



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΟΠΤΙΚΗ & ΟΡΑΣΗ



**Εκτίμηση της οπτικής πυκνότητας της χρωστικής της
ωχράς σε ασθενείς με ετερόπλευρη ηλικιακή εκφύλιση
της ωχράς κηλίδας υγρού τύπου**

ΤΣΙΚΑ ΧΡΥΣΑΝΘΗ

Επιβλέπων Καθηγητής: Τσιλιμπάρης Μιλτιάδης

ακαδημαϊκό έτος: 2008-2009

**Εκτίμηση της οπτικής πυκνότητας της χρωστικής της
ωχράς σε ασθενείς με ετερόπλευρη ηλικιακή εκφύλιση
της ωχράς κηλίδας υγρού τύπου**

Τσίκα Χρυσάνθη

Επιβλέπων: Τσιλιμπάρης Μιλτιάδης

Η παρούσα εργασία υπεβλήθη ως μέρος των υποχρεώσεων για την απονομή του μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης του Διατμηματικού Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Οπτική και Όραση» και παρουσιάστηκε στην Τριμελή Επιτροπή αποτελούμενη από τους:

1. Τσιλιμπάρη Μιλτιάδη
2. Πλαϊνή Σωτήρη
3. Μοσχανδρέα Ιωάννα

ακαδημαϊκό έτος: 2008-2009

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Χρωστική της Ωχράς κηλίδας, ΧΩ (Macular Pigment, MP) είναι μια κίτρινη ελαιώδης ουσία, η οποία αποτελείται από τα καροτενοειδή λουτεΐνη και ζεαξανθίνη. Εντοπίζεται στον οπίσθιο πόλο του βυθού του οφθαλμού παρουσιάζοντας μέγιστη συγκέντρωση στην 1^η κεντρική μοίρα της ωχράς κηλίδας, το κεντρικό βοθρίο, με φθίνουσα συγκέντρωση όσο απομακρυνόμαστε από αυτό, ώστε μετά τις 5-6 μοίρες πρακτικά να μην ανιχνεύεται. Είναι καθαρά διαιτητικής προέλευσης, με κύριες διατροφικές πηγές τα πράσινα φυλλώδη και κίτρινα λαχανικά και φρούτα (σπανάκι, καλαμπόκι κ.ά.). Τα επίπεδά της στον αμφιβληστροειδή επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, εκτός από τη διατροφή, όπως το κάπνισμα, το χρώμα της ίριδας, το σωματικό λίπος, η ηλικιακή έκθεση, η ηλικία και το φύλο. Εμφανίζει δύο βασικές ιδιότητες: απορροφά τα μικρά μήκη κύματος του ορατού φάσματος (400-500nm, maximum: 465nm) και εξουδετερώνει τα οξειδωτικά προϊόντα του μεταβολισμού του αμφιβληστροειδή, όπως τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Χάρη στην δεύτερη ιδιότητά της κυρίως έχει εμπλακεί στην έρευνα για την παθογένεση και την εξέλιξη της Ηλικιακής Εκφύλισης της Ωχράς κηλίδας (Age-related Macular Degeneration, AMD)

Η Ηλικιακή Εκφύλιση της Ωχράς Κηλίδας είναι στην πραγματικότητα μια παθολογική οντότητα άγνωστης αιτιολογίας. Παρόλο που αποτελεί την κύρια αιτία τύφλωσης στο δυτικό κόσμο για ηλικίες πάνω από 65 ετών, η παθογένεσή της δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Θεωρείται πως είναι φλεγμονώδης διαδικασία, η οποία έχει γενετική προδιάθεση και ποικίλες περιβαλλοντικές επιδράσεις. Το αυξημένο οξειδωτικό στρες του αμφιβληστροειδή φαίνεται να συμβάλλει σημαντικά στην εκδήλωσή της. Περιλαμβάνει δύο μορφές, τον ατροφικό (ξηρή) και τον εξιδρωματικό τύπο (υγρή ωχροπάθεια) και η προσβολή είναι πάντα αμφοτερόπλευρη αν και ασύμμετρη. Συνήθως πρωτοεμφανίζεται ως ξηρή και εξελίσσεται στην υγρή μορφή. Η εμφάνιση υγρής μορφής ωχροπάθειας σηματοδοτεί την προχωρημένη μορφή της νόσου και οι ασθενείς αυτοί βρίσκονται πλέον σε μεγάλο κίνδυνο εμφάνισης της υγρής μορφής και στον έτερο οφθαλμό τους, γεγονός που μειώνει τελικά δραματικά την όρασή τους.

Πολλές μελέτες έχουν γίνει για το αν και πώς συσχετίζεται η MP με την εμφάνιση και την εξέλιξη της νόσου καθώς και με τους παράγοντες που την επηρεάζουν. Δεν έχει δοθεί ωστόσο ακόμα σαφής απάντηση για τη σχέση της με την εξέλιξη της AMD. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να μελετηθεί η πιθανή σχέση μεταξύ των επιπέδων της MP και της προχωρημένης μορφής της νόσου. Το 2001 η πρώτη μεγάλη μελέτη για το ρόλο των συμπληρωμάτων με αντιοξειδωτικά στην AMD, η AREDS I έδειξε καθυστέρηση στην εξέλιξη της νόσου κατά 25% σε πέντε χρόνια στους ασθενείς εκείνους που εμφάνιζαν εξιδρωματική μορφή της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς στον έναν οφθαλμό και ξηρού τύπου ωχροπάθεια στο άλλο μάτι, όταν λάμβαναν συμπληρώματα διατροφής με αντιοξειδωτικά και Zn. Ο κίνδυνος εμφάνισης της υγρής μορφής AMD στον έτερο οφθαλμό των ασθενών αυτών βρέθηκε ότι είναι 43% στα 5 χρόνια. Στη μελέτη αυτή δε μετρήθηκαν τα επίπεδα της χρωστικής στους ασθενείς με ετερόπλευρη υγρή ωχροπάθεια, στον οφθαλμό με ξηρή ωχροπάθεια, που διατρέχει τον αυξημένο αυτό κίνδυνο επιδείνωσης.

Η καθυστέρηση στην εξέλιξη της νόσου που βρέθηκε στην AREDS μετά από λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών, πιθανά σημαίνει μειωμένη αντιοξειδωτική προστασία αυτών των αμφιβληστροειδών. Μειωμένη ποσότητα χρωστικής της Ωχράς θα μπορούσε να έχει μια τέτοια συνέπεια. Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια προσδιορισμού των επιπέδων της χρωστικής αυτών των οφθαλμών. Μετρήθηκε η χρωστική της ωχράς στους οφθαλμούς με ξηρή ωχροπάθεια 34 ασθενών με ετερόπλευρη υγρή AMD. Η χρωστική ποσοτικοποιήθηκε ως Οπτική Πυκνότητα της χρωστικής της ωχράς (Macular Pigment Optical Density, MPOD) με την ψυχοφυσική μέθοδο της HFP (Heterochromatic Flicker Photometry, δηλαδή Φωτομετρία Ετεροχρωματικής Εναλλαγής Φωτεινότητας), με μια καινοτόμο συσκευή, το QuantifEYE[®] (Zeavision). Συγκρίθηκε με την MPOD 33 ασθενών με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD και την MPOD 35 υγιών ατόμων παρόμοιου ηλικιακού εύρους. Στη στατιστική ανάλυση συμπεριλήφθηκαν στο μοντέλο της σύγκρισης (Generalized Linear Models, SPSS 15.0) οι παράγοντες ηλικία και φύλο. Να σημειωθεί ότι κανείς από τους εξεταζόμενους δε λάμβανε συμπληρώματα με τα καροτενοειδή της χρωστικής (λουτεΐνη, ζεαξανθίνη) ή άλλα αντιοξειδωτικά.

Από τη σύγκριση, τα επίπεδα της MPOD των ασθενών με ετερόπλευρη υγρή AMD βρέθηκαν μεγαλύτερα από αυτά των ασθενών με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD (0,58 vs 0,48, $p=0,015$). Επιπλέον, σε σχέση με την MPOD των ατόμων με αμφιβληστροειδείς χωρίς AMD, βρέθηκε επίσης περισσότερη, αλλά χωρίς αυτή η διαφορά να είναι σημαντική όταν η σύγκριση συμπεριλαμβάνει την επίδραση ηλικίας και φύλου (0,58 vs 0,5, $p=0,08$). Σε κάθε περίπτωση πάντως η MPOD των ασθενών μας δε φάνηκε να είναι λιγότερη από τους υγιείς εξεταζόμενους και τους ασθενείς με ξηρή ωχροπάθεια. Επίσης, τα επίπεδα της MPOD δε φάνηκε να επηρεάζονται από την ηλικία στους εξεταζόμενους της παρούσας μελέτης ($p=0,518$), ενώ φάνηκε να υπάρχει μια μικρή, αλλά στατιστικά σημαντική διαφορά στην MPOD μεταξύ των δύο φύλων, με τις γυναίκες να υπερτερούν κατά 0,06 ($p=0,029$). Να σημειωθεί, ότι η μέση MPOD στο σύνολο των εξεταζόμενων βρέθηκε ίση με 0,52 (CI 95% 0,49-0,55).

Τα επίπεδα της MPOD σε αυτήν την ομάδα υψηλού ρίσκου ασθενών δεν έχουν ξαναμετρηθεί ποτέ στο παρελθόν. Τα ευρήματα της μελέτης μας δεν επιβεβαιώνουν την υπόθεση η συγκεκριμένη ομάδα ασθενών έχει χαμηλά επίπεδα MPOD. Η ετερογένεια του τρόπου ζωής (διατροφή, κάπνισμα) και του χρόνου εγκατάστασης της νόσου πιθανά να δικαιολογεί το γεγονός αυτό. Το εύρημα της απουσίας επίδρασης της ηλικίας στην MPOD συμφωνεί με αρκετές ήδη υπάρχουσες μελέτες, ενώ η εύρεση αυξημένης MPOD στις γυναίκες είναι επίσης αξιοσημείωτη. Τέλος, τα επίπεδα της MPOD των εξεταζόμενων συνολικά, συμπεριλαμβανομένων ασθενών και υγιών βρέθηκαν υψηλά συγκρινόμενα με αντίστοιχα ευρήματα μελετών άλλων χωρών. Αυτό μπορεί να αντικατοπτρίζει διαφορές σε γενετικούς (σκουρόχρωμες κατά κύριο λόγο ίριδες) και πολιτισμικούς παράγοντες, όπως η διατροφή (μεσογειακή διατροφή στην Κρήτη), αν και άλλοι από αυτούς , όπως η έκθεση στον ήλιο και το κάπνισμα να περιπλέκουν τις προσπάθειες διερεύνησης της αιτιότητας των ευρημάτων μας.

SUMMARY

The Macular Pigment, MP, is a yellow oily substance that consists of the hydroxycarotenoids Lutein and Zeaxanthin. It is located at the posterior pole of the fundus of the eye showing maximum concentration at the 1st central deg of the macula, that is the foveola, with decreasing concentration as we go away from it so that after the 5-6 deg it is undetectable. It is exclusively of dietary derivation, with main sources the green leafy and yellow vegetables and fruits (spinach, corn etc). The retinal levels of these carotenoids are affected by many factors apart from diet, such as smoking, iris colour, body fat, sunlight exposure, gender and age. It presents two major properties: it absorbs the high energy short wavelengths of the visible spectrum (400-500 nm, maximum: 465nm) and it scavenges the free radicals thanks to which it is involved in the research for the pathogenesis of Age-related Macular Degeneration (AMD).

Age-related Macular Degeneration (AMD) is a disease of practically unknown etiology. Despite the fact that it is the leading cause of blindness for people more than 65 years old in USA and Europe, its pathogenesis is not elucidated yet. It is considered to be an inflammatory process with genetic predisposition and various environmental factors. Oxidative stress is considered to have a great contribution at the manifestation of the disease. This compromises the two forms of the disease, the atrophic (dry) form and the exudative (wet) form of AMD. The occurrence of wet AMD in one eye signals the advanced form of the disease and these patients have then their fellow eye in great risk of advancing at the wet form too, something that reduces eventually their vision dramatically.

Many studies have been made in order to clarify the potential relation between MP and the appearance and progression of AMD as well as the factors that affect it. However, no clear answer has been given yet for the relation between MP and the progression of AMD. The purpose of the present study is to investigate the relation between the quantity of MP and the advanced disease. In 2001, the first large study about the role of antioxidant supplementation in AMD, the AREDS I demonstrated that the antioxidants slow the progression of AMD in the

fellow eye (that had the dry form of the disease) of patients with the wet form in one eye, about 25% in 5 years. The risk of developing the wet form in the fellow eye of these patients is 43 % in 5 years. The MP of the fellow eye with the dry form of the disease of patients with unilateral wet AMD was measured in this study.

The delay of the progression of AMD that was found in AREDS after supplementation with antioxidants probably means decreased antioxidant protection of these retinas. Reduced MP could have similar results. In the present study, the MP of these eyes was intended to be measured. The MP was quantified as Macular Pigment Optical Density (MPOD) with a novel technique using Heterochromatic Flicker Photometry (HFP). The device used is QuantifEYE[®] MPS 9000 (Zeavision). The eye with the dry form of AMD was measured in 34 patients unilateral wet AMD. It was compared with the MPOD of 33 age-matched patients with bilateral dry AMD and the MPOD of 35 age- matched healthy retina subjects (control group). The statistical analysis the factors age and gender entered the model used for regression (Generalized Linear Model, GLM, SPSS 15.0). At this point, it should be pointed out that none of the study's subject was taking any dietary supplementation with the MP's carotenoids or other antioxidants.

The model showed higher levels of MPOD for patients with wet AMD in one eye and dry AMD in the other eye compared with patients with bilateral AMD(0,58 vs 0,48, $p=0,015$). Moreover, the MPOD of the patients of the study was also higher but not significantly compared with the control group's when the effect of age and gender entered the model (0, 58 vs 0, 5, $p=0, 08$). In any case nevertheless the MPOD of the patients of the study was not less than the controls'. Furthermore, no age effect on MPOD was observed in this study ($p=0,518$), while a small but significant gender effect was noticed, with women having higher levels of MPOD at this population around 0, 06 times ($p=0,029$). Should we mark that the mean MPOD of the total population was found to be 0, 52 (CI 95% 0, 49-0, 55).

This is the first time that the levels of MPOD at this high risk group of patients have been measured. The findings of the current research don't support the hypothesis that this specific

group of patients has low levels of MPOD. The heterogeneity of lifestyle (diet, smoking) and the time suffering from the disease could probably justify the findings. The finding of the lack of effect of age on the MPOD is consistent with many other studies, while the increased MPOD found in women is also remarkable. Eventually, the total levels of the mean MPOD, including the healthy and non healthy subjects, were found quite high compared with other studies in the US and Europe. This could reflect the genetic (dark iris colour) and cultural (Mediterranean diet) differences of the study population; although the existence of others factors that reduce the MPOD like sun light exposure and smoking complicate the research for the cause of our findings.

