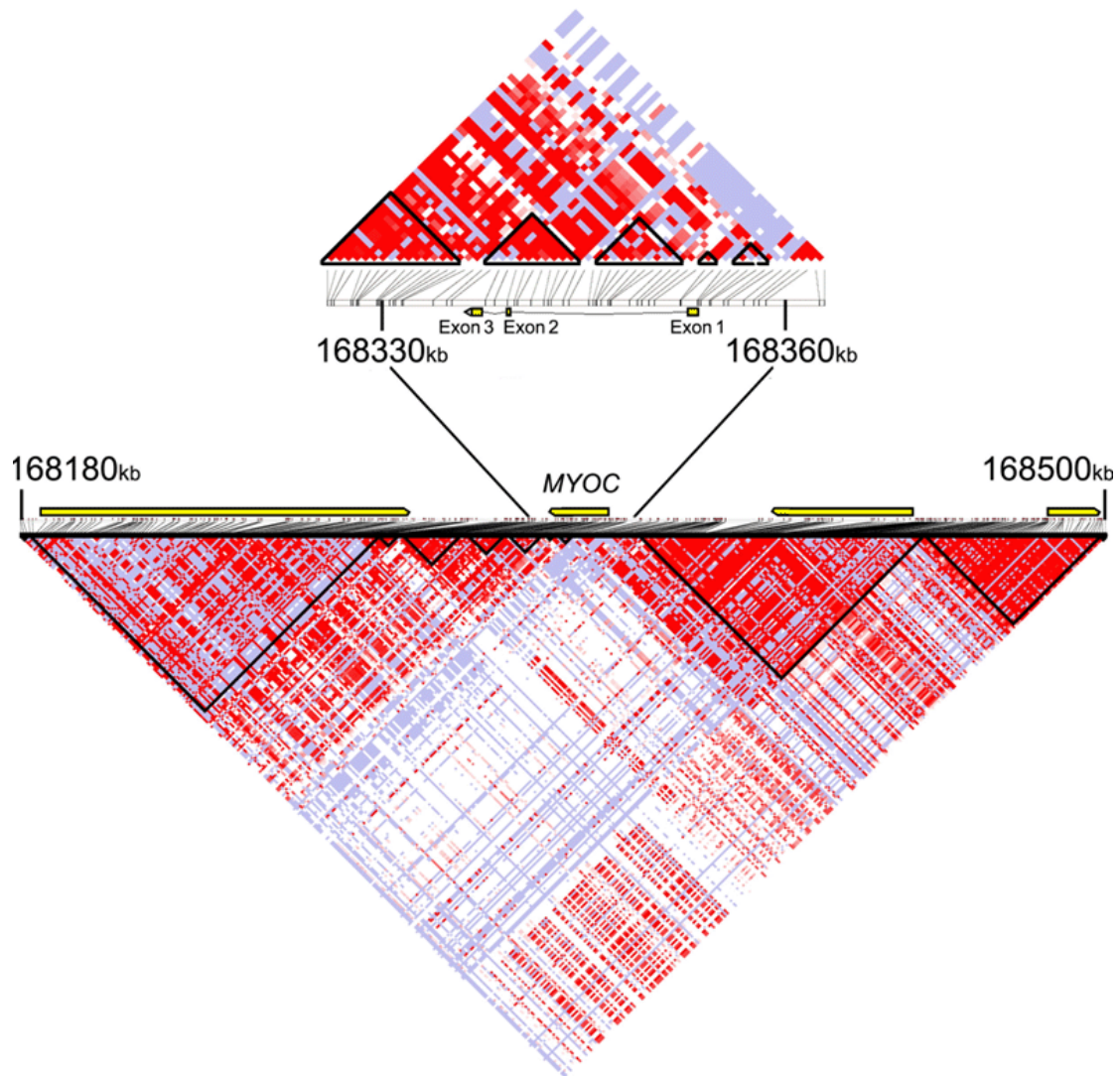
Το γεγονός αυτό ίσως θα έπρεπε να μας προβληματίσει ως οφθαλμιάτρους όσον αφορά την ενημέρωση που κάνουμε στους πάσχοντες και τις οικογένειές τους για τη φύση της νόσου τους, όσο και για το χρόνο που αφιερώνουμε στον κάθε ασθενή, ανάλογα με το επίπεδο και τη διάθεσή του για συμμόρφωση με τη θεραπεία. Ίσως υπάρχει αρκετός δρόμος που πρέπει να καλυφθεί ακόμη κυρίως από εμάς τους οφθαλμιάτρους, στην προσέγγιση και την ενημέρωση των ασθενών μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μεταλλαγές στο γονίδιο της Μυοσιλίνης έχει βρεθεί πως ευθύνονται για το 3-5% του Πρωτοπαθούς Γλαυκώματος Ανοικτής Γωνίας (ΠΓΑΓ) σε διάφορες πληθυσμιακές ομάδες. Έχουν βρεθεί τουλάχιστον 70 μεταλλαγές του γονιδίου της Μυοσιλίνης, ορισμένες από τις οποίες έχουν αναγνωριστεί ως ιδρυτικές. Ειδικότερα, η T377M μεταλλαγή του γονιδίου της Μυοσιλίνης έχει προκύψει τρεις τουλάχιστον, ανεξάρτητες μεταξύ τους, φορές στην ιστορία: στη Μεγάλη Βρετανία, την Ινδία και την Ελλάδα. Στην παρούσα διατριβή ερευνήσαμε την εξάπλωση της «Ελληνικής» ιδρυτικής T377M μεταλλαγής