Περιεχόμενα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ-ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ.....	12
2. ΧΡΩΣΤΙΚΗ ΤΗΣ ΩΧΡΑΣ ΚΗΛΙΔΑΣ (Macular Pigment, MP).....	21
2.1. Καροτενοειδή.....	22
2.1.1 Διατροφική πρόσληψη, μεταβολισμός, φορείς, πρωτεΐνες πρόσδεσης και παράγοντες που τα επηρεάζουν.....	23
2.2 Αμφιβληστροειδική κατανομή της χρωστικής.....	24
2.3 In vivo υπολογισμός.....	25
2.4 Γνωστές και προτεινόμενες λειτουργίες.....	27
2.5 Διακύμανση μεταξύ των ατόμων.....	32
2.6 Αποτελέσματα στέρησης και εμπλουτισμού με καροτενοειδή.....	34
2.7 Βιολογικές ενδείξεις για συσχέτιση με την ηλικιακή ωχροπάθεια.....	37
3. ΗΛΙΚΙΑΚΗ ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΤΗΣ ΩΧΡΑΣ ΚΗΛΙΔΑΣ, ΗΕΩ (Age-related Macular Degeneration, AMD)	38
3.1 Ταξινόμηση.....	38
3.2 Επιδημιολογία.....	39
3.3 Αιτιολογία (παράγοντες κινδύνου)	41
3.4 Παθοφυσιολογία- Συμπτώματα.....	41
3.5 Ενδείξεις για την προστατευτική δράση των καροτενοειδών του αμφιβληστροειδή στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας.....	46
3.6 Επιδημιολογικά στοιχεία για τον προστατευτικό ρόλο των καροτενοειδών στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας.....	47
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	50

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	51
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	51
1. Ασθενείς.....	51
1.1 Επιλογή ασθενών.....	51
1.2 Ομάδες ασθενών.....	51
1.3 Κλινική διαδικασία.....	52
1.3.1 Κριτήρια αποκλεισμού.....	52
1.3.2 Πραγματοποίηση Μετρήσεων.....	53
1.3.3 Ερωτηματολόγιο.....	53
2. Μέθοδος.....	54
2.1 Χρησιμοποιούμενη Τεχνική HFP(QuantifEYE)	54
2.1.1 Σύγκριση με την Καθιερωμένη Τεχνική Μέτρησης της MPOD με HFP.....	54
2.1.2 Οπτική Πυκνότητα (Optical Density, OD).....	56
2.1.3 Καθορισμός τελικού σημείου.....	57
2.1.4 Χαρακτηριστικά ερεθίσματος.....	59
2.2 Διαδικασία μέτρησης.....	60
2.3 Υπολογισμός της MPOD.....	62
3 Στατιστική ανάλυση.....	63
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	64
1. Πληθυσμός της μελέτης.....	64
1.1 Δημογραφική κατανομή του πληθυσμού της μελέτης.....	64
2. Αποτελέσματα μετρήσεων MPOD.....	66
2.1 MPOD συνολικού πληθυσμού.....	66
2.2 MPOD ανά ομάδα εξεταζομένων και σύγκριση μεταξύ των ομάδων (μοντέλο παλινδρόμησης GLM)	66

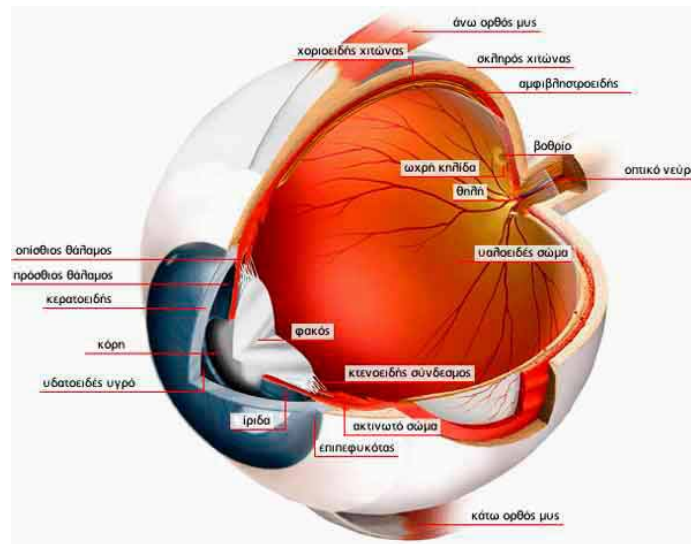
2.2.2	MPOD ανά ομάδα εξεταζομένων).....	66
2.2.3	Σύγκριση MPOD μεταξύ των ομάδων (GLM).....	67
2.3	Επίδραση άλλων παραγόντων (ηλικία, φύλο).....	71
3.	Έλεγχος ορθότητας του μοντέλου της παλινδρόμησης. (Model fitting, αλληλεπιδράσεις, διακύμανση).....	72
	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	74
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	81

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διευκρίνηση του ρόλου της χρωστικής της ωχράς κηλίδας (Macular Pigment, MP) εν γένει, αλλά κυρίως της σχέσης της με την Ηλικιακή Εκφύλιση της ωχράς (Age-related Macular Degeneration, AMD) έχει αποκτήσει ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, καθότι η τελευταία αφορά όλο και μεγαλύτερο τμήμα του πληθυσμού, τουλάχιστον του δυτικού κόσμου με το συνεχώς αυξανόμενο προσδόκιμο επιβίωσης και την επακόλουθη αύξηση του αριθμού ατόμων στην 3^η ηλικία. Κατά την ανάπτυξη της μελέτης αυτής, θα δούμε αναλυτικά τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες της MP καθώς και το πώς μπορεί κανείς να την ποσοτικοποιήσει. Θα ανασκοπήσουμε την αιτιολογία, την παθοφυσιολογία, την κλινική εμφάνιση και θεραπεία της AMD, το ρόλο των συμπληρωμάτων που περιέχουν τα καροτενοειδή του αμφιβληστροειδή σε αυτήν, και θα συνοψίσουμε τον προβληματισμό που μας οδήγησε στην πραγματοποίηση της συγκεκριμένης μελέτης. Αφού διατυπώσουμε την υπόθεσή μας, θα περιγράψουμε τη μέθοδο που ακολουθήσαμε και το υλικό που χρησιμοποιήσαμε, θα αναφερθούμε στα αποτελέσματά μας και θα συζητήσουμε πάνω σ'αυτά. Στόχος μας είναι να συνεισφέρουμε στη γνώση επί του θέματος και μέσω της εργασίας μας να θέσουμε πιθανώς νέα ερωτήματα σχετικά με την AMD, την MP και τη σχέση τους.

1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ-ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ^{1,2}

Κατ' αρχάς, θα παρατεθούν βασικές έννοιες, που αφορούν την ανατομία και φυσιολογία του ανθρώπινου οφθαλμού και ιδίως του αμφιβληστροειδή, που είναι ο ιστός τον οποίο κατ' εξοχήν πραγματεύεται η μελέτης μας.

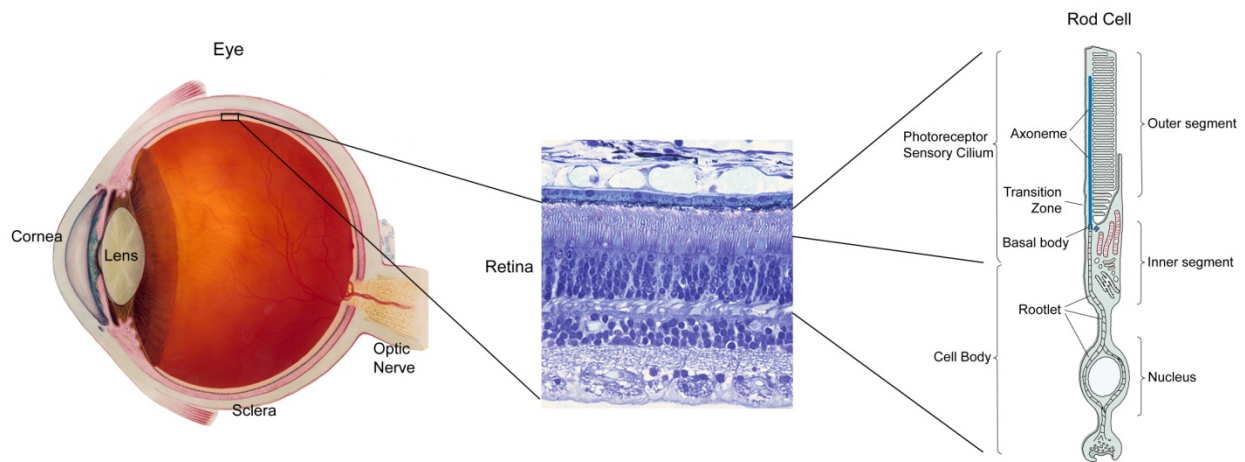


Εικόνα 1: Αδρή ανατομία του ανθρώπινου οφθαλμού.

Ο ανθρώπινος οφθαλμός σχηματίζεται μορφολογικά από έξω προς τα μέσα από 3 χιτώνες:

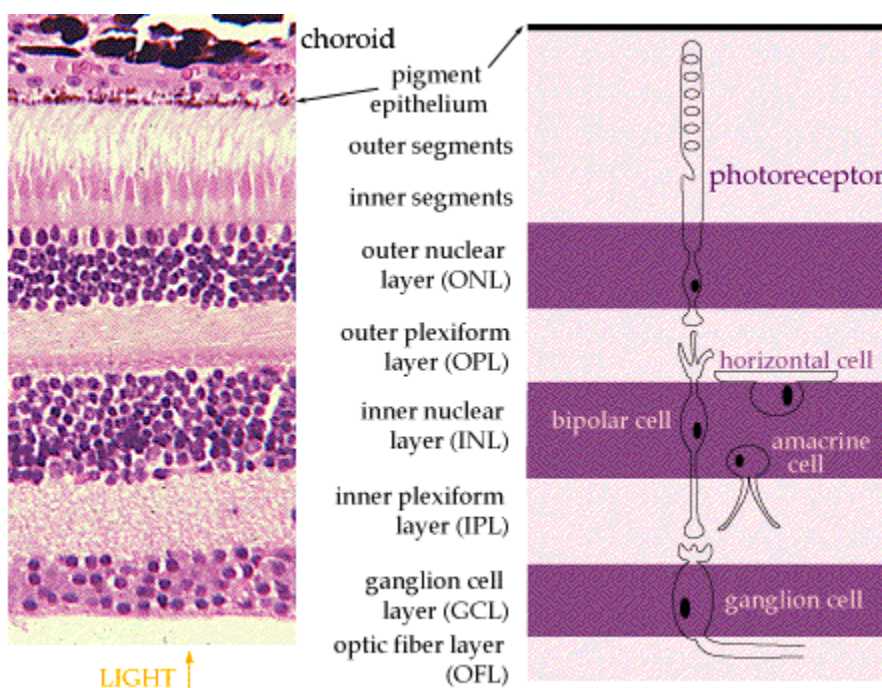
- Τον ινώδη χιτώνα, που αποτελεί το «κάλυμμα» των ευγενών στοιχείων του οργάνου (σκληρός, άσπρο του ματιού) και το πρώτο διαφανές διαθλαστικό μέσο του οπτικού συστήματος (κερατοειδής χιτώνας)
- Τον αγγειώδη ή ραγοειδή (από πίσω προς τα εμπρός: 1)χοριοειδής (α) υπερχοριοειδικό πέταλο, (β) στρώμα ή στοιβάδα αγγείων: στ. Haller (μεγάλα αγγεία), στ. Sattler (μεσομεγέθη αγγεία), (γ) στοιβάδα χοριοτριχοειδών, (δ) μεμβράνη του Bruch., 2) ακτινωτό σώμα, 3) ίριδα)
- Τον αμφιβληστροειδή χιτώνα με το μελάχρουν επιθήλιό του.

Ο τελευταίος είναι ο εσωτερικός νευροαισθητήριος ιστός του οφθαλμού, μεταξύ του χοριοειδή και του υαλώδους σώματος, ο οποίος αποτελεί στην πραγματικότητα προέκταση του νευρικού συστήματος, μια και η εμβρυολογική προέλευσή του (εξωδερμική) και η αδρή ανατομία και λειτουργία του είναι παρόμοια με αυτή του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος. Παρά την πολύπλοκη και κυτταροβριθή δομή του, έχει την υφή λεπτού διαφανούς υμένα, ο οποίος εκτείνεται από την κυκλική περιφέρεια της θηλής του οπτικού νεύρου μέχρι την πριονωτή περιφέρεια όπου μεταπίπτει στις επιθηλιακές στοιβάδες του ακτινωτού σώματος.



Εικόνα 2: Από το βολβό στον φωτοϋποδοχέα. Αριστερά: οβελιαία διατομή σχηματικής απεικόνισης των χιτώνων του οφθαλμού. Στη μέση: ιστολογική εικόνα τμήματος περιφερικού αμφιβληστροειδή. Δεξιά: ραβδίο-σηματικά.

Εικ. 3: Ιστολογική & σχηματική εικόνα των στοιβάδων του αμφιβληστροειδή. Από πάνω (=έξω) προς τα κάτω (=έσω, από όπου προσπίπτει το φως) όπως απεικονίζεται: μετά τον χοριοειδή, κυβοειδής στοιβάδα ΜΕ, φωτοϋποδοχείς (εξωτερικά και εσωτερικά τμήματα), έξω κοκκώδης, έξω δικτυωτή, έσω κοκκώδης, έσω δικτυωτή, στοιβάδα γαγγλιακών κυττάρων, στοιβάδα νευρικών ινών (ν.ι.- ίνες Henle).



Ο αμφιβληστροειδής εμφανίζει μια έξω μελαχρωματική στοιβάδα κυττάρων, η οποία προέρχεται από την έξω στοιβάδα του οφθαλμικού κυστιδίου, η οποία ονομάζεται μελάχρουν επιθήλιο και μια έσω πολύστοιβη μοίρα, η οποία προέρχεται από την έσω στοιβάδα του ομφαλικού κυστιδίου, τον ιδίως αμφιβληστροειδή χιτώνα. Σ'αυτόν διατάσσονται σε στοιβάδες τα διάφορα είδη κυττάρων, οι φωτοϋποδοχείς (ραβδία, κωνία), κύτταρα μεταφοράς και επεξεργασίας του σήματος (δίπολα, βραχύινα), κατεχοχόν κύτταρα του νευρικού συστήματος (γαγγλιακά), γλοιακά και άλλα «βοηθητικά» κύτταρα (κύτταρα Muller). Η διάταξη των κυττάρων αυτών εξασφαλίζει την αποτελεσματικότερη μεταφορά του ηλεκτρικού σήματος στο ΚΝΣ και στο κέντρο της όρασης (οπτικός φλοιός-ινιακός λοβός), αφού έχει μετατραπεί από

φωτεινό σήμα σε ηλεκτρικές ώσεις και έχει υποστεί την απαραίτητη επεξεργασία (φωτομετατροπή). Διακρίνονται ιστολογικά 6 στοιβάδες από τις οποίες οι φωτοϋποδοχείς καταλαμβάνουν την εξώτατη. Αυτό σημαίνει ότι το φως πρέπει να διανύσει όλο το πάχος του αμφιβληστροειδή για να φτάσει στα υποδοκτικά του κύτταρα, τα κωνία και τα ραβδία, όπου θα απορροφηθεί και θα μετατραπεί σε νευρικές ώσεις. Το ηλεκτρικό σήμα μεταφέρεται στο ΚΝΣ μέσω των ν.ι. Ηenle, που δεν είναι τίποτ'άλλο από τους νευράξονες των γαγγλιακών κυττάρων και οι οποίες διατάσσονται στην εσωτάτη στοιβάδα του ιδίως αμφιβληστροειδή.

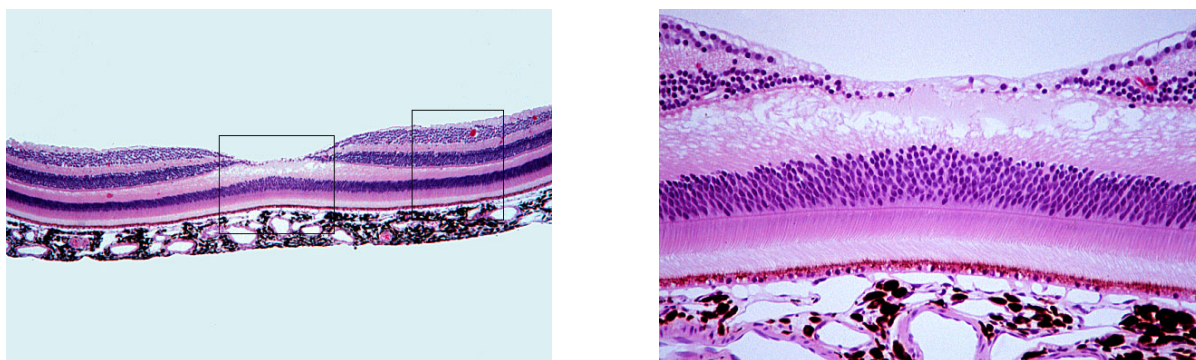
Αυτές είναι αμύελες (ελεύθερες ελύτρου μυελίνης), γεγονός που εξασφαλίζει μεγάλο μέρος από την απαραίτητη διαφάνεια του αμφιβληστροειδή. Στην στοιβάδα αυτή, κατά κύριο λόγο στην κεντρική περιοχή του αμφιβληστροειδή, την ωχρά κηλίδα (macula-5 mm, 17° όρασης), συγκεντρώνεται μια ουσία, κίτρινου χρώματος, η οποία ονομάζεται Χρωστική της Ωχράς (ΧΩ). Η ωχρά κηλίδα πήρε το όνομά της εξαιτίας αυτής της χρωστικής, λόγω του χρώματος που της προσδίδει κατά την παρατήρηση.



Εικ. 4: Φωτογραφία οπισθίου πόλου φυσιολογικού αμφιβληστροειδή. Διακρίνεται κεντρικά η πιο ωχρή του όψη, που οφείλεται στην εναπόθεση των καροτενοειδών του αμφιβληστροειδή, λουτεΐνη και ζεαξανθίνη (Χρωστική της Ωχράς).

Η μέγιστη συγκέντρωση της ουσίας αυτής εμφανίζεται συνήθως, σε φυσιολογικούς αμφιβληστροειδείς, στην 1^η κεντρική μοίρα (κεντρικό βοθρίο-foveola), ενώ μετά τις πρώτες 5^ο (foveal pit-βοθρίο, 1,5 mm) η συγκέντρωσή της πέφτει δραματικά ώστε μετά τις 6^ο πρακτικά να μην ανιχνεύεται.

Η ωχρά κηλίδα και ειδικά το βοθρίο διαθέτει μια ιδιαίτερη κατασκευή, η οποία επιτρέπει τη μέγιστη διακριτική ικανότητα σε φωτοπικές συνθήκες. Καταρχήν, το κεντρικό βοθρίο (foveola) στερείται ραβδίων, ενώ ταυτόχρονα η πυκνότητα των κωνίων είναι η μέγιστη .

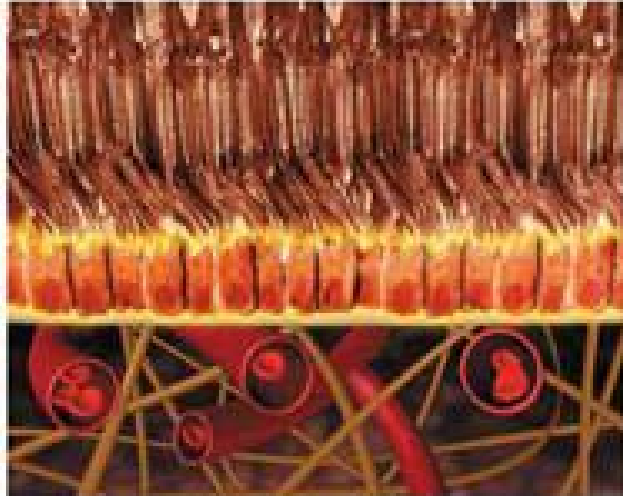


Εικ. 5: Ιστολογική εικόνα του κεντρικού βοθρίου με τη χαρακτηριστική μορφολογία του, Δεξιά φαίνεται σε μεγαλύτερη μεγέθυνση. Το φως προσπίπτει από «πάνω». Οι φωτοϋποδοχείς (κωνία μόνο εδώ) βρίσκονται «βαθύτερα».

Αυτό σημαίνει μέγιστη ανάλυση, χωρίς σπατάλη ενέργειας. Επιπλέον, το κεντρικότερο τμήμα του (περίπου 19 arcmin), στερείται S-κωνίων, γεγονός που βελτιώνει τη χρωματική εκτροπή που ως γνωστό εισάγει το «μπλε» κομμάτι του ορατού φάσματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας³. Ακόμη, η σύνδεση των κωνίων με τα δίπολα και τα γαγγλιακά κύτταρα είναι 1 προς 1 προς 1, κάτι που προφανώς μεγιστοποιεί τη λαμβανόμενη λεπτομέρεια και ταχύτητα επεξεργασίας και μεταφορά του σήματος⁴. Τέλος, οι ίνες των γαγγλιακών κυττάρων της περιοχής διατάσσονται πλάγια, αφήνοντας τα κεντρικά 500 μm ελεύθερα αγγείων (ανάγγειος ζώνη, foveal avascular zone, FAZ), ενώ περιέχουν μόνο εξειδικευμένα κωνία και κύτταρα

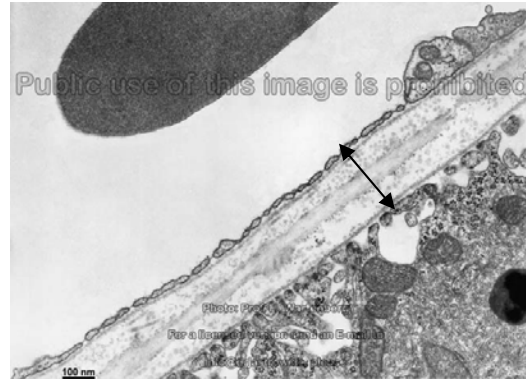
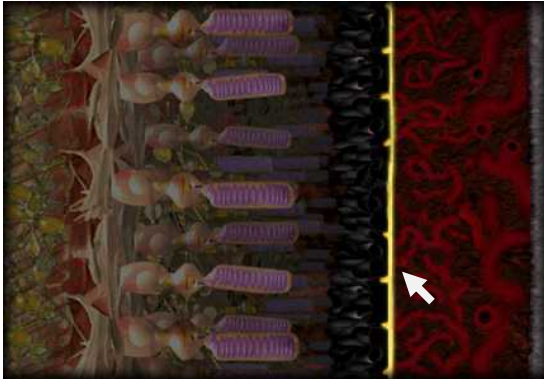
Muller, κάτι που βελτιστοποιεί την ευκρίνεια και ελαχιστοποιεί την παραμόρφωση των εστιαζόμενων αντικειμένων, μια και το φως διασχίζει λιγότερο ιστό πριν φτάσει στους φωτοϋποδοχείς.

Η λειτουργία του αμφιβληστροειδή και ειδικά της ωχράς κηλίδας παρουσιάζει μεγάλη εξειδίκευση. Η μετατροπή της φωτεινής σε ηλεκτρική ενέργεια με τη διαδικασία της συνεχούς αποδόμησης και διάσπασης των φωτοχρωστικών και των μεμβρανών των φωτοϋποδοχέων έχει σαν αποτέλεσμα τη συνεχή και εντατική μεταβολική δραστηριότητα του αμφιβληστροειδή και τη διαρκή παραγωγή μεταβολικών προϊόντων τοξικών γι' αυτούς και το περιβάλλον τους. Τέτοια είναι κυρίως τα προϊόντα οξειδωσης, όπως οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και άλλα, τα οποία έχουν σαν κοινή κατάληξη τη γήρανση και καταστροφή των κυττάρων. Εμφανής καθίσταται επομένως η αναγκαιότητα για την άμεση απομάκρυνση των προϊόντων αυτών από τον ιστό για τη αποτελεσματική προστασία του. Το μεταβολικό φόρτο του αμφιβληστροειδή καλείται να επωμιστεί το μελάγχρουν επιθήλιο (ME). Είναι η εξωτερική στοιβάδα του αμφιβληστροειδή, η οποία αποτελείται από ένα μονόστοιβο στίχο κυττάρων, τα οποία περιέχουν σε μεγάλες ποσότητες τη χρωστική μελανίνη. Έχουν τη βάση τους προς το χοριοειδή στη βασική μεμβράνη που αποτελεί μέρος της μεμβράνης του Bruch (βλ. παρακάτω) και είναι στραμμένα προς τον ιδίως αμφιβληστροειδή. Οι κορυφές τους σχηματίζουν μικρολάχνες, μέσα στις οποίες εμβυθίζονται τα εξωτερικά τμήματα των φωτοϋποδοχέων.



Εικ. 6: Από πάνω προς τα κάτω: φωτοϋποδοχείς, ΜΕ, μεμβράνη του Bruch, χοριοτριχοειδή.

Έτσι, τα προϊόντα μεταβολισμού τους φαγοκυτταρώνονται και «πέπτονται» από τα κύτταρα του ΜΕ, τα οποία με τη σειρά του αποβάλλουν τα προϊόντα τους μέσω της μεμβράνης του Bruch στην κυκλοφορία (χοριοτριχοειδή). Ο ρόλος του ΜΕ δεν περιορίζεται σε αυτό. Τα μελανοσώματα (περιέχουν μελανίνη) απορροφούν την ακτινοβολία που δεν απορροφάται από τους φωτοϋποδοχείς, ελαττώνοντας έτσι την αντανακλώμενη και σκεδαζόμενη ακτινοβολία μέσα στο μάτι και βελτιώνοντας την εικόνα. Εξάλλου, η συμμετοχή της βασικής του μεμβράνης στη μεμβράνη του Bruch κάνει το ΜΕ κύριο συμμετόχο στον έξω αιματοαμφιβληστροειδικό φραγμό (μεμβράνη Bruch). Η μεμβράνη του Bruch αποτελείται από τις βασικές μεμβράνες του ΜΕ προς τα έξω και των χοριοτριχοειδών προς τα έξω, και δύο στοιβάδες ινών κολλαγόνου εκατέρωθεν μιας στοιβάδας ελαστικών ινών.



Εικ. 7: Μembrάνη του Bruch. Αριστερά, η κίτρινη γραμμή μεταξύ φωτοϋποδοχέων και χοριοειδή. Δεξιά. Όπως φαίνονται οι στοιβάδες της στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Όλα τα παραπάνω υφίστανται με την ηλικία τις επίδρασης της γήρανσης, ενώ σε διαταραχές τους, ηλικιακές ή μη, εμφανίζονται σοβαρές καταστάσεις, οι οποίες εκδηλώνονται με ποικιλία συμπτωμάτων από την κεντρική όραση και περιλαμβάνουν και την ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας (ΗΕΩ), για την οποία θα μιλήσουμε πιο αναλυτικά παρακάτω.

2. ΧΡΩΣΤΙΚΗ ΤΗΣ ΩΧΡΑΣ ΚΗΛΙΔΑΣ

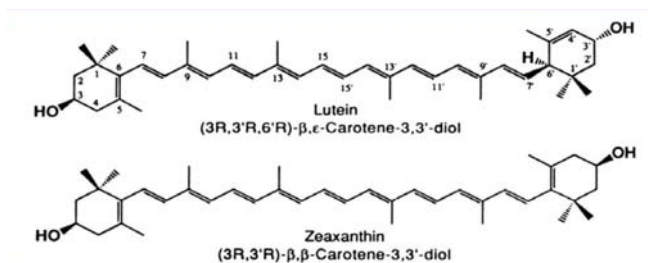
Όπως προαναφέρθηκε, η κεντρική περιοχή του αμφιβληστροειδή, η ωχρά κηλίδα, περιέχει μια κίτρινη ελαιώδη ουσία, που της δίνει χαρακτηριστική όψη, αλλά και ιδιότητες, όπως θα δούμε παρακάτω. Η πρώτη αναφορά στη βιβλιογραφία για την «ωχρά κηλίδα» στον αμφιβληστροειδή αποδίδεται στον Home⁵ το 1798, 15 χρόνια μετά την 1^η περιγραφή της από τον Buzzi⁶. Ο Soemmering⁷ ανακάλυψε ανεξάρτητα τη *foramine limbo luteo* το 1795 και παρατήρησε ότι αυτή η κηλίδα είναι πιο ωχρή στα νεαρά και ηλικιωμένα άτομα, ενώ είναι πιο φωτεινή στους νέους ενήλικες. Ξεκίνησε τότε μια διαμάχη για το κατά πόσο αυτό το εύρημα αντιστοιχούσε σε κάποιο λεπτυσμένο τμήμα του αμφιβληστροειδή ή σε οπή. Ο Home κατέληξε ότι πρόκειται για μεταθανάτιο εύρημα, χωρίς ιδιαίτερη αξία για τη όραση κατά τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου. Ανέφερε επίσης την έλλειψή της σε άλλα ανώτερα ζώα πλην του πιθήκου. Σήμερα, η παρουσία ωχράς κηλίδας στα υπόλοιπα εκτός του ανθρώπου πρωτεύοντα έχει σαφώς τεκμηριωθεί⁸.

Η ανακάλυψη του οφθαλμοσκόπιου από τον Hermann von Helmholtz το 1851 έφερε επανάσταση στην οφθαλμολογία, επιτρέποντας να παρατηρήσει κανείς και in vivo την ωχρά κηλίδα, αλλά δεν έδωσε τέλος στη διαμάχη γύρω από την ύπαρξη ή μη εν ζωή της κίτρινης χρωστικής. Το κλασικό άρθρο του Wald⁹ το 1945 “Human Vision and the Spectrum” απέδειξε ότι η χρωστική αυτή απορροφά ένα φάσμα ακτινοβολίας από 430 ως 490 nm με μέγιστη απορρόφηση στα 465 nm. Κατέγραψε επίσης τις πρώτες ξανθοφύλλες που απομονώθηκαν από τον αμφιβληστροειδή και βρήκε ότι είναι συγκεντρωμένες στην κεντρική περιοχή του αμφιβληστροειδή (macula). Περαιτέρω ερεύνα από άλλους επιστήμονες κατέδειξε τις τελευταίες ως υπαίτιες της κίτρινης (ωχρής) εμφάνισης της ωχράς κηλίδας¹⁰⁻¹³. Οι ξανθοφύλλες είναι μια υποκατηγορία των καροτενοειδών, μιας μεγάλης ομάδας φυτικών χρωστικών, υπεύθυνων για το έντονο χρώμα πολλών φρούτων και λαχανικών, των φθινοπωρινών φύλλων και ζώων όπως ο σολομός, τα φλαμίνγκο και τα καναρίνια. Λειτουργούν σαν αποθήκες ενέργειας για τα φυτά παρέχοντας το πρώτο βήμα για την έναρξη της φωτοσύνθεσης σε συνδυασμό με τη χλωροφύλλη. Τα καροτενοειδή είναι γραμμικοί

υδρογονάνθρακες και οι ξανθοφύλλες η οξυγονωμένη μορφή τους¹⁴. Στη δεκαετία του '80, οι Bone et al¹⁵ ταυτοποίησαν τη λουτεΐνη και το ισομερές της ζεαξανθίνη ως τις ειδικές για τον αμφιβληστροειδή ξανθοφύλλες και οι Snodderly et al¹⁶ εντόπισαν τη χρωστική στη στοιβάδα των ινών του Henle στον αμφιβληστροειδή των πρωτεύοντων.

2.1 ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ.

Η λουτεΐνη (L) και η ζεαξανθίνη (Z) δεν είναι παρά 2 από τις 600 και πλέον φυτικές χρωστικές της κατηγορίας των καροτενοειδών. Η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη είναι δομικά ισομερή με χημικό τύπο C₄₀H₅₆O₂.



Εικ. 8: Η χημική δομή των ισομερών ξανθοφυλλών L & Z.

Ωστόσο, η λουτεΐνη προσομοιάζει δομικά με α-καροτένιο ενώ η ζεαξανθίνη με β-καροτένιο¹⁴. Συνεπώς, δείχνουν διαφορετική τάση στη σύνδεσή τους με μεμβράνες και μεμβρανώδες δομές με αντίστοιχες διαφορές στις λειτουργίες τους σε τοπικό επίπεδο. Παρά τις ομοιότητες αυτές όμως οι λουτεΐνη και ζεαξανθίνη δεν είναι προβιταμίνες της βιταμίνης A, όπως τα αντίστοιχα καροτένια¹⁷.

Τα 5 βασικά καροτενοειδή του ορρού είναι το λυκοπένιο, τα καροτένια α- και β-, η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη. Περίπου 30-50 καροτενοειδή μπορεί να υπάρχουν στο διαιτολόγιο του ανθρώπου, από τα οποία γύρω στα 20 είναι ανιχνεύσιμα στον ορρό του αίματος. Το γεγονός ότι μόνο 2 από αυτά (η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη) εντοπίζονται στον αμφιβληστροειδή δεν παύει να προβληματίζει τους ερευνητές.

2.1.1 Διατροφική Πρόσληψη, Μεταβολισμός, Φορείς, Πρωτεΐνες Σύνδεσης και Παράγοντες που τα Επηρεάζουν

Η απόλυτη πηγή καροτενοειδών για τον ανθρώπινο οργανισμό είναι η φυτική ύλη, λαμβανόμενη είτε άμεσα είτε έμμεσα, με λήψη των καροτενοειδών και μεταβολιτών τους από ζωικά προϊόντα όπως ο κρόκος του αυγού, το γάλα και τα πουλερικά. Η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη συναντώνται κυρίως στα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, σε πολλά φρούτα και σε χρωματιστά λαχανικά όπως το σπανάκι, το κολοκύθι, οι κόκκινες πιπεριές, το καλαμπόκι και ο αρακάς. Η λουτεΐνη είναι η κυρίαρχη ουσία στις περισσότερες τροφές¹⁸. Δεδομένων των ποικίλων διατροφικών συνηθειών μεταξύ των διαφόρων πολιτισμών στα διάφορα γεωγραφικά πλάτη ανά τον κόσμο, δεν προκαλεί έκπληξη η σημαντική διαφορά που συναντάται στην καταναλώμενη ποσότητα καροτενοειδών που περιγράφεται¹⁹. Τα επίπεδα των καροτενοειδών στον ορρό του αίματος επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες, όπως το σωματικό λίπος, το οξειδωτικό στρες, το κάπνισμα, η κατανάλωση λίπους και άλλα²⁰⁻²⁴. Τα υδρόφοβα καροτενοειδή, οποιασδήποτε προέλευσης, μεταφέρονται μέσα στο αίμα με τη βοήθεια υδατοδιαλυτών λιποπρωτεϊνών-φορέων. Προκειμένου να φτάσουν σε έναν ιστό, πρέπει να είναι προσδεμένες σε κάποια πρωτεΐνη, δεσμευμένα σε κάποιο λιπδικό κυστίδιο ή ενσωματωμένα σε κάποια μεμβράνη. Η κατανομή των διαφόρων καροτενοειδών παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία στα διάφορα όργανα και ιστούς. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση της ζεαξανθίνης διέφερε κατά 10 ως 20 φορές, του λυκοπενίου κατά 10 με 100 φορές και του β-καροτενίου κατά 10 με 500 φορές σε μια μελέτη αναφοράς²⁵, σε 10 όργανα εκτός από μάτια. Γενικά, τα όργανα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε λιποπρωτεΐνες είχαν και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε καροτενοειδή, με το β-καροτένιο να κυριαρχεί σε ήπαρ, σπλήνα, νεφρούς,

θυρεοειδή, πάγκρεας και καρδιά, το λυκοπένιο σε επινεφρίδια και όρχεις και τη ζεαξανθίνη σε ωοθήκες και υποδόριο²⁵. Η άνιση αυτή κατανομή ανά όργανο πιθανά να υποδεικνύει κάποια ειδικότητα στο ρόλο τους στο κάθε όργανο.