στην περιοχή της Ηπείρου, στη Βορειοδυτική Ελλάδα, η οποία μπορεί να είναι και η περιοχή στην οποία πρωτοεμφανίστηκε η μεταλλαγή. Στο απομονωμένο χωριό Χρυσοβίτσα, στην οροσειρά της Πίνδου, 20 από τα 66 μέλη μιας μεγάλης οικογένειας με ΠΓΑΓ φέρουν την T377M μεταλλαγή, ενώ κανένας από τους μάρτυρες από την περιοχή της Ηπείρου (n=124) δεν έφερε τη μεταλλαγή ($p < 0,001$). Ανάμεσα στις λοιπές περιπτώσεις με ΠΓΑΓ που μελετήθηκαν από την περιοχή της Ηπείρου δύο από 14 περιπτώσεις με οικογενές ΠΓΑΓ και μία από 80 σποραδικές περιπτώσεις ΠΓΑΓ εμφάνισαν τη μεταλλαγή ($p = 0,057$). Η πιθανότητα διάγνωσης του ΠΓΑΓ, προϊούσης της ηλικίας, μεταξύ των φορέων της T377M μεταλλαγής είναι 23% στην ηλικία των 40, και φθάνει το 100% στην ηλικία των 75. Η μέση ηλικία διάγνωσης του ΠΓΑΓ στους φορείς της T377M μεταλλαγής είναι τα 51 έτη (SD 13,9), ηλικία νεαρότερη από αυτές των σποραδικών και των περιπτώσεων με οικογενές ΠΓΑΓ: 63,1 (SD 11) και 66,8 (SD 9,8) έτη αντίστοιχα. Ιστορικά και γεωγραφικά στοιχεία μπορούν να μας βοηθήσουν να κατανοήσουμε την εξάπλωση της μεταλλαγής στην Ελλάδα και παγκόσμια.