Ο αμφιβληστροειδής παρουσιάζει τη μέγιστη συγκέντρωση ιστού σε καρροτενοειδή, με τη λουτεΐνη και τη ζεαξανθίνη σχεδόν να μονοπωλούν. Μέσω ενός μηχανισμού ενεργούς ρύθμισης, συγκεντρώνεται στον αμφιβληστροειδή 10000 φορές περισσότερη ξανθοφύλλη σε σχέση με το αίμα. Τέτοιου ύψους επίπεδα ενισχύουν την υπόθεση ύπαρξης ειδικών για τις ξανθοφύλλες πρωτεϊνών πρόσδεσης στον ιστό. Πρόσφατα ταυτοποιήθηκε ένας ισχυρός υποψήφιος παράγοντας για το ρόλο αυτό (μια Ρi-ισομορφή της S-τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GSTP1) ως πρωτεΐνη πρόσδεσης της ζεαξανθίνης)²⁶. Η αμφιβληστροειδική τουμπουλίνη φαίνεται επίσης να έχει συγγένεια πρόσδεσης για τη λουτεΐνη και τη ζεαξανθίνη^{27,28}.

2.2 Αμφιβληστροειδική Κατανομή της Χρωστικής

Οι Snodderly et al^{16,29,30} έδειξαν ότι στον πίθηκο η πυκνότητα της χρωστικής της ωχράς ήταν μέγιστη στη στοιβάδα των ινών Henle, με μια εκθετική μείωσή της καθώς απομακρυνόμαστε από την ωχρά. Η μέθοδος της υγρής χρωματογραφίας υψηλής ανάλυσης (high-performance liquid chromatography, HPLC) χρησιμοποιήθηκε από τους Bone et al¹⁵ και αργότερα από τους Handelman et al³¹ για να ταυτοποιήσουν τις λουτεΐνη και ζεαξανθίνη ως τα καρροτενοειδή του ανθρώπινου αμφιβληστροειδή. Στο κεντρικό βοθρίο των ανθρώπων, ο μέσος όρος της συγκέντρωσης των καρροτενοειδών είναι 10^{-3} M, κάτι που ποικίλλει κατά μία τάξη μεγέθους μεταξύ των εξεταζομένων^{18,21}. Αυτές οι χρωστικές ξανθοφύλλης μπορούν να ανιχνευτούν με την προηγούμενη μέθοδο σε όλη την έκταση του αμφιβληστροειδή, με την πυκνότητά τους να μειώνεται κατά τουλάχιστον 2 τάξεις μεγέθους καθώς προχωράμε από το κεντρικό βοθρίο προς την περιφέρεια του ιστού. Η ζεαξανθίνη συναντάται μόνο στην ωχρά κηλίδα, με μια μειούμενη αναλογία αυξανόμενης της εκκεντρότητας³²⁻³⁴. Κάποια ποσότητα από τη ζεαξανθίνη του αμφιβληστροειδή αποτελεί το χιμαιρικό μεσο-ισομερές της (meso-zeaxanthin), το οποίο

δεν ανευρίσκεται στον ορρό. Υπάρχουν στοιχεία που αποδεικνύουν ότι αυτό προκύπτει με ένα μηχανισμό ενδομετατροπής της λουτεΐνης σε μεσο-ζεαξανθίνη, γεγονός επωφελές για άτομα με δίαιτες στις οποίες κυριαρχεί η λουτεΐνη^{32,33}. Είναι πιθανό τα δύο καροτενοειδή να έχουν διαφορετικούς υποδοχείς στον αμφιβληστροειδή. Σε πειραματικά δεδομένα, φαίνεται ότι η γραμμική ζεαξανθίνη προσανατολίζεται κάθετα μέσα σε μια λιπιδική διπλοστοιβάδα, όπως αυτές των κυτταρικών δομών, ενώ η λουτεΐνη με μια γωνία περίπου 23 μοιρών³⁵.

2.3 In Vivo Υπολογισμός

Υπάρχουν πολλές μη επεμβατικές μέθοδοι υπολογισμού των επιπέδων λουτεΐνης – ζεαξανθίνης στην ωχρά ενός ζώντος οφθαλμού. Η *in vivo* λοιπόν μέτρηση της MP μπορεί να γίνει με τις παρακάτω μεθόδους:

➤ Φυσικές:

- Resonance Raman Spectroscopy
- Lipofuscin fluorescence
- Ανακλαστικές Μέθοδοι:
 - Reflection densitometry
 - Photographic assessment
 - Scanning Laser Ophthalmoscope

➤ Ψυχοφυσικές:

- Colour matching
- Διχροϊσμός³⁶
- HFP (Heterochromatic Flicker Photometry)
- Φωτομετρία κίνησης (motion photometry)

Οι πιο συνηθισμένες είναι η Φωτομετρία Ετεροχρωματικής Εναλλαγής Φωτεινότητας (Heterochromatic Flicker Photometry, HFP) και η φασματοσκοπία Raman. Τελευταία, μέσα στο ευρύ φάσμα εφαρμογών της μεθόδου αυτοφθορισμού του βυθού του οφθαλμού, φαίνεται να έχει κάποια θέση και η μέτρηση της χρωστικής της ωχράς³⁷. Η ψυχοφυσική μέθοδος της HFP είναι η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη. Φαίνεται πως αυτή η μέθοδος μετρά ειδικά τα δύο καροτενοειδή^{38,39}, ενώ ορισμένες από τις τεχνικές που τη χρησιμοποιούν μπορούν να παρέχουν και τη χωρική κατανομή τους στον αμφιβληστροειδή^{32,38}. Επιπλέον πλεονεκτήματα του τρόπου αυτού υπολογισμού της ΧΩ είναι ο μη δαπανηρός εξοπλισμός, η εύκολη εκπαίδευση και εκμάθησή του, η έλλειψη ανάγκης για μυδρίαση, και η υψηλή επαναληψιμότητα που επιδεικνύει σε άτομα που μπορούν να συνεργαστούν για την πραγματοποίησή του. Μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν η αξιοπιστία της συμμετοχή του ατόμου σ'ό,τι αφορά την προσαρμογή της φωτεινότητας και τον προσδιορισμό του σημείου εξάλειψης της εναλλαγής της, καθώς και η περιορισμένη χρησιμότητά της σε πολύ ηλικιωμένα άτομα και σε προχωρημένα οφθαλμικά νοσήματα τα οποία δυσχεραίνουν ή και καθιστούν αδύνατη την εφαρμογή της τεχνικής³⁹. Η μέθοδος του αυτοφθορισμού αποτελεί μια εναλλακτική λύση εύκολης και αντικειμενικής μέτρησης και προσδιορισμού της χωρικής κατανομής της χρωστικής της ωχράς, χωρίς την απαίτηση απόλυτης συμμόρφωσης του ασθενή. Κλινικά πρακτικές μέθοδοι οι οποίες επιδεικνύουν υψηλή συσχέτιση με ψυχοφυσικές μεθόδους έχουν επίσης περιγραφεί³⁷.

Το φαινόμενο της σκέδασης Raman αποτελεί τη βάση για άλλες τεχνικές μέτρησης της χρωστικής. Σ' αυτήν, ένα laser αργού διεγείρει τα μόρια των 2 καρτενοειδών, τα οποία όταν έρχονται σε συντονισμό εκπέμπουν ακτινοβολία και το λαμβανόμενο σήμα ανιχνεύεται με ένα φασματοσκόπιο. Πλεονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν η ταχύτητα διεκπεραίωσης της μέτρησης και η ελάχιστη ανάγκη ενεργούς συμμετοχής του ασθενή⁴⁰. Μειονεκτήματα περιλαμβάνουν τις υψηλές απαιτήσεις σε εξοπλισμό, την ανάγκη για προσήλωση από την πλευρά του ασθενή καθώς και το γεγονός ότι οι μετρήσεις επηρεάζονται από θολώσεις ή άλλες ανωμαλίες των οπτικών μέσων του οφθαλμού.

2.4 ΓΝΩΣΤΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ

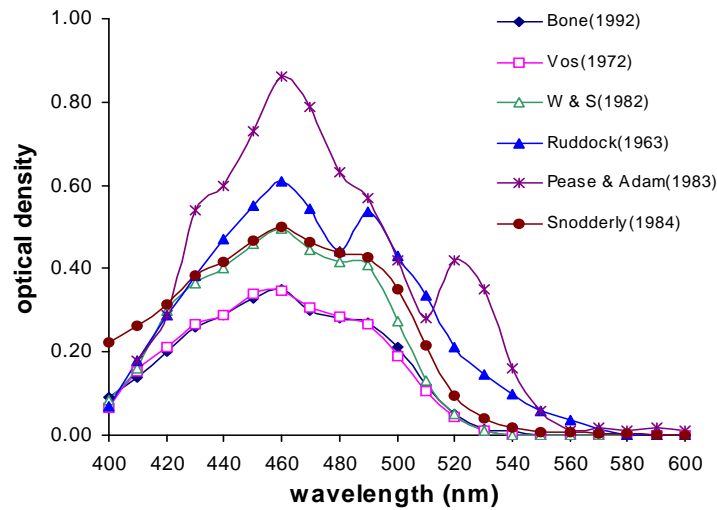
Η επακριβής λειτουργία των καρτενοειδών στον αμφιβληστροειδή δεν είναι διευκρινισμένη . Ωστόσο, γίνονται υποθέσεις για το τι μπορεί να προσφέρει η παρουσία τους βάσει των οπτικών, βιοχημικών και βιολογικών τους ιδιοτήτων.

Αυτές αφορούν αφενός οπτικές ιδιότητες όπως η απορρόφηση των μικρών μ.κ. (350 ως 540 nm, max στα 460 nm), η μείωση του θάμβους (glare), η ελαχιστοποίηση της χρωματικής εκτροπής, και η ενίσχυση της φωτεινής αντίθεσης και αφετέρου βιοχημικές ιδιότητες που σχετίζονται με την εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου χάρη στην αντιοξειδωτική τους δράση.

Η προσπίπτουσα στον οφθαλμό ακτινοβολία δεν έχει εξ ολοκλήρου την ίδια κατάληξη. Παρόλο που το μεγαλύτερο μέρος της καταλήγει στους φωτοϋποδοχείς και τους διεγείρει, ένα τμήμα της χάνεται αναπόφευκτα λόγω των δομικών χαρακτηριστικών των ιστών του ματιού (θέμα σχεδιασμού ή υλικών), ένα άλλο σκεδάζεται λόγω ατελειών στα οπτικά του προσθίου ημιμορίου του οφθαλμού, ενώ ένα τρίτο δεν καταφέρνει να διεγείρει τους φωτοϋποδοχείς

είτε επειδή δε φτάνει ως αυτούς είτε επειδή η ενέργεια που μεταφέρει δεν υπερβαίνει την ουδό διέγερσης.

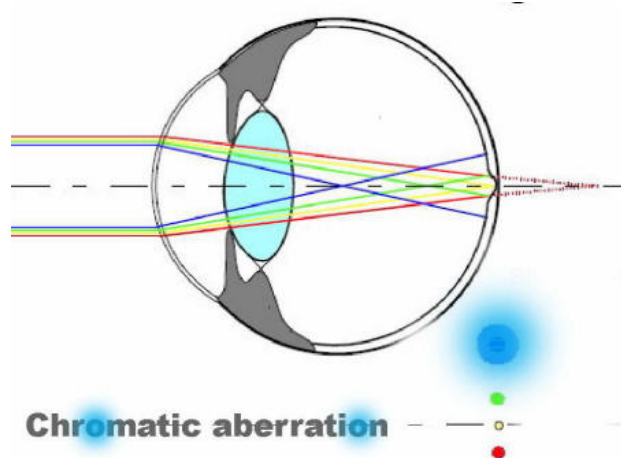
Επιπλέον, το μεγαλύτερο μέρος της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV, UV-B (320-290 nm) και UV-A (320-400 nm)), απορροφάται από τον κερατοειδή και το φακό αντίστοιχα, ενώ τα ελαφρώς μεγαλύτερα μ.κ. (μπλε, 400-520 nm), φτάνοντας στον αμφιβληστροειδή, απορροφώνται από τη ΧΩ, η οποία παρουσιάζει ένα μέγιστο απορρόφησης στα 460 nm.



Εικ. 9: Φάσμα απορρόφησης της χρωστικής της ωχράς, όπως έχει περιγραφεί από διάφορους ερευνητές.

Από μακρού έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η χρωστική εξυπηρετεί τη μείωση της χρωματικής εκτροπής και τη βελτίωση της οπτική οξύτητας^{9,42-48}. Το φάσμα του ορατού φωτός (400-700 nm) δεν εστιάζεται σε ένα σημείο στον αμφιβληστροειδή. Θεωρητικά, αν ένα εμμετρικό μάτι παρατηρεί ένα αντικείμενο μεσαίου (Medium, M) μ.κ. (550 nm) μέσα στο λευκό ηλιακό

φως , τότε το μικρού (Short, S) μ.κ. τμήμα του φάσματος θα εστιαστεί μπροστά και το μεγάλου (Long, L) μ.κ. τμήμα πίσω από τον αμφιβληστροειδή εισάγοντας στον οφθαλμό χρωματική εκτροπή εύρους περίπου 1.2 D⁴².



Εικ. 10: Χρωματική εκτροπή στον ανθρώπινο οφθαλμό.

Ωστόσο, η προσλαμβανόμενη εικόνα δε φαίνεται να αλλοιώνεται περισσότερο από 1 D, γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί με την ύπαρξη ενός προαμφιβληστροειδικού συστήματος φιλτραρίσματος του μπλε φωτός σε συνδυασμό με μια σχετική έλλειψη ευαισθησίας στα μικρά μ.κ., η οποία πετυχαίνεται με την σπανιότητα των S-κωνίων στο κεντρικό βοθρίο. Τα παραπάνω έχουν ως αποτέλεσμα ένα οπτικό σύστημα ελαφρά πιο ευαίσθητο στη μεσαίου και μεγάλου μ.κ. ακτινοβολία με βέλτιστη χρωματική εκτροπή και κατ'επέκταση διακριτική ικανότητα⁴⁵.

Το θάμβος είναι ένα από τα συχνότερα παράπονα των ανθρώπων προχωρημένης ηλικίας, με αμφιβληστροειδοπάθεια ή/και καταρράκτη καθώς και σε κάποια άτομα χωρίς εμφανείς λόγους για προδιάθεση σε αυτό. Ένας κοινός παρονομαστής σε όλα αυτά μπορεί να είναι τα μειωμένα επίπεδα χρωστικής, κάτι που απέδειξαν οι Stringham & Hammond σε μια πρόσφατη δημοσίευσή τους^{35,49}.

Επιπροσθέτως, ιδιότητες της χρωστικής ενισχύουν τη θεωρία αυτή. Οι άξονες των κωνίων εξέρχονται ακτινοειδώς από το κεντρικό βοθρίο σχηματίζοντας τη στοιβάδα των ινών Henle. Λόγω της γραμμικής τους δομής, οι λουτεΐνη και ζεαξανθίνη επιδεικνύουν διχρωμικές ιδιότητες. Αν λοιπόν αυτά τα μόρια τοποθετούνται κάθετα πάνω στη στην ακτινωτή διάταξη των αξόνων, τότε θα απορροφούν εκλεκτικά το επίπεδα πολωμένο φως, το παράλληλο με τη γραμμική τους δομή, δηλαδή το κάθετο στη στοιβάδα των ινών Henle^{36,46}.

Ο βαθμός μείωσης του θάμβους από την εκλεκτική απορρόφηση του πολωμένου φωτός δεν έχει ποσοτικοποιηθεί, αλλά δεν είναι άστοχο να το συμπεράνει κανείς από τα μέχρι τώρα δεδομένα. Η χρωστική της ωχράς ενδεχομένως μειώνεται σε ασθενείς με ΗΕΩ, στους οποίους η εμφάνιση θάμβους μπορεί να οφείλεται εν μέρει στο γεγονός αυτό. Επιπλέον, η χρωστική της ωχράς απουσιάζει ή είναι ελαττωμένη σε αλφικούς και ασθενείς με προχωρημένη Μελαχρωστική Αμφιβληστροειδοπάθεια αντίστοιχα, η αναφερόμενη φωτοφοβία των οποίων μπορεί εν μέρει να αποδοθεί στο γεγονός ότι δεν μπορεί να αμβλυνθεί από τη χρωστική, όπως συμβαίνει στους φυσιολογικούς οφθαλμούς. Δεδομένης εξάλλου της όχι αμελητέας διακύμανσης που εμφανίζει η τιμή της πυκνότητας της χρωστικής της ωχράς μεταξύ των ατόμων, είναι εύλογο να συμπεράνει κανείς τη σύνδεση χαμηλών επιπέδων χρωστικής και αυξημένου θάμβους⁵⁰⁻⁵².

Η χρωστική της ωχράς πιθανά να αυξάνει την φωτεινή ευαισθησία. Η πυκνότητα της χρωστικής και η φωτοπική και σκοτοπική ευαισθησία μετρήθηκαν σε μια ομάδα 27 υγιών ατόμων ηλικίας 60-84 ετών και συγκρίθηκαν με μια ομάδα 10 ατόμων 24-36 ετών⁵⁰. Διορθώνοντας για την επίδραση της θόλωσης του φακού με την ηλικία, οι εξεταζόμενοι της ομάδας μεγαλύτερης ηλικίας με υψηλά επίπεδα χρωστικής δεν είχαν ουσιαστική διαφορά στην ευαισθησία τους συγκρινόμενοι με άτομα από την ομάδα των νεαρότερων ατόμων. Άτομα ωστόσο με χαμηλά επίπεδα χρωστικής από την 1^η ομάδα είχαν φτωχότερη ευαισθησία σε σχέση με τα νεαρότερα άτομα. Χωρίς να αποδίδεται καμία αιτιότητα στην παραπάνω σχέση, δεν μπορεί να

παραβλεφθεί η ανεύρεση καλής ευαισθησίας σε ηλικιωμένα άτομα με νεανικά επίπεδα χρωστικής.

Μια άλλη ιδιότητα της χρωστικής της ωχράς μείζονος σημασίας και συναφής με της σχετιζόμενες με την ηλικία παθήσεις είναι η εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Τα αντιοξειδωτικά συστήματα κυττάρων και ιστών περιλαμβάνουν ένζυμα (καταλάσες, γλουταθειονική περοξειδάση, υπεροξειδική δισμουτάση), στοιχειώδεις υδατοδιαλυτές (όπως η γλουταθειονή και η βιταμίνη C) και λιποδιαλυτές (ξανθοφύλλες, παράγωγα της ρετινάλης και βιταμίνης E) αντιοξειδωτικές ουσίες. Το μεταβολικό δυναμικό παραγωγής των οξειδωτικών προϊόντων στον αμφιβληστροειδή είναι υψηλό. Τα εξωτερικά τμήματα των φωτοϋποδοχέων έχουν υψηλές συγκεντρώσεις πολυακόρεστων λιπιδίων (μεμβρανικά στοιχεία) που είναι ευάλωτα στη φωτο-οξειδωση⁵³⁻⁵⁶. Η πίεση του O₂ επιπλέον είναι 70 mmHg, όσο περίπου και του αρτηριακού αίματος. Ένα ευάλωτο υπόστρωμα, η πλούσια παροχή οξυγόνου και τα υψηλής ενέργειας μικρά μ.κ. δημιουργούν τις ιδανικές συνθήκες για οξειδωτική βλάβη. Η τελευταία έχει ακτινικό μηχανισμό. Πρόκειται για μια υποθερμική φωτοχημική απάντηση λόγω εκλεκτικής απορρόφησης του φωτός από φωτοαντιδραστικά μόρια. Ένα άλλο εν δυνάμει ανατομικό σημείο βλάβης με τη μεσολάβηση φωτοχημικής απάντησης είναι τα χοριοτριχοειδή. Μια πιθανή θεωρητικά πηγή ελεύθερων ριζών είναι τα πρόδρομα μόρια της αιμοσφαιρίνης (πρωτοπορφυρίνες)⁵⁷⁻⁵⁹.

Ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται από την απορρόφηση του υπεριώδους και μπλε φωτός από ένα φωτοδιεγερόμενο σύμπλεγμα ή μόριο (λιποφουσκίνη, πρωτοπορφυρίνη, κυτόχρωμα). Μονοατομικά μόρια σχηματίζονται ταχέως και μπορούν να δημιουργήσουν τριατομικά μόρια μέσω διασυστηματικών διασταυρώσεων. Στη συνέχεια μπορούν να αντιδράσουν με το οξυγόνο και να σχηματίσουν ισχυρά οξειδωτικά μόρια, όπως το ανιόν του οξυγόνου (O₂⁻), το υπεροξείδιο του H₂, οι ρίζες υδροξυλίου (OH⁻), το μονοατομικό οξυγόνο κ.ά. Αυτά με τη σειρά τους μπορούν να προκαλέσουν οξείδωση των λιπιδίων προσβάλλοντας τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με αποτέλεσμα βλάβες στο DNA, σε διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και οξείδωση πρωτεϊνών και καταστροφή και άλλων κυτταρικών στοιχείων⁵⁴. Τα καρτενοειδή είναι εν

δυνάμει συστήματα παγίδευσης των ελεύθερων ριζών και είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην εξουδετέρωση του μονοατομικού οξυγόνου ($O^{\cdot-}$)⁶⁰⁻⁶³. Εξαιτίας της λιπόφιλης φύσης τους, ενσωματώνονται εύκολα στις μεμβράνες και πιθανά προστατεύουν τα πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εξωτερικά τμήματα των φωτοϋποδοχέων^{54,56,61}.

2.5 ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΑΤΟΜΩΝ

Τα αμφιβληστροειδικά καροτενοειδή παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση κατά τη μέτρησή τους με τις διάφορες τεχνικές και φαίνεται να επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες. Σημαντικό προγνωστικό δείκτη φαίνεται να αποτελούν οι διατροφικές συνήθειες. Σε βραχυπρόθεσμες μελέτες με δίαιτες πλούσιες σε λουτεΐνη και ζεαξανθίνη^{22,41} ή με χρήση συμπληρωμάτων που τις περιέχουν⁶⁴⁻⁶⁷ για 3 μήνες ή και περισσότερο παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της πυκνότητας των καροτενοειδών μεταξύ των εξεταζομένων²².

Ωστόσο, η απάντηση στη λήψη συμπληρωμάτων διατροφής που περιέχουν λουτεΐνη ή/και ζεαξανθίνη παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση^{22,41,66}. Αυτό πιθανά αντικατοπτρίζει τη διαφορετική διαθεσιμότητα των καροτενοειδών από τις διάφορες τροφές, αλλά και τη διαφορετική μεταξύ των ατόμων ικανότητα απορρόφησης και μεταφοράς τους προς τους ιστούς. Η βιοδιαθεσιμότητα των καροτενοειδών παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση σε σχέση με την πηγή προέλευσής τους²³. Η λαμβανόμενη ποσότητα λίπους (μαγειρικού και των τροφών) μπορεί επίσης να αυξήσει την βιοδιαθεσιμότητα των καροτενοειδών⁶⁸.

Πολλοί άλλοι παράγοντες εκτός από τη διατροφή φαίνεται να επηρεάζουν την ικανότητα συγκέντρωσης των καροτενοειδών στον αμφιβληστροειδή. Κάποια στοιχεία υπάρχουν για την επίδραση του φύλου, με τους άνδρες να παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα χρωστικής από τις γυναίκες σε κάποιες μελέτες^{21,69,70,76}, ενώ σε άλλες ακριβώς το αντίθετο⁷¹. Η υπεροχή των αντρών στα επίπεδα της χρωστικής μπορεί να οφείλεται στα χαμηλότερα επίπεδα σωματικού

λίπους που έχουν γενικά οι άντρες, μια και αρκετές μελέτες μέχρι σήμερα έχουν συσχετίσει τα χαμηλά επίπεδα χρωστικής με τα υψηλά επίπεδα σωματικού λίπους^{21,72,73,74,75,76}.

Γενετικοί παράγοντες παίζουν ενδεχομένως κάποιο ρόλο επίσης. Σε κάποιες μελέτες, άνθρωποι με ανοιχτόχρωμες ίριδες εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα χρωστικής από αυτούς με σκουρόχρωμες ίριδες^{69,72,73,74,76}.

Σε μια μελέτη μέτρησης της χρωστικής της ωχράς με HPLC σε ματιών δωρητών ηλικίας 3-95 ετών δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά με την ηλικία⁷⁹. Μικρές μελέτες παρατήρησης έχουν βρει σταθερή ή ελαφρά μειωμένη την ποσότητα της χρωστικής με την πάροδο της ηλικίας⁷⁷⁻⁸⁰. Πιο πρόσφατες μελέτες δε βρίσκουν συσχέτιση μεταξύ ηλικίας και επιπέδων χρωστικής^{81,82}. Ουσιαστικά, δεν έχει αποσαφηνιστεί η σχέση ηλικίας και MPOD.

Στα νεώτερα μάτια η λουτεΐνη βρέθηκε να είναι το κυρίαρχο καροτενοειδές, με τη ζεαξανθίνη να την αντικαθιστά περί το 3^ο έτος της ηλικίας³⁴. Το μητρικό γάλα είναι πλούσιο σε λουτεΐνη και ζεαξανθίνη⁸¹.

Επιπρόσθετα, το κάπνισμα έχει συνδεθεί με χαμηλά επίπεδα χρωστικής στις περισσότερες έρευνες^{21,68,70,71}, γεγονός που πιθανότατα αντικατοπτρίζει το οξειδωτικό φορτίο του καπνίσματος, εξαιτίας του οποίου να μειώνονται ενδεχομένως τα αντιοξειδωτικά καροτενοειδή.

Μέχρι τώρα δεν είναι σαφές αν τα επίπεδα της χρωστικής επηρεάζονται από τη γήρανση ή και από τα οφθαλμικά νοσήματα. Αδιευκρίνιστη παραμένει και η σχέση επιπέδων MPOD και ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς κηλίδας, μια και ακόμα μέχρι πρόσφατα τα ευρήματα δε συμφωνούν^{76,81,84,85,86,87}.

Γι'αυτό και δεν μπορεί κανείς με βεβαιότητα να πει αν η παρατηρούμενη σε κάποιες μελέτες μείωση της MPOD είναι αιτία ή επίπτωση της πάθησης. Για τη σχέση αυτή άρχισαν να γίνονται νύξεις έμμεσα από την πρώτη μεγάλη μελέτη που έγινε για τη συσχέτιση ηλικιακών

εκφυλιστικών οφθαλμικών νοσημάτων, την AREDS το 2001, στα αποτελέσματα της οποίας θα σταθούμε αναλυτικότερα παρακάτω, προτού κάνουμε μια αναφορά σε προηγούμενες αλλά και πρόσφατες μελέτες που απέδειξαν τη σχέση επιπέδων χρωστικής και διατροφικών παραλλαγών.

2.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΕΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΜΕ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ

Τα καροτενοειδή έχουν καθαρά διατροφική προέλευση. Πίθηκοι οι οποίοι στερήθηκαν από τη διατροφή τους τα καροτενοειδή για 3 χρόνια κατά μέσο όρο δεν είχαν ανιχνεύσιμη χρωστική⁸⁸. Σε μια προοπτική μελέτη⁸⁹, 18 πίθηκοι διατράφηκαν με δίαιτα ελεύθερη ξανθοφύλλων για διάστημα από 7 ως 16 χρόνια. Μετά το τέλος της περιόδου αυτής, η χρωστική που μετρήθηκε, με μη επεμβατική μέθοδο, δεν ήταν ανιχνεύσιμη. Είχαν, επίσης, οι πίθηκοι αυτοί χαμηλότερη πυκνότητα κυττάρων ΜΕ σε σχέση με τους φυσιολογικά διατρεφόμενους πιθήκους⁹⁰. Έναρξη δίαιτας εμπλουτισμένης με λουτεΐνη ή ακόμα και φυσιολογική δίαιτα κατέδειξε ραγδαία αύξηση των επιπέδων των καροτενοειδών στον ορρό του αίματος, υψηλότερα στην πρώτη περίπτωση. Τα αμφιβληστροειδικά καροτενοειδή επέδειξαν σταθερή αύξηση επίσης, επιτυγχάνοντας σταθεροποίηση των επιπέδων τους στις 24-36 εβδομάδες.

Ένα άλλο ζωικό μοντέλο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της χρωστικής της ωχράς είναι το ορτύκι. Όπως τα πρωτεύοντα, έτσι και το ορτύκι έχει υψηλή συγκέντρωση κωνίων και παρόμοια τάση για συσσώρευση λουτεΐνης και ζεαξανθίνης. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι καταρχάς διαιτητικά συμπληρώματα ζεαξανθίνης επέφεραν ταχεία και σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση της λουτεΐνης και ζεαξανθίνης στον αμφιβληστροειδή, όπως μετρήθηκαν με HPLC⁹¹ και κατά δεύτερον ότι ορτύκια εκτεθειμένα σε έντονο φως που έπαιρναν συμπληρώματα ζεαξανθίνης είχαν σημαντικά μικρότερο ποσοστό φωτοεπαγόμενης απόπτωσης των φωτοϋποδοχέων τους σε σχέση με άλλα υπό δίαιτα ελεύθερη καροτενοειδών^{91,92}.

Εκτός από την AREDS, η οποία όμως δεν ασχολήθηκε με τη μέτρηση της χρωστικής της ωχράς, μελέτες επίδρασης των συμπληρωμάτων με καροτενοειδή στη χρωστική της ωχράς ανθρώπων δεν έχουν γίνει σε μεγάλη έκταση. Ωστόσο, αναδεικνύονται, από τις υπάρχουσες, πειστικές αποδείξεις ότι βραχυπρόθεσμη ενίσχυση με συμπληρώματα λουτεΐνης και ζεαξανθίνης μπορεί να αυξήσει τα επίπεδά τους στην ωχρά κηλίδα. Είναι ήδη σαφής η μεγάλη διακύμανση που παρατηρείται μεταξύ των ατόμων στα επίπεδα της χρωστικής στον αμφιβληστροειδή και στην ανταπόκριση στη λήψη συμπληρωμάτων. Στις περισσότερες περιπτώσεις, συμπληρώματα με λουτεϊνικούς εστέρες προκαλεί σημαντική αύξηση των αμφιβληστροειδικών επιπέδων και αυτών του ορρού. Δέκα mg λουτεΐνης λαμβανόμενα από οχτώ άνδρες είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων στο πλάσμα κατά 5 φορές και τα αμφιβληστροειδικά κατά 4% -5%⁶⁴. Σε κάποια άλλη μελέτη 30 mg λαμβανόμενα καθημερινά προκάλεσαν την αύξηση των επιπέδων του ορρού 2 αντρών κατά 10 φορές και των ξανθοφύλλων στην ωχρά κηλίδα κατά 40% στον έναν και 20% στο δεύτερο. Τα επίπεδα της λουτεΐνης αυξήθηκαν άμεσα στο πλάσμα, ενώ στον αμφιβληστροειδή άρχισαν να αυξάνονται μετά από 20 μέρες, συνέχισαν να αυξάνονται για 50 μέρες αφού σταμάτησαν να λαμβάνονται τα συμπληρώματα και παρέμειναν σε υψηλά επίπεδα για πάνω από ένα έτος⁹³. Σε μια άλλη μελέτη⁶⁵, 38 άτομα πήραν συμπληρώματα καροτενοειδών (36 λουτεΐνη, 2.4-3.0 mg/ημέρα και 2 ζεαξανθίνη, 30 mg/ημέρα). Σε όλους αυξήθηκαν κατά άλλο βαθμό τα επίπεδα στο πλάσμα, ενώ η χρωστική της ωχράς αυξήθηκε στα περισσότερα άτομα. Υπήρξαν και κάποιες περιπτώσεις μη αύξησης της χρωστικής και τότε η λαμβανόμενη δόση ήταν χαμηλή. Αλλού²², 4 άντρες και 9 γυναίκες πήραν προκαθορισμένες ποσότητες σπανακιού ημερησίως (περιέχουσες 10.8 g λουτεΐνης και 0.3 mg ζεαξανθίνης) ή καλαμπόκι (0.4 mg λουτεΐνη και 0.3 mg ζεαξανθίνη), έως και 15 εβδομάδες. Από αυτούς, 3 άτομα (2 άντρες, 1 γυναίκα) δεν ανταποκρίθηκαν. Στους υπόλοιπους, τα επίπεδα των συστατικών αυτών στο πλάσμα αυξήθηκαν κατά 33% μέσο όρο και στον αμφιβληστροειδή κατά 19%.