ABSTRACT

Mutations in the MYOC gene have been shown to explain 3-5% of unrelated primary open angle glaucoma (POAG) in different populations. At least 70 different MYOC mutations have been identified, some of those being characterized as founder mutations. In particular, the T377M MYOC mutation has arisen at least three separate times in history, in Great Britain, India, and Greece. We explored the distribution of the “Greek” T377M founder mutation in the Epirus region in Northwestern Greece, which could be its origin. In the isolated Chrysovitsa village in the Pindus Mountains, a large POAG family demonstrated the T377M mutation in 20 of 66 family members while no controls from the Epirus region ($n = 124$) carried this mutation ($p < 0.001$). Among other POAG cases from Epirus, two out of 14 familial cases and one out of 80 sporadic cases showed the mutation ($p = 0.057$). The probability of POAG diagnosis with advancing age among mutation carriers was 23% at age 40, and reached 100% at age 75. POAG patients with the T377M mutation were diagnosed at a mean age of 51 years (SD 13.9), which is younger than the sporadic or familial POAG cases: 63.1 (SD 11) and 66.8 (SD 9.8) years, respectively. Historical and geographical data may explain the distribution of this mutation within Greece and worldwide.



Σχήμα 4: Haplotype blocks of the 320 kbp region containing the myocilin (MYOC) gene, in subjects from the Centre d'Etude du Polymorphisme Humain collection in Utah. The plotted D' statistic is orientated to the MYOC ideogram position and the strength of linkage disequilibrium is displayed in increasing shades of red for higher values. The relative gene locations are indicated by yellow bars. Hewitt *et al.*, *Molecular Vision* 2007; 13:487-92

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Frederick C. Blodi, MD, American Academy of Ophthalmology, Vol. 10
2. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol* 2006; 90(3):262-267.
3. National Advisory Eye Council: Vision Research- A National Plan: 1982. Washington, DC, National Institutes of Health, 1982, vol 1, pp 12-13
4. Quality of Care Committee, Glaucoma Panel: Primary Open-Angle Glaucoma (Preferred Practice Pattern). San Fransisco, American Academy of Ophthalmology, 1992.
5. Topouzis F. et al, Thessaloniki Eye Study, *Am J Ophthalmol.* 2007 Oct; 144(4):511-9
6. Tuulonen A, Aiararsinen PJ, Broila E, Forsman E, Friberg K, Kaila M, Klement A, Makela M, Oskala P, Puska P, Sloranta L, Teir H, Uusitalo H, Vainio-Jylha E, Vuori ML. The finnish evidence-based guideline for open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand.* 2003 ;81:3-18
7. Stone E.M, Fingert JH, Alward WLM et al. Identification of a gene that causes primary open-angle glaucoma. *Science* 1997:275(5300) :668-670.
8. Lutjen-Drecoll E, May CA, Polansky JR, Johnson DH, Bloemendal H, Nguyen TD. Localized of the stress proteins aB-Crystallin and trabecular meshwork inducible glucocorticoid response protein in normal and glaucomatous trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:517-525.

9. Ritch R. Exfoliation syndrome. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12:124-130.
10. Mudumbai R, Liebmann JM, Ritch R. Combined exfoliation and pigment dispersion: an overlap syndrome. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1999;97:297-314.
11. Ritch R. Pigment Dispersion Syndrome. *AraJ Ophthalmol* 1998;126:442-445.
12. Liebmann JM, Ritch R. Complications of glaucoma surgery. In: Ritch R, Shields MB, Krupin T. *The Glaucomas*. St Louis, Mosby 1996;84:1703-1736.
13. Simmons RJ, Maestre FA. Malignant Glaucoma. In: Ritch R, Shields MB, Krupin T. *The Glaucomas*. St Louis, Mosby, 1996;39:841-855.
14. Lowe RF, Ritch R. Angle-closure glaucoma. Mechanisms and epidemiology. In: Ritch R, Shields MB, Krupin T. *The Glaucomas*. St Louis, Mosby, 1996;37:801-820.
15. Traverso GE. Angle-closure glaucoma. In: Duker JS and Yanoff M (eds). *Ophthalmology*. St. Louis, Mosby 2002: ch. 12.13.
16. Lowe RF. Primary angle-closure glaucoma: family histories and anterior chamber depth. *Br J Ophthalmol* 1964;48:191-197.
17. Thygesen J, Kessing SV, Krogh E, Zibbrandtsen P. *The Danish Glaucoma guidelines* 1997.
18. Mapstone R. Provocative tests in closed-angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1976;60:115-117.
19. Traverso CE, Tomey K.F, Gandolfo E. The glaucoma in pseudophakia. *Curr Opin Ophthalmol* 1996;7(2):65-71.
20. Gedde SJ Management of glaucoma after retinal detachment surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 2002;13:103-109.