Τα τελευταία τρία χρόνια, έχουν λάβει χώρα και μεγαλύτερες μελέτες που αφορούν σε ανθρώπους. Το 2006, η LuXEA (LUtein Xanthophyll Eye Accumulation)⁹⁴ έδειξε αύξηση των επιπέδων της χρωστικής, μετά από 12 μήνες λήψης συμπληρωμάτων μόνο με λουτεΐνη, μόνο

με ζεαξανθίνη και σε συνδυασμό τους, σε 126 νέους άντρες (18-45 ετών). Δημιουργήθηκαν τέσσερις ομάδες. Οι εξεταζόμενοι της πρώτης ομάδας έπαιρναν 10 mg λουτεΐνης, της δεύτερης 12 mg ζεαξανθίνης, της τρίτης συνδυασμό των δύο, από 10 mg από το καθένα περίπου και η τέταρτη ήταν η ομάδα ελέγχου, με λήψη δισκίου χωρίς καροτενοειδές (placebo). Τα επίπεδα στο πλάσμα αυξήθηκαν ήδη από τον πρώτο μήνα στις ομάδες που έπαιρναν καροτενοειδή, ενώ τα επίπεδα στον αμφιβληστροειδή, όπως μετρούνταν με HFP, εμφάνισαν στην πλειοψηφία των εξεταζόμενων πιο καθυστερημένη αύξηση, με την ομάδα της λουτεΐνης να παρουσιάζει αύξηση κατά 14.5%, της ζεαξανθίνης αρκετά μικρότερη (2.7%) και της συνδυασμένης λήψης των δύο κατά 15.1% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η LUNA⁹⁵ ένα χρόνο μετά έδειξε επίσης αύξηση της χρωστικής κατά 0,1(±0,009) μετά από 6 μήνες λήψης συμπληρωμάτων με λουτεΐνη, ζεαξανθίνη και άλλες αντιοξειδωτικές ουσίες (Ocuvite luteinTM) σε 108 εξεταζόμενους (μ.ό. ηλικίας 71.5 έτη). Η πλειοψηφία τους (92.6%) εμφάνιζε σημεία ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς κατά την κλινική εξέταση. Τα επίπεδα της χρωστικής μετρήθηκαν με τη μέθοδο του αυτοφθορισμού στην αρχή της μελέτης, 6 μήνες μετά και 3 μήνες μετά τη διακοπή του συμπληρώματος και συγκρίθηκε με αντίστοιχες μετρήσεις σε ομάδα ελέγχου της ίδιας ηλικίας. Μετρήθηκαν και τα επίπεδα στο πλάσμα των καροτενοειδών, η αύξηση σ' αυτήν την περίπτωση διαφάνηκε στους 6 μήνες διάρκειας της μελέτης. Τέλος, το 2007 επίσης, η LAST II (Lutein Antioxidant Supplementation Trial)⁹⁶ που αφορούσε 90 βετεράνους (86 άντρες και 4 γυναίκες) ηλικίας 74.7 ετών κατά μέσο όρο, με ατροφικού τύπου ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας κατέδειξε αύξηση της πυκνότητας της χρωστικής στις ομάδες υπό συμπληρώματα, αλλά όχι στην ομάδα υπό placebo. Συγκεκριμένα, από τις τρεις ομάδες που σχηματίστηκαν, η μία έπαιρνε 10 mg λουτεΐνης, η δεύτερη 10 mg λουτεΐνης σε συνδυασμό με αντιοξειδωτικά, όπως βιταμίνες, αμινοξέα και φλαβονοειδή και η τρίτη μαλτοδεξτρίνη (placebo). Μετά από 12 μήνες, στην επανάληψη της μέτρησης της οπτικής πυκνότητας της χρωστικής της ωχράς, η οποία έγινε με HFP, παρατηρήθηκε αύξηση ως και κατά 0.2 (στην ομάδα με το συνδυασμό λουτεΐνης και αντιοξειδωτικών με χαμηλά αρχικά επίπεδα χρωστικής) στα επίπεδα της χρωστικής των ατόμων των ομάδων που λάμβαναν συμπληρώματα, αλλά όχι στην ομάδα υπό placebo, όπου παρατηρήθηκε επιπλέον και μικρή μείωση στα επίπεδα της χρωστικής.

2.7 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑΚΗ ΩΧΡΟΠΑΘΕΙΑ

Η οπτική απόδοση των ανθρώπων πέφτει σταδιακά ως την 5^η με 6^η δεκαετία της ζωής, μετά την οποία ο ρυθμός πτώσης γίνεται πιο απότομος^{52,53,97}. Η μειωμένη διαύγεια του φακού, η απώλεια ραβδίων, οι λειτουργίες του ΜΕ συνεισφέρουν στη μειωμένες ικανότητες του οπτικού συστήματος^{60,98-100}. Εν τούτοις, υπάρχει τεράστια διακύμανση στην απόδοση μεταξύ των ηλικιωμένων ατόμων, διαφορά που προκαλεί το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη διαλεύκανση των παραγόντων που επιτρέπουν στους ανθρώπους να βλέπουν καλύτερα για περισσότερο καιρό. Μηχανισμοί οξειδωσης φαίνεται να ενοχοποιούνται ως πρωταρχικοί για την εμφάνιση κάποιων μορφών καρκίνου, καταρράκτη, ΗΕΩ και κάποιων νευροεκφυλιστικών νοσημάτων.

Ο νεανικός φακός επιτρέπει πολύ περισσότερο μπλε φως να φτάσει στον αμφιβληστροειδή από τον γεροντικό. Από την ηλικία των 60 ετών κι έπειτα η ικανότητα δέσμευσης του μπλε φωτός από τον φακό που κιτρινίζει είναι σχεδόν ίδια με αυτή της χρωστικής της ωχράς κηλίδας⁹⁸. Μια σημαντική συνυπαιτιότητα είναι ότι το ενδεχόμενο οξειδωτικό φορτίο της ωχράς την επιβαρύνει από πολλά χρόνια πριν την κλινική ή λειτουργική εμφάνιση της βλάβης. Κάτι τέτοιο με τη σειρά του κάνει τις μακροπρόθεσμες επιδημιολογικές μελέτες των παραγόντων κινδύνου και των ενδεχόμενων προστατευτικών παραγόντων κρίσιμες για την κατανόηση της πρόληψης των σχετιζόμενων με την ηλικία παθήσεων. Παραδείγματος χάρη, θα μπορούσε να υποθεθεί ότι η μακροχρόνια δίαιτα με τροφές πλούσιες σε λουτεΐνης και ζεαξανθίνη οδηγούν σε λιγότερες ηλικιακές αλλοιώσεις στην ωχρά κηλίδα, μα δεν υπάρχουν αρκετές αποδείξεις ακόμα για κάτι τέτοιο^{50,101-103}.

Πριν όμως συζητήσουμε αναλυτικότερα για τη σχέση των καρτενοειδών του αμφιβληστροειδή με την εμφάνιση και εξέλιξη της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς κηλίδας, ας δούμε γι'αυτήν κάποια βασικά στοιχεία αιτιοπαθογένειας, παθοφυσιολογίας, κλινικής εκδήλωσης και επιπτώσεων στην όραση του πάσχοντος.

3 ΗΛΙΚΙΑΚΗ ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΤΗΣ ΩΧΡΑΣ ΚΗΛΙΔΑΣ


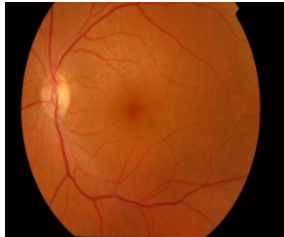


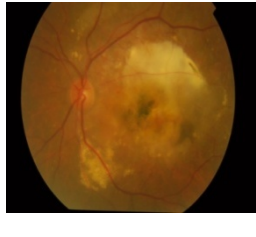
Η Ηλικιακή Εκφύλιση της Ωχράς κηλίδας (ΗΕΩ) είναι η πιο κοινή αιτία σοβαρής και αμετάκλητης απώλειας όρασης σε ανθρώπους >65 ετών² (National Society to Prevent Blindness 1980). Χαρακτηρίζεται από μια ποικιλία κλινικών και παθολογοανατομικών ευρημάτων, όπως ωχροκίτρινες «κηλίδες» (γνωστές ως drusen), ατροφία ή/και διάσπαση του Μελάγχρου Επιθηλίου (ΜΕ), υπαμφιβληστροειδική νεοαγγείωση (ΥΑΝ) και σχηματισμός δισκοειδούς ουλής στην κεντρική περιοχή του αμφιβληστροειδή. Πρόκειται για αμφοτερόπλευρη πάθηση με ασύμμετρη όμως εμφάνιση. Αυτό σημαίνει ότι θίγει πάντα και τους δύο οφθαλμούς, ο χρόνος όμως εκδήλωσης, η βαρύτητα των συμπτωμάτων και η εξέλιξη της ποικίλλουν στους δύο οφθαλμούς του ίδιου ατόμου και μεταξύ των ασθενών.

3.1 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Ανεξάρτητα από αυτό, οι εκδηλώσεις της ΗΕΩ κατηγοριοποιούνται σε δύο μορφές: στην ατροφική (ξηρή) μορφή και στην εξιδρωματική (υγρή) μορφή. Τα drusen είναι οι χαρακτηριστικές αλλοιώσεις της ξηρής μορφής, ενώ η νεοαγγείωση χαρακτηρίζει την υγρή μορφή. Η δισκοειδής εκφύλιση είναι η κατάληξη της νεοαγγειακής αλλοίωσης μετά την ινώδη ουλοποίησή της.

Η AREDS το 2001¹⁰⁴ σταδιοποίησε την πάθηση ανάλογα με το μέγεθος και τον αριθμό των drusen και την ύπαρξη σημείων προχωρημένης νόσου, όπως η εκτεταμένη απώλεια φωτοϋποδοχέων και στηρικτικού ιστού (ΜΕ) στην κεντρική περιοχή (η προχωρημένη μορφή της ξηρού τύπου ωχροπάθειας) ή διαρροή και αιμορραγία σε έδαφος νεοαγγείωσης (η υγρή μορφή της ΗΕΩ). Τόσο η μία όσο και η άλλη οδηγούν σε σημαντική απώλεια της κεντρικής όρασης, ακρωτηριαστικής για τη ζωή του ασθενή.

Οι κατηγορίες της νόσου κατά AREDS φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 1	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 2	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 3	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 4	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 5
Ομάδα αναφοράς-ελέγχου			<i>Μόνο στον έναν οφθαλμό</i>	<i>Μόνο στον έναν οφθαλμό</i>
Απουσία HEΩ	Πρώιμη HEΩ	Ενδιάμεση HEΩ	Προχωρημένη HEΩ	
Καθόλου drusen ή λίγα μικρά drusen	Αρκετά μικρά drusen ή λίγα μεσαίου μεγέθους, στο ένα ή και στα δύο μάτι	Πολλά μεσαίου μεγέθους drusen ή ένα και παραπάνω μεγάλο drusen, στο ένα ή και στα δύο μάτια	Απώλεια φωτοϋποδοχέων και ΜΕ στην κεντρική περιοχή (γεωγραφική ατροφία)	Ανώμαλα και εύθραυστα αγγεία υπαμφιβληστροειδικά (υγρή-εξιδρωματική μορφή)
				

Πίνακας 1: Κατηγοριοποίηση AMD από την AREDS I.

3.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Οι δύο μεγαλύτερες μέχρι πρόσφατα πληθυσμιακές μελέτες για την AMD, η Framingham Eye Study¹⁰⁷ και η Beaver Dam Eye Study¹⁰⁸⁻¹⁰⁹ κατέδειξαν μια δραματική αύξηση της επίπτωσης της AMD με την ηλικία. Η Framingham Eye Study αναφέρει για την AMD (συνύπαρξη ξηρής στον έναν και υγρής AMD στον έτερο οφθαλμό) επιπολασμό 1.6% σε ασθενείς 52-64 ετών, 11% μεταξύ 65 και 74 ετών και 27.9% σε ασθενείς 75-85 ετών. Η Beaver Dam Eye Study αναφέρει επίπτωση της AMD ίση με 8.5% για ανθρώπους μεταξύ 43-54 ετών και 36,8% για ανθρώπους πάνω από 75 ετών. Υπολογίζεται ότι περίπου 79% των περιπτώσεων είναι ατροφικού τύπου, περίπου 8% είναι εξιδρωματικού τύπου και σχεδόν 13% είναι

αδιάγνωστη¹⁰⁷. Παρά το γεγονός ότι η υγρού τύπου AMD εμφανίζεται λιγότερο συχνά, είναι ωστόσο υπεύθυνη για το 80-90% των περιπτώσεων σοβαρής απώλειας της όρασης λόγω AMD¹¹⁰. Σύμφωνα με την Beaver Dam Eye Study, υπολογίζονται γύρω στα 150.000 τα νέα περιστατικά εξιδρωματικής ΗΕΩ που διαγιγνώσκονται στις Η.Π.Α. ανά έτος.

Το 2006 δημοσιεύτηκε μια πολυκεντρική πανευρωπαϊκή μελέτη, η European Eye Study¹¹¹ (the EUREYE Study) για την επίπτωση της AMD στην Ευρώπη. Αφορούσε κέντρα σε όλη την Ευρώπη, συμπεριλαμβανομένων και μεσογειακών χωρών της, που απουσίαζαν από προηγούμενες ευρωπαϊκές μελέτες, και συμπεριλάμβανε 5040 συμμετέχοντες πάνω από 65 ετών. Τα αποτελέσματά της επιβεβαίωσαν τα ευρήματα των προηγούμενων μελετών για την αύξηση της επίπτωσης της AMD με την ηλικία και για την ευρωπαϊκή επικράτεια εν γένει: Η προχωρημένη μορφή Ηλικιακής Εκφύλισης της Ωχράς (ΗΕΩ) εμφανίζεται στο 3.32% των ατόμων >65 ετών, με το ποσοστό να αυξάνει στους μεν άντρες από 0.90% που βρέθηκε για ηλικίες από 65-69 ετών στο 6.94% για >80 ετών, στις δε γυναίκες, από 1.03% για 65-69 ετών στο 15% για >80 ετών. Από αυτούς, η εμφάνιση της υγρής μορφής της νόσου αφορά στο 2.29% για το συνολικό πληθυσμό της μελέτης, μεταξύ των οποίων, οι άντρες επιδεικνύουν αύξηση του αντίστοιχου ποσοστού από 0.38%, μεταξύ 65-69 ετών, στο 5.56% και οι γυναίκες αντίστοιχη αύξηση από 0.92% σε 10.50% .

Το ποσοστό των ασθενών με προχωρημένη ΗΕΩ αμφοτερόπλευρα ήταν συνολικά 1.4%. Στην Ελλάδα (Θεσσαλονίκη) το ποσοστό των ασθενών με προχωρημένη ΗΕΩ (γεωγραφική ατροφία ή νεοαγγείωση) φτάνει το 4.71%, κατέχοντας την πρώτη θέση, με τελευταία την Ισπανία, Alicante (1.34%).

3.3 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ (και παράγοντες κινδύνου)

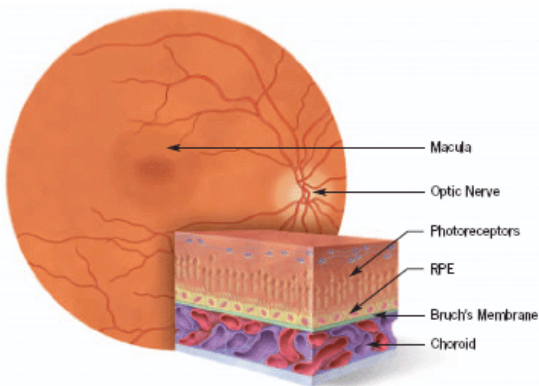
Η αιτιολογία παραμένει στην πραγματικότητα άγνωστη. Είναι ωστόσο πλέον ξεκάθαρο ότι ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου αυξάνει με την ηλικία¹⁰⁸. Γενετικές και ανοσοϊστολογικές μελέτες υποδεικνύουν το ρόλο του συμπληρώματος (με πρωτεύοντα ρόλο αυτόν του παράγοντα Η) στην ανάπτυξη της ΗΕΩ αν και ο μηχανισμός δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως¹¹²⁻¹¹⁵. Άλλοι γνωστοί παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν επιβαρυνμένο οικογενειακό ιστορικό και κάπνισμα (οι καπνιστές εμφανίζουν κίνδυνο εμφάνισης AMD ως και 6 φορές μεγαλύτερο από τους μη καπνιστές¹⁰⁹), ενώ το οξειδωτικό στρες, η κατανάλωση αλκοόλ και η έκθεση στο ηλιακό φως έχουν επίσης ενοχοποιηθεί ως παράγοντες αυξημένου κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου¹¹⁶.

3.4 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ- ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

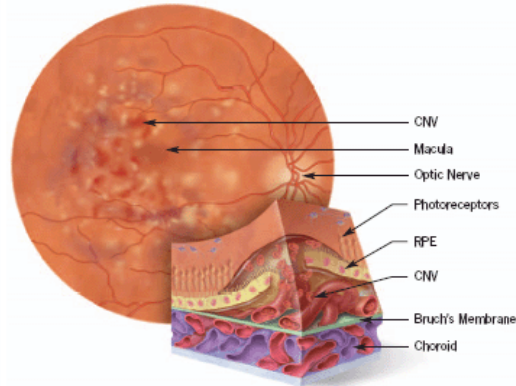
Η παθογένεση της νόσου είναι πολυπαραγοντική και οι παράγοντες που συμβάλλουν στην εμφάνιση και εξέλιξή της δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Ξεκινώντας από την εξιδρωματική μορφή της νόσου, για το μηχανισμό εξέλιξης της οποίας γνωρίζουμε και τα περισσότερα, θα προσεγγίσουμε παθοφυσιολογικά και κλινικά και τον ατροφικό τύπο της Ηλικιακής Εκφύλισης της Ωχράς κηλίδας.

Η εξιδρωματική μορφή χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη νεοαγγείωσης υπαμφιβληστροειδικά, κυρίως κάτω από την περιοχή της ωχράς. Τα χοριοτριχοειδή πολλαπλασιάζονται και διεισδύουν στη μεμβράνη του Bruch, φτάνοντας στο ΜΕ και επεκτεινόμενα προς τον υπαμφιβληστροειδικό χώρο. Η αυξημένη διαπερατότητα των νεόπλαστων αυτών αγγείων οδηγεί στη συσσώρευση ορρώδους υγρού ή αίματος κάτω από το ΜΕ ή/και μέσα στο νευροεπιθήλιο.

Normal Retina



Wet AMD



Εικ. 11: Σχηματική απεικόνιση του αμφιβληστροειδή ειδικά στην περιοχή της ωχράς. Αριστερά: φυσιολογικός ιστός, δεξιά: ανάπτυξη υπαμφιβληστροειδικής νεοαγγείωσης.

Η εξοίδηση ή η αποκόλληση του κεντρικού βοθρίου με αυτόν τον τρόπο έχει ως αποτέλεσμα τη δραματική μείωση της κεντρικής όρασης. Ινώδης μεταπλασία και οργάνωση του υποαμφιβληστροειδικού υλικού μπορεί να επακολουθήσει καταλήγοντας στο σχηματισμό μιας δισκοειδούς ουλής η οποία και συνιστά το τελευταίο στάδιο της ΗΕΩ και συνδέεται με οριστική απώλεια της όρασης².

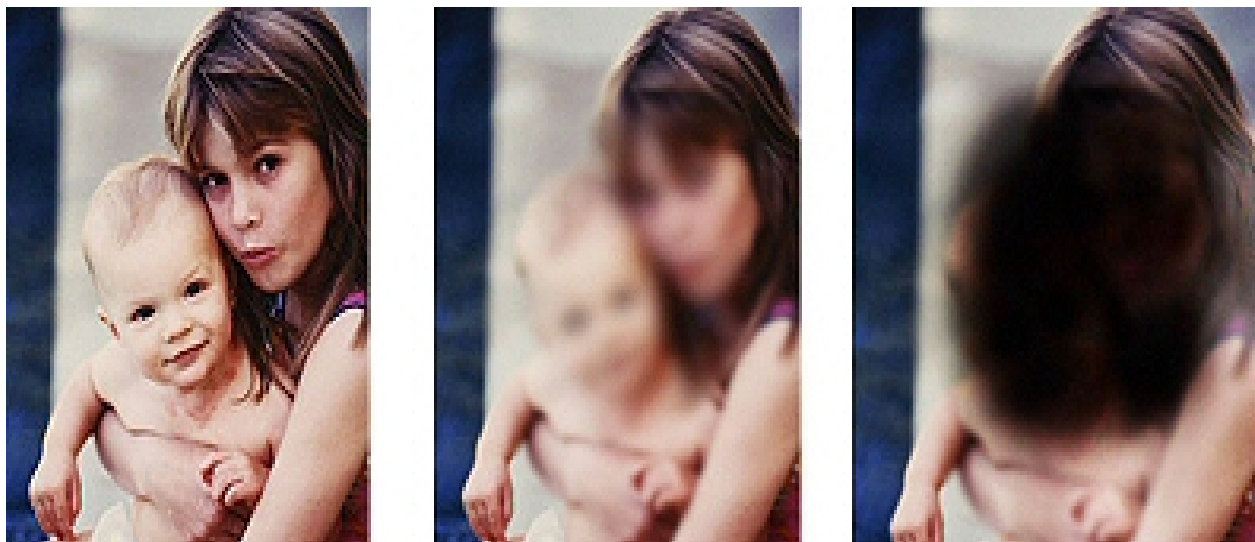
Τα ερεθίσματα που προάγουν τη νεοαγγείωση είναι άγνωστα. Ωστόσο, δεν είναι λίγες οι αποδείξεις για τον πρωταγωνιστικό ρόλο που παίζει στην παθογένεση της ΗΕΩ ο αγγειογενετικός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας-A (Vascular Endothelial Growth Factor-A, VEGF-A, ή απλά VEGF). Ο VEGF διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, λειτουργεί σαν παράγοντας επιβίωσης των νεοσχηματιζόμενων αγγείων και επάγει τη διαπερατότητά τους¹⁷. Εκτός από την ανεύρεσή του σε δείγματα οφθαλμικού υγρού ασθενών με άλλες αγγειακές αμφιβληστροειδικές παθήσεις, όπως η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια

και ο αποκλεισμός φλέβας¹¹⁸, ο VEGF έχει ανιχνευτεί σε χειρουργικά εξαιρεμένο νεοαγγειακό ιστό από αμφιβληστροειδή ασθενών με ΗΕΩ . Ο VEGF υπόκειται σε εναλλακτικό μάτισμα και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις για να σχηματιστούν πολλαπλές ενεργές μορφές¹¹⁷ του από τις οποίες τουλάχιστον 2 έχουν βρεθεί σε χειρουργικά δείγματα. Αύξηση της έκφρασης του VEGF παρατηρήθηκε επίσης σε πειραματικά μοντέλα νεοαγγείωσης σε τρωκτικά¹²⁰.

Επιπροσθέτως, διαγονιδιακά ποντίκια με αυξημένη έκφραση του VEGF στο φωτοϋποδοχείς¹²¹ ή στο ΜΕ¹²² φαίνεται να αναπτύσσουν νεοαγγείωση, η οποία θυμίζει αυτήν που παρατηρείται στους πάσχοντες από την εξιδρωματική μορφή της ΗΕΩ.

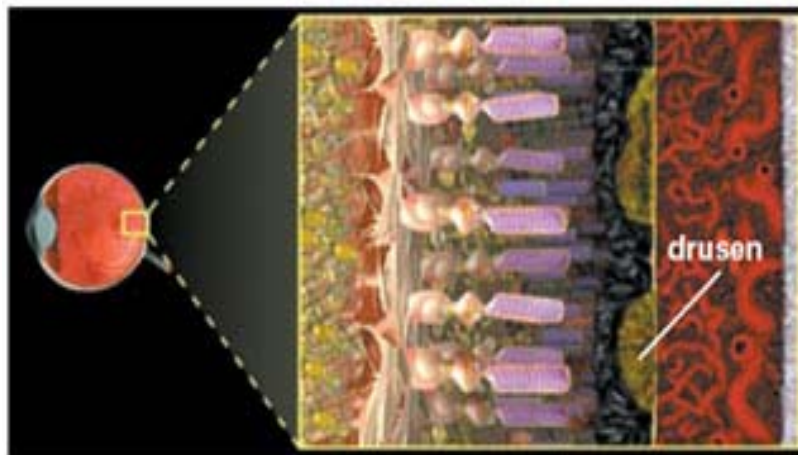
Η πορεία των οπτικών αλλοιώσεων που αντιλαμβάνεται ένας ασθενής με υγρού τύπου ΗΕΩ είναι συχνά η ακόλουθη²:

- Μεταμορφοψίες
- Θάμβος
- Θετικό σκότωμα



Εικ. 12: Συνήθης πορεία εξέλιξης της συμπτωματολογίας της AMD.

Η ξηρή μορφή της ΗΕΩ χαρακτηρίζεται από αλλαγές στο ΜΕ και τη μεμβράνη του Bruch. Πιστεύεται ότι το ΜΕ, λόγω γήρανσης και άλλων παραγόντων κινδύνου, επιτρέπει την εναπόθεση λιποφουσκίνης και άλλων κυτταρικών συντριμμάτων, τα οποία διασκορπίζονται στην περιοχή της ωχράς κηλίδας και του οπίσθιου πόλου του αμφιβληστροειδή εν γένει. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να παρατηρηθούν οφθαλμοσκοπικά σαν drusen, διάσπαρτων στον οπίσθιο πόλο και την ωχρά. Ιστολογικά, τα drusen συνδέονται με συσσώρευση λιποφουσκίνης και στοιχείων του συμπληρώματος. Αναλυτικότερα, τα εξωτερικά τμήματα των φωτούποδοχέων αποτελούνται από μεμβρανώδεις δίσκους, οι οποίοι συνεχώς αποπίπτουν και φαγοκυτταρώνονται από τα κύτταρα του ΜΕ. Με την πάροδο του χρόνου, συσσωρεύεται σταδιακά στο επίπεδο του ΜΕ λιποφουσκίνη, μια ετερογενής φθορίζουσα ουσία, πλούσια σε λιποπρωτεϊνικά συμπλέγματα.



Εικ. 13: Σχηματική αναπαράσταση των drusen στο επίπεδο της μεμβράνης του Bruch.

Πιθανά αποτελείται από παραπροϊόντα του μεταβολισμού της βιταμίνης Α καθώς και προϊόντα οξείδωσης των λιπιδίων^{99,124}. Αποτελεί επίσης πηγή φωτοευαισθητοποίησης των ενεργών ριζών οξυγόνου¹²⁵⁻¹²⁷. Υπάρχουν ισχυρές πειραματικές αποδείξεις ότι ένα συστατικό της λιποφουσκίνης, η Α2Ε (N-retinyl-N-retinylidene ethanolamine) μπορεί να καταστρέψει το ΜΕ, είναι τοξική για τα μιτοχόνδρια και όταν εκτίθεται στο μπλε φως προάγει την απόπτωση των κυττάρων του ΜΕ in vitro^{126,128,129}. (Όταν τα κύτταρα του ΜΕ επεξεργαστούν με λουτεΐνη,

τότε το φωτοτοξικό αυτό αποτέλεσμα ελαττώνεται σημαντικά¹²⁵. Η παρουσία λουτεΐνης και ζεαξανθίνης έχει αποδειχθεί ότι επιπλέον μειώνει την ποσότητα της σχηματιζόμενης λιποφουσκίνης ελαττώνοντας το σχηματισμό A2E και αν κάποιο ανέφικτα ποσό A2E σχηματιστεί, μετριάζοντας τη φωτοτοξική της επίδραση στα κύτταρα του ΜΕ⁶³).

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι η έκθεση της λιποφουσκίνης στη μπλε ακτινοβολία προκαλεί την παραγωγή μεγαλύτερης ποσότητας τοξικών ανιόντων -Ο-Ο- απ'ό,τι αν εκτεθεί σε λευκό ή κόκκινο φως(660-730 nm), ποσότητα ανάλογη με την ένταση της ακτινοβολίας^{129,130}. Η λιποφουσκίνη συσσωρεύεται στο ΜΕ με την ηλικία: μπορεί να καταλαμβάνει μέχρι και 19% του κυτταρικού όγκου στην ηλικία των 80 ετών^{99,124}. Τα ίδια τα κύτταρα του ΜΕ παράγουν επίσης μεταβολικά προϊόντα πλούσια σε λιποφουσκίνη, τα οποία συγκεντρώνονται κάτω από το ΜΕ ή μέσα στη μεμβράνη του Bruch σχηματίζοντας τα drusen. Καθώς αυτά αυξάνουν σε μέγεθος, εμφανίζονται ως πρώιμες αλλοιώσεις της ΗΕΩ. Παρά τις εντατικές προσπάθειες να κατανοήσουμε την πολυπαραγοντική παθογένεσή της, δεν έχει διαπιστωθεί ακόμα αν η ΗΕΩ είναι μια πάθηση που εγκαθίσταται λόγω ελαττωμάτων στο χοριοειδή, το ΜΕ ή τους φωτοϋποδοχείς^{54,131}.

Η ξηρή μορφή της νόσου μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή να εκδηλώνεται κλινικά με κάποιο ή κάποια ή όλα από τα παρακάτω σημεία σε άλλοτε άλλο βαθμό².

- Μεταμορφοψίες
- Μακροψίες, μικροψίες
- Θετικά σκοτώματα
- Διαταραχές χρωματικής αντίληψης (κυρίως στα προχωρημένα στάδια)
- Σταδιακή επιδείνωση με άλλοτε άλλο ρυθμό.

3.5 ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΗ ΣΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑΚΗ ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΤΗΣ ΩΧΡΑΣ

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, υπάρχουν ισχυρές πειραματικές αποδείξεις ότι η A2E μπορεί να καταστρέψει το ME, είναι τοξική για τα μιτοχόνδρια και όταν εκτίθεται στο μπλε φως προάγει την απόπτωση των κυττάρων του ME in vitro. Όταν, όμως, τα κύτταρα του ME επεξεργαστούν με λουτεΐνη, τότε το φωτοτοξικό αυτό αποτέλεσμα ελαττώνεται σημαντικά. Η παρουσία λουτεΐνης και ζεαξανθίνης έχει αποδειχθεί ότι επιπλέον μειώνει την ποσότητα της σχηματιζόμενης λιποφουσκίνης ελαττώνοντας το σχηματισμό A2E και αν κάποιο ποσό A2E σχηματιστεί αναπόφευκτα, μετριάζοντας τη φωτοτοξική της επίδραση στα κύτταρα του ME.

Σε μια άλλη μελέτη, η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη ποσοτικοποιήθηκαν σε μια μελέτη σε μάτια δωρητών μεταθανάτια με HPLC. 112 φυσιολογικά μάτια και 112 πάσχοντα από HEΩ όλων των σταδίων μετρήθηκαν. Ο τύπος της HEΩ (ατροφικός ή εξιδρωματικός) διευκρινίστηκε μόνο στο ένα τέταρτο περίπου των περιπτώσεων. Μάτια με διαβητική ή άλλου τύπου αμφιβληστροειδοπάθεια ή άλλη οφθαλμική πάθηση αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Αναλύθηκαν δείγματα από 3 ζώνες, που αντιστοιχούσαν σε οπτικές γωνίες των 5°, 5° ως 19° και 19° ως 38°. Στα δείγματα των 5°, η Λ και η Ζ ήταν 62% λιγότερη στα μάτια με HEΩ απ'ότι στους φυσιολογικούς οφθαλμούς⁷⁹. Ωστόσο δεν έγινε ξεκάθαρο (ούτε) από αυτή τη μελέτη εάν η ελαττωμένη ποσότητα καροτενοειδών στην HEΩ αντιπροσωπεύει ένα από τα αίτια ή ένα αποτέλεσμα της πάθησης. Άλλες μελέτες κατέγραψαν ακόμη χαμηλότερα επίπεδα χρωστικής σε ασθενείς με AMD^{76,77,78,132,133}.