21. Nash RW, Lindquist T A. Bilateral angle-closure glaucoma associated with uveal effusion: Presenting sign of HIV infection. *Surv Ophthalmol* 1992;36:255-258.
22. Moorthy R S, Mermoud A, Baerveldt G, Minckler D S, Lee P P, Rao N A. Glaucoma associated with uveitis. *Surv Ophthalmol* 1997;41:361-394.
23. Quigley HA: Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol* 80:389-93, 1996
24. Kahn HA, Milton RC: Revised Framingham eye study prevalence of glaucoma and diabetic retinopathy. *Am J Epidemiol* 111:76976, 1980
25. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, et al: Racial variations in the prevalence of primary open angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA* 266:36974, 1991
26. Johnson AT, Alward WLM, Sheffield VC, Stone EM: Genetics and Glaucoma, in Ritch R, Shields MB, Krupin T (eds): *The Glaucomas*, Vol. 1. St. Louis, Mosby Year Book, Inc., 1996, pp 3954
27. Harris D: The inheritance of glaucoma: a pedigree of familial glaucoma. *Am J Ophthalmol* 60:905, 1965
28. Kitsos G, Cote G, Psilas K: [An example of dominant heredity in the transmission of primary open-angle glaucoma in a northwestern region of Greece]. *J Fr Ophtalmol* 11:85964,1988
29. Newell FW: *Ophthalmology: principles and concepts*. St Louis, C.V. Mosby Company, 1986
30. Ton CC, Hirvonen H, Miwa H, et al: Positional cloning and characterization of a paired box- and homeobox-containing gene from the aniridia region. *Cell* 67:105974,1991
31. Semina EV, Reiter R, Leysens NJ, et al: Cloning and characterization of a novel bicoid-related homeobox transcription factor gene, R1EG, involved in Rieger syndrome. *Nat Genet* 14:3929,1996

32. Nishimura DY, Swiderski RE, Alward WL, et al: The forkhead transcription factor gene FKHL7 is responsible for glaucoma phenotypes which map to 6p25. *Nat Genet* 19:1407, 1998
33. Mears AJ, Jordan T, Mirzayans F, Dubois S, Kume T, Parlee M et al. Mutations of the forkhead:winged helix gene, FKHL7, in patients with AxenfeldRieger Anomaly. *Am J Hum Genet* 1998; 63:13161328
34. Sheffield VC, Stone EM, Alward WL, et al: Genetic linkage of familial open angle glaucoma to chromosome 1q21-q31. *Nat Genet* 4:4750,1993
35. Richards, J.E., Lichter, P.R., Boehnke,M., Uro,J.L.A., Torrez,D., Wong, D. and Johnson, A-T. (1994) Mapping of a gene for autosomal dominant juvenile-onset open-angle glaucoma to chromosome 1q. *Am. J. Hum. Genet.*, 54, 6270
36. Wiggs, J.L., Haines, J.L., Paglinauan, C, Fine,A., Sporn, C. and Lou D. (1994) Genetic linkage of autosomal dominant juvenile glaucoma to 1q21q31 in three affected pedigrees. *Genomics*, 21, 99303
37. Meyer,A., Valtot,F., Bechetoille,A., RoulandJ.F., Dascotte,J.C, Ferec,C, BachJ., Chaventre,A. and Garchon,H. (1994) Linkage between juvenile glaucoma and chromosome 1q in two French families. *Comp. Rend. Acad Sci (Paris)*, 317, 565570
38. Graff,C, Urbak,S.F., Jerndal,T. and Wadelius,C. (1995) Confirmation of linkage to 1q'2131 in a Danish autosomal dominant juvenile-onset glaucoma family and evidence of genetic heterogeneity. *Hum. Genet*, 96, 285289
39. Liu Y, Schmidt S, Qin X, Gibson J, Munro D, Wiggs JL, Hauser MA, Allingham RR: No association between OPA1 polymorphisms and primary open-angle glaucoma in three different populations. *Mol Vis*. 2007 Nov 26;13:2137-41

40. Alward WL, Fingert JH, Coote MA, et al. 1998. Clinical features associated with mutations in the chromosome 1 open-angle glaucoma gene (GLC1A). *N Engl J Med* 338:10227,
41. Sarfarazi M, Child A, Stoilova D, et al. Localization of the fourth locus (GLC1E) for adult-onset primary open-angle glaucoma to the 10p15-pl4 region. *Am J Hum Genet* 1998;62:641652
42. Rezaie T, Child A, Hitchings R, et al. Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* 2002;295:10771079
43. Li, Y, Kang, J, Horwitz, MS. (1998) Interaction of an adenovirus E3 14.7-kilodalton protein with a novel tumor necrosis factor alpha-inducible cellular protein containing leucine zipper domains. *Mol Cell Biol* 18,1601-1610
44. Schinzel, A. (1984) *Catalogue of Unbalanced Chromosomal Abberations in Man*. Degruyter, Berlin
45. Sarfarazi,M., Akarsu,A.N., Hossain,A., Turacli,M.E., Aktan,S.G., Barsoum-Homsy,M., Chevrette, L. and Sayli,B.S. (1995) Assignment of a locus (GLC3A) for primary congenital glaucoma (Buphthalmos) to 2p21 and evidence for genetic heterogeneity. *Genomics*, 30,171177
46. Bejjani,B.A., Anderson,K.L., Lewis,R.A., Tomey,K.F., Astle,W.F., Dueker,D.K., Karcioğlu,Z.A., Otterud,B., Leppert,M. and Lupski,J.R. (1996) Mapping strategies in primary congenital glaucoma (PCG) *Am. J. Hum. Genet*, 59 (supplement), A212/A1216
47. Plasilova,M., Kadasi,L., Polakova,H., Ferakova,E. and Ferak,V. (1997) Linkage mapping of a locus for primary congenital glaucoma in Slovak gypsy population. *Eur. Soc. Hum. Genet. Meeting*, May 1720
48. Stoilov I, Akarsu AN, Alozie I, Child A, Barsoum-Homsy M, Turacli ME et al. Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations

- disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 573584
49. Akarsu AN, Turacli ME, Aktan SG, Barsoum-Homsy M, Chevrette L, Sayli BS, Sarfarazi M. A second locus (GLC3B) for primary congenital glaucoma (buphthalmos) maps to the 1p36 region. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1199 1203
50. Hanson IM, Fletcher JM, Jordan T, Brown A, Taylor D, Adams RJ et al. Mutations at the PAX6 locus are found in heterogeneous anterior segment malformations including Peter's anomaly. *Nat Genet* 1994; 6:168173
51. Mirzayans F, Pearce WG, MacDonald IM, Walter MA. Mutation of the PAX6 gene in patients with autosomal dominant keratitis. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 539548
52. Glaser T, Jepeal L, Edwards JG, Young R, Favor J, Maas RL. PAX6 gene dosage effect in a family with congenital cataracts, aniridia, anophthalmia and central nervous system defects. *Nat Genet* 1994; 7: 463469
53. Alward WL, Semina EV, Kalenak W, Heon E, Sheth BP, Stone EM, Murray JC. Autosomal dominant iris hypoplasia is caused by a mutation in the Rieger Syndrome (RIEG:PITX2) gene. *Am J Ophthalmol* 1998; 125: 98 100
54. Kulak SC, Kozlowski K, Semina EV, Pearce WG, Walter MA. Mutation in the RIEG1 gene in patients with iridogoniodysgenesis syndrome. *Hum Mol Genet* 1998; 7:1113 1117
55. Dickens,CJ. and Hosskins,H.DJ. (1996) Epidemiology and pathophysiology of congenital glaucoma. In Ritch,R., Shields,B.M. and Krupin,T. (eds) *The Glaucomas*. Mosby, St Louis, Vol 2, pp. 729738

56. Gencik, A. (1989) Epidemiology and genetics of primary congenital glaucoma in Slovakia: description of a form of primary congenital glaucoma in gypsies with autosomal dominant inheritance and complete penetrance. *Dev. Ophthalmol.*, 16,76115
57. Francois, J. (1972) Congenital glaucoma and its inheritance. *Ophthalmologica*, 181, 6173
58. Aung T, Ockada L, Ebenezer ND, Morris AG, Krawczak M, Thiselton DL, Alexander C, Votruba M, Brice G, Child AH, Francis PJ, Hitchings RA, Lehmann OJ, Bhattacharya SS. A major marker for normal tension glaucoma: association with polymorphisms in the OPA1 gene. *Hum Genet* 2002; 110:52-6
59. Alexander C, Votruba M, Pesch UE, Thiselton DL, Mayer S, Moore A, Rodriguez M, et al (2000). A gene encoding a dynamin-related GTPase is mutated in autosomal dominant optic atrophy(OPA1) linked to chromosome 3q28. *Nat Genet* 26:211-215
60. Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, Pelloquin L, et al (2000). Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet* 26:207-210
61. Tamm ER. Myocilin and glaucoma: facts and ideas. *Prog Retin Eye Res.* 2002 Jul;21(4):395-428
62. Gobeil S, Letartre L, Raymond V. Functional analysis of the glaucoma-causing TIGR/myocilin protein: integrity of amino-terminal coiled-coil regions and of lactomedin homology domain is essential for extracellular adhesion and secretion. *Exp Eye Res.* 2006 Jun;82(6):1017-29
63. Fingert JH, Ying L, Swiderski RE, Nystuen AM, Arbour NC, Alward WL, Sheffield VC, Stone EM. Characterization and comparison of

- the human and mouse GLC1A glaucoma genes. *Genome Res.* 1998 Apr;8(4):377-84
64. Abderrahim, H.; Jaramillo-Babb, V.L.; Zhou, Z.; Vollrath, D. : Characterization of the murine TIGR/myocilin gene. *Mammalian Genome* 9: 673-675, 1998
65. Kubota, R.; Noda, S.; Wang, Y.; Minoshima, S.; Asakawa, S.; Kudoh, J.; Mashima, Y.; Oguchi, Y.; Shimizu, N.: A novel myocin-like protein (Myocilin) expressed in the connecting cilium of the photoreceptor: molecular cloning, tissue expression, and chromosomal mapping. *Genomics* 41: 360-369, 1997
66. Michels-Rautenstrauss, K. G.; Mardin, C. Y.; Budde, W. M.; Liehr, T.; Polansky, J.; Nguyen, T.; Timmerman, V.; Van Broeckhoven, C.; Naumann, G. O. H.; Pfeiffer, R. A.; Rautenstrauss, B. W. : Juvenile open angle glaucoma: fine mapping of the TIGR gene to 1q24.3-q25.2 and mutation analysis. *Hum. Genet.* 102: 103-106, 1998
67. Escribano, J.; Ortego, J.; Coca-Prados, M. : Isolation and characterization of cell-specific cDNA clones from a subtractive library of the ocular ciliary body of a single normal human donor: transcription and synthesis of plasma proteins. *J. Biochem.* 118: 921-931, 1995
68. Human Genome Nomenclature Working Group: (Hum Mutat 11:1-3, 1998; Hum Mutat 15:7-12, 2000; Hum Mutat 22:181-182, 2003).
69. Mackey DA, Healey DL, Fingert JH, Coote MA, Wong TL, Wilkinson CH, McCartney PJ, Rait JL, de Graaf AP, Stone EM, Craig JE. Glaucoma phenotype in pedigrees with the myocilin Thr377Met mutation. *Arch Ophthalmol* 2003; 121:1172-80
70. Wiggs JL, Allingham RR, Vollrath D, Jones KH, De La Paz M, Kern J, Patterson K, Babb VL, Del Bono EA, Broome BW, Pericak-Vance MA, Haines JL. Prevalence of mutations in TIGR/Myocilin in

- patients with adult and juvenile primary open-angle glaucoma. *Am J Hum Genet* 1998; 63:1549-52
71. Shimizu S, Lichter PR, Johnson AT, Zhou Z, Higashi M, Gottfredsdottir M, Othman M, Moroi SE, Rozsa FW, Schertzer RM, Clarke MS, Schwartz AL, Downs CA, Vollrath D, Richards JE. Age-dependent prevalence of mutations at the *GLC1A* locus in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2000; 130:165-77
72. Kanagavalli J, Krishnadas SR, Pandaranayaka E, Krishnaswamy S, Sundaresan P. Evaluation and understanding of myocilin mutations in Indian primary open angle glaucoma patients. *Mol Vis* 2003; 9:606-14 <<http://www.molvis.org/molvis/v9/a74/>>
73. Melki R, Idhajji A, Driouiche S, Hassani M, Boukabboucha A, Akhayat O, Garchon H, Belmouden A. Mutational analysis of the Myocilin gene in patients with primary open-angle glaucoma in Morocco. *Ophthalmic Genet* 2003; 24:153-60
74. Puska P, Lemmela S, Kristo P, Sankila EM, Jarvela I. Penetrance and phenotype of the Thr377Met Myocilin mutation in a large Finnish family with juvenile- and adult-onset primary open-angle glaucoma. *Ophthalmic Genet* 2005; 26:17-23
75. Petersen MB, Kitsos G, Samples JR, Gaudette ND, Economou-Petersen E, Sykes R, Rust K, Grigoriadou M, Aperis G, Choi D, Psilas K, Craig JE, Kramer PL, Mackey DA, Wirtz MK. A large *GLC1C* Greek family with a myocilin T377M mutation: inheritance and phenotypic variability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47:620-5
76. Allingham RR, Wiggs JL, De La Paz MA, Vollrath D, Tallett DA, Broomer B, Jones KH, Del Bono EA, Kern J, Patterson K, Haines JL, Pericak-Vance MA. Gln368STOP myocilin mutation in families with late-onset primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39:2288-95

77. Zhou Z, Vollrath D. A cellular assay distinguishes normal and mutant TIGR/myocilin protein. *Hum Mol Genet* 1999; 8:2221-8
78. Hewitt AW., Samples JR., Allingham RR, Järvelä I, Kitsos G, Krishnadas SR., Richards JE., Lichter PR., Petersen MB., Sundaresan P, Wiggs JL., Mackey DA., Wirtz MK: Investigation of founder effects for the Thr377Met Myocilin mutation in glaucoma families from differing ethnic backgrounds. *Mol Vis* 2007; 13:487-492
79. Kitsos G, Eiberg H, Economou-Petersen E, Wirtz MK, Kramer PL, Aspiotis M, Tommerup N, Petersen MB, Psilas K. 2001. Genetic linkage of autosomal dominant primary open angle glaucoma to chromosome 3q in a Greek pedigree. *Eur J Hum Genet* 9:452-457
80. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16:1215.
81. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988 Jan 29;239(4839):487-91
82. Wirtz MK, Samples JR, Kramer PL, Rust K, Topinka JR, Yount J, Koler RD, Acott TS. 1997. Mapping a gene for adult-onset primary open-angle glaucoma to chromosome 3q. *Am J Hum Genet* 60:296-304.
83. Georgiadès G, Papathanasiou A, Moschovakos A, Papadopoulos N, Vamvoukos D, Stergiou G, Vogiatzis C, Mpakatzi E. 1979. Etude concernant l'interpetation des conditions et des causes de la grande frequence du glaucome au village Taxiarchis de Chalcidique. *Scientific Annals of Medical School* IB:341-351
84. Wirtz MK, Konstas AG, Samples JR, Kaltsos K, Economou A, Dimopoulos A, Georgiadou I, Petersen MB. 2008. Myocilin

- variations and familial glaucoma in Taxiarchis, a small Greek village. *Mol Vis* 14:774-781
85. Hewitt AW, Samples JR, Allingham RR, Järvelä I, Kitsos G, Krishnadas SR, Richards JE, Lichter PR, Petersen MB, Sundaresan P, Wiggs JL, Mackey DA, Wirtz MK. 2007. Investigation of founder effects for the Thr377Met myocilin mutation in glaucoma families from differing ethnic backgrounds. *Mol Vis* 13:487-492
86. Αραβαντινός Π. Χρονογραφία της Ηπείρου. Τόμος 2 σελ. 222
87. Zgaga L, Hayward C, Vataavuk Z, Bencic G, Zemunik T, Valkovic A, Valkovic -Antic I, Bucan K, Rudan I. 2008. High prevalence of glaucoma in Veli Brgud, Croatia, is caused by a dominantly inherited T377M mutation in the MYOC gene. *Br J Ophthalmol* 92:1567–1568
88. European Glaucoma Society. 2008. Terminology and Guidelines for Glaucoma. Savona, Italy: Editrice DOGMA S.r.l.
89. Stoilova D, Child A, Trifan OC, Crick RP, Coakes RL, Sarfarazi M. Localization of a locus (GLC1B) for adult-onset primary open angle glaucoma to the 2cen-q13 region. *Genomics*. 1996 Aug 15;36(1):142-50
90. Trifan OC, Traboulsi EI, Stoilova D, Alozie I, Nguyen R, Raja S, Sarfarazi M. A third locus (GLC1D) for adult-onset primary open-angle glaucoma maps to the 8q23 region. *Am J Ophthalmol*. 1998 Jul;126(1):17-28
91. Wirtz MK, Samples JR, Rust K, Lie J, Nordling L, Schilling K, Acott TS, Kramer PL. GLC1F, a new primary open-angle glaucoma locus, maps to 7q35-q36. *Arch Ophthalmol*. 1999 Feb;117(2):237-41
92. Suriyapperuma SP, Child A, Desai T, Brice G, Kerr A, Crick RP, Sarfarazi M. A new locus (GLC1H) for adult-onset primary open-angle glaucoma maps to the 2p15-p16 region. *Arch Ophthalmol*. 2007 Jan;125(1):86-92

93. Allingham RR, Wiggs JL, Hauser ER, Larocque-Abramson KR, Santiago-Turla C, Broomer B, Del Bono EA, Graham FL, Haines JL, Pericak-Vance MA, Hauser MA. Early adult-onset POAG linked to 15q11-13 using ordered subset analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Jun;46(6):2002-5
94. Wiggs JL, Lynch S, Ynagi G, Maselli M, Auguste J, Del Bono EA, Olson LM, Haines JL. A genomewide scan identifies novel early-onset primary open-angle glaucoma loci on 9q22 and 20p12. *Am J Hum Genet.* 2004 Jun;74(6):1314-20
95. Baird PN, Foote SJ, Mackey DA, Craig J, Speed TP, Bureau A. Evidence for a novel glaucoma locus at chromosome 3p21-22. *Hum Genet.* 2005 Jul;117(2-3):249-57
96. Pang CP, Fan BJ, Canlas O, Wang DY, Dubois S, Tam PO, Lam DS, Raymond V, Ritch R. A genome-wide scan maps a novel juvenile-onset primary open angle glaucoma locus to chromosome 5q. *Mol Vis.* 2006 Feb 14;12:85-92
97. Wang DY, Fan BJ, Chua JK, Tam PO, Leung CK, Lam DS, Pang CP. A genome-wide scan maps a novel juvenile-onset primary open-angle glaucoma locus to 15q. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 Dec;47(12):5315-21