Ενδείξεις για την προστατευτική δράση των καροτενοειδών του αμφιβληστροειδή στην ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς προέρχεται από τοπογραφική εντόπιση της γεωγραφικής ατροφίας και των επιπέδων της χρωστικής. Συχνά στην πορεία εξέλιξης της ατροφίας, η περιωχρική περιοχή θίγεται πρώτη, με σχετική διατήρηση του κεντρικού βοθρίου, μέχρι τα πιο προχωρημένα στάδια της νόσου. Η περιωχρική περιοχή είναι εξίσου εκτεθειμένη σε έντονο οξειδωτικό στρες, ενώ ταυτόχρονα τα επίπεδα της χρωστικής είναι πολύ μικρότερα σε σχέση

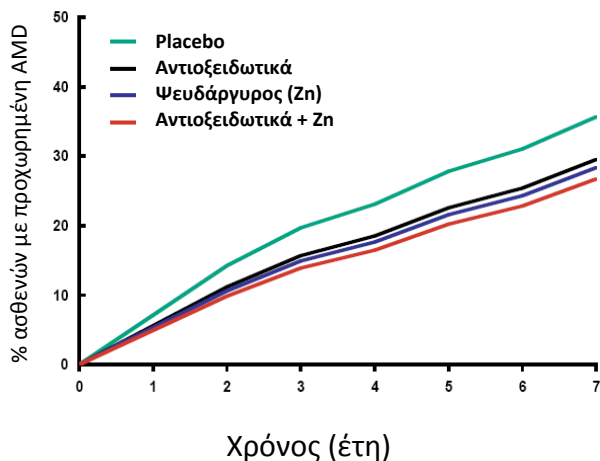
με το κεντρικό βοθρίο. Η περιωχρική περιοχή επιπλέον υποβάλλεται σε μια δραματική μείωση των ραβδίων και των S-κωνίων της με την ηλικία ακόμα και σε μη πάσχοντες αμφιβληστροειδείς (περίπου 30% των ραβδίων στα κεντρικά 4 mm χάνονται ως την ηλικία των 90 ετών, με τη μεγαλύτερη απώλεια να αφορά σε μια περιοχή ακτίνας 0.5 ως 3 mm)¹⁰⁰. Η απώλεια των S-κωνίων είναι ελάχιστη στην περιοχή με την πυκνότερη συγκέντρωση χρωστικής¹³⁰. Παρόλο που η διαδικασία της γήρανσης μειώνει την ευαισθησία σε σκοτοπικές συνθήκες και για τα χαμηλά μ.κ., τα υψηλά επίπεδα χρωστικής φαίνεται να διατηρούν ως ένα βαθμό τις λειτουργίες αυτές⁵².

3.6 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟ ΡΟΛΟ ΤΩΝ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ ΣΤΗΝ ΗΕΩ.

Οι επιδημιολογικές μελέτες παρέχουν μια «πρόβλεψη» για το εάν το αποτέλεσμα της λήψης καροτενοειδών σε οφθαλμικές παθήσεις, όπως προτείνεται από μελέτες στα ζωικά μοντέλα και σε κλινικές μελέτες σε ανθρώπους, μπορεί να γενικευτεί για πιο μακρόχρονες περιόδους σε πληθυσμούς διαφορετικών περιβαλλοντικών, πολιτισμικών και γενετικών συνθηκών. Τέτοιου είδους μελέτες δεν έχουν προσφέρει συνεπή συμπεράσματα ακόμα. Η ερευνητική ομάδα Eye Disease Case-Control Study Group ανέλυσε τα ευρήματα από το πλάσμα και τη διατροφή επιπέδων θρεπτικών μικροσυστατικών σε 421 ασθενείς με ΗΕΩ έναντι 615 ατόμων που αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου (ασθενείς με διαφορετικές διαγνώσεις, πλην καταστάσεων που προδιαθέτουν για χοριοειδοαμφιβληστροειδική νεοαγγείωση)¹³⁴⁻¹³⁶. Ασθενείς με επίπεδα καροτενοειδών πλάσματος στο ανώτερο 1/3 είχαν τις μισές πιθανότητες ανάπτυξης εξιδρωματικής ΗΕΩ, σε σύγκριση με αυτούς που βρίσκονταν στο κατώτερο 1/3, ενώ αυτοί στο μεσαίο ένα τρίτο διέτρεχαν τον αντίστοιχο κίνδυνο κατά 33,33%. Διατήρηση της προσλαμβανόμενης δόσης καροτενοειδών στα ανώτερα σε σχέση με τα κατώτερα πέμπτα μείωνε το υπολογιζόμενο ρίσκο κατά 60%.

Μετά τη δημοσίευση το 1994¹³⁴ κάποιων πρωτόλειων αποτελεσμάτων για τη σχέση Λουτεΐνης και Ζεαξανθίνης ορρού ή διατροφής και ΗΕΩ έχουν γίνει πολλές προσπάθειες διαλεύκανσης της σχέσης αυτής. Υψηλά επίπεδα πρόσληψης ή πλάσματος Λ και Ζ συνδέθηκαν με χαμηλά ποσοστά εμφάνισης της νόσου σε κάποιες μελέτες^{19,133,134,137}, ενώ σε άλλες δε βρέθηκε ανάλογη συσχέτιση¹³⁸⁻¹⁴¹. Γενικά η σχέση μεταξύ λουτεΐνης και ζεαξανθίνης και ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς εμφανίζεται πιο συνεπής στα προχωρημένα στάδια της νόσου και για υψηλές συγκεντρώσεις καροτενοειδών, όπως κατέδειξε και η μεγαλύτερη ως τώρα μελέτη γύρω από τη σχέση συμπληρωμάτων με αντιοξειδωτικά και καροτενοειδή και εκφυλιστικά νοσήματα του οφθαλμού (καταρράκτης, AMD), η AREDS I, που δημοσιεύτηκε το 2001¹⁰⁴⁻¹⁰⁶.

Ξεκινώντας το 1992 στις ΗΠΑ, συμπεριέλαβε 4757 άτομα από 11 οφθαλμολογικές κλινικές της χώρας, τα οποία πήραν, για 6.3 χρόνια κατά μέσο όρο, τυχαία, διατροφικά συμπληρώματα είτε μόνο με ψευδάργυρο, είτε μόνο με αντιοξειδωτικά ή συνδυασμό των δύο ή placebo. Τα αντιοξειδωτικά συμπεριλάμβαναν συνδυασμό 500 mg βιταμίνης C, 400 mg βιταμίνης E, 15 mg β-καροτένιο, 80 mg ψευδαργύρου και 2 mg χαλκού, σύμφωνα με τις οδηγίες οφθαλμιάτρων, διατροφολόγων και βιοχημικών της ομάδας μελέτης. Ελέγχθηκαν τόσο η εξέλιξη του καταρράκτη όσο και η εξέλιξη της AMD. Τόσο το ένα όσο και το άλλο είχαν ταξινομηθεί αρχικά και οι ασθενείς είχαν κατηγοριοποιηθεί αναλόγως. Από τους ασθενείς με πρώιμη AMD και στους δύο οφθαλμούς, λιγότερο από το 2% εξελίχθηκε σε προχωρημένη νόσο μέσα σε 5 χρόνια. Από αυτούς με ενδιάμεση AMD αμφοτερόπλευρα, η ομάδα που δεν έπαιρνε αντιοξειδωτικά εμφάνισε 18% πιθανότητα εξέλιξης της νόσου στο προχωρημένο στάδιο (εξιδρωματική μορφή ή γεωγραφική ατροφία). Ρίσκο που έφτανε το 43% να εμφανίσουν προχωρημένη AMD παρουσίασαν οι ασθενείς που είχαν ήδη την προχωρημένη μορφή στον έναν οφθαλμό και ενδιάμεσου σταδίου ξηρή AMD στον έτερο οφθαλμό τους. Σ'αυτούς φάνηκε η λήψη των συμπληρωμάτων να μειώνει το ρίσκο εξέλιξης της νόσου στην πενταετία κατά 25%.



Διάγραμμα 1: Κίνδυνος εξέλιξης της ενδιάμεσης AMD σε προχωρημένη, στους ασθενείς της AREDS I που έπασχε ήδη ο ένας τους οφθαλμούς. Φαίνεται πως το ρίσκο μειώνεται (κατά 25%) με τη λήψη αντιοξειδωτικών και Zn στα 5 έτη.

Το 2006, ωστόσο, μια άλλη μεγάλη μελέτη, η Blue Mountain Study στην Αυστραλία δεν κατάφερε να επιβεβαιώσει τα αποτελέσματα της AREDS. Εξετάστηκαν μεταξύ 1992-1994 3654 άτομα από 49 ετών και πάνω και 2454 επανεξετάστηκαν μετά 5 χρόνια, μετά 10 χρόνια ή και τα δύο. Συνυπολογίστηκαν σ' αυτήν παράγοντες όπως το φύλο, η ηλικία και το κάπνισμα. Τα συμπληρώματα που χρησιμοποιήθηκαν περιείχαν α- και β-καροτένιο, β-κρυπτοξανθίνη, συνδυασμό λουτεΐνης και ζεαξανθίνης, λυκοπένιο, βιταμίνη A, C και E, σίδηρο και ψευδάργυρο. Αφενός λοιπόν δεν αποδείχτηκε η προστατευτική δράση της φόρμουλας β-καροτένιο, βιτ. C, E: αντιθέτως βρέθηκε αυξημένος ο κίνδυνος ανάπτυξης νεοαγγείωσης με την αυξημένη λήψη β-καροτενίου και υπήρξαν ενδείξεις ότι κάτι αντίστοιχο ισχύει και για το α-καροτένιο. Αφετέρου, οι υψηλές δόσεις λουτεΐνης και ζεαξανθίνης αποδείχτηκαν να καθυστερούν την εξέλιξη της νόσου προς την προχωρημένη-εξιδρωματική μορφή. Επίσης προστατευτική για τα πρώιμα στάδια όμως της νόσου αποδείχθηκε και η υψηλή λήψη ψευδαργύρου¹⁴². Αυτή η ασυμφωνία στα αποτελέσματα θα μπορούσε να αντικατοπτρίζει τη μεγάλη διακύμανση μεταξύ των ατόμων σ' ό,τι αφορά την ικανότητα του οργανισμού να αυξάνει τα επίπεδα των ξανθοφύλλων στον αμφιβληστροειδή ανάλογα με τη διαίτα ή τη λήψη συμπληρωμάτων, όπως σχολιάστηκε παραπάνω.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ανεξάρτητα από την αντιοξειδωτική ουσία που χρησιμοποιήθηκε, τόσο η AREDS I όσο και η Blue Mountain υπέδειξαν τον πιθανό ρόλο των αντιοξειδωτικών ουσιών (β-καροτένιο, Zn, βιταμίνη C και E, λουτεΐνη και ζεαξανθίνη) στην καθυστέρηση της εξέλιξης της νόσου στους οφθαλμούς με υγρή AMD στον έναν οφθαλμό και ξηρή μορφή AMD στον έτερο οφθαλμό τους. Η ενίσχυση δηλαδή της αντιοξειδωτικής προστασίας του αμφιβληστροειδή με ξηρή ωχροπάθεια (και υγρή στον έτερο οφθαλμό) φαίνεται να επιβραδύνει την εμφάνιση της υγρής μορφής στους οφθαλμούς αυτούς (AREDS I : μείωση κατά 25% του ρίσκου αυτού στα 5 έτη). Αντιστρέφοντας το εύρημα αυτό, εύλογα προκύπτει η υπόθεση ότι οι αμφιβληστροειδείς αυτοί είναι εκτεθειμένοι σε αυξημένο οξειδωτικό φορτίο, παράγοντας που άλλωστε έχει ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση της νόσου. Λαμβάνοντας, επιπλέον, υπόψη ότι από τις κυριότερες αντιοξειδωτικές ουσίες του αμφιβληστροειδή είναι η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη, αναμένει κανείς ότι στους οφθαλμούς αυτούς τη χρωστική της ωχράς και επομένως την MPOD σε χαμηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τους μη πάσχοντες οφθαλμούς της ίδιας ηλικίας.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει την παραπάνω υπόθεση. Να μετρήσει τα επίπεδα της MPOD στους οφθαλμούς με ξηρή ωχροπάθεια των ασθενών με ετερόπλευρη υγρή AMD και να τα συγκρίνει με τα αντίστοιχα επίπεδα τόσο υγιών αμφιβληστροειδών όσο και αυτά ασθενών με αμφοτερόπλευρη ξηρή ωχροπάθεια για την οποία τα ευρήματα μέχρι τώρα είναι αμφιλεγόμενα. Οι ασθενείς αυτοί παρόλο που διατρέχουν μεγάλο κίνδυνο να εμφανίσουν την εξιδρωματική μορφή της νόσου και στον έτερο οφθαλμό τους (43% σε 5 έτη κατά AREDS I), γεγονός που σημαίνει δραματική μείωση στην όραση τους και ισοδυναμεί με σημαντικό περιορισμό στη καθημερινή τους δραστηριότητα, δεν έχουν μέχρι τώρα καταγεγραμμένα μετρημένη την MPOD του οφθαλμού με την ξηρή ωχροπάθεια που διατρέχει τον κίνδυνο. Αυτό επιχειρήθηκε στην παρούσα μελέτη και περιγράφεται παρακάτω ενδελεχώς.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1 Ασθενείς

1.1.1 Επιλογή ασθενών

Οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν σε αυτή τη μελέτη παρακολουθούνται στο Τμήμα Βυθού της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου Κρήτης, για Ηλικιακή Εκφύλιση της Ωχράς κηλίδας, τόσο ατροφικού όσο και εξιδρωματικού τύπου.

1.1.2 Ομάδες ασθενών

Την ομάδα μελέτης μας (Ομάδα 1) αποτέλεσαν ασθενείς με εξιδρωματικού τύπου AMD στον έναν οφθαλμό και ξηρής μορφής AMD στον έτερο οφθαλμό τους, του οποίου και μετρήθηκε η MPOD. Αυτή συγκρίθηκε με την MPOD τόσο ασθενών με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD (Ομάδα 2, ασθενείς ελέγχου) όσο και ατόμων χωρίς AMD (ομάδα ελέγχου-συνοδοί, προεγχειρητικοί καταρράκτες, Ομάδα 0). Η MPOD των 2 ομάδων ελέγχου μετρήθηκε και στα δύο μάτια, όποτε αυτό ήταν εφικτό, λόγω περιορισμών που αναλύονται παρακάτω. Για τη σύγκριση χρησιμοποιήθηκε μία μέτρηση MPOD από κάθε άτομο, είτε αυτή που ήταν μετρήσιμη, στις ετερόφθαλμες μετρήσεις είτε η μέτρηση του αριστερού οφθαλμού, όταν η μέτρηση καταγράφηκε και στους δύο οφθαλμούς, μια και έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα της χρωστικής της ωχράς στους δύο οφθαλμούς είναι παρόμοια³⁸.

Η ύπαρξη ή μη της Ηλικιακής Εκφύλισης της Ωχράς επιβεβαιωνόταν με οφθαλμοσκόπηση, Οπτική Τομογραφία Συνοχής (Optical Coherence Tomography, OCT), φωτογραφία βυθού και φλουοραγγειογραφία. Η εγκατάσταση της νόσου μπορούσε να ποικίλλει από λίγες μέρες έως χρόνια και αφορούσε σε ξηρή ωχροπάθεια όλων των σταδίων (πρώιμη, ενδιάμεση) και σε

υγρής μορφής ΗΕΩ (προχωρημένη νόσος-υποαμφιβληστροειδική νεοαγγείωση, ουλοποιημένη ή ενεργή) , κατά AREDS.

1.2 Κλινική διαδικασία

Οι κλινικές εξετάσεις & συνεντεύξεις έγιναν από τον Μάρτιο 2008 ως τον Οκτώβριο 2008 στο Τμήμα Βυθού της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου Κρήτης.

1.2.1 Κριτήρια αποκλεισμού

Σε περίπτωση που ασθενής έπασχε από συστηματική πάθηση που εμφανίζει οφθαλμικές εκδηλώσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν και κάποιου είδους αμφιβληστροειδοπάθεια (π.χ. διαβήτη) ή από κάποια άλλη οφθαλμική πάθηση που θίγει και το οπίσθιο ημιμόριο του οφθαλμού (πχ γλαύκωμα ή άλλης αιτιολογίας ωχροπάθεια), τότε γινόταν ενδελεχής έλεγχος για τον αποκλεισμό συνυπάρχουσας παθολογίας στον αμφιβληστροειδή, με βυθοσκόπηση και απεικονιστικές μεθόδους (φλουοραγγειογραφία, OCT, GDX κοκ.). Σε τέτοια περίπτωση, ο ασθενής αποκλειόταν από τη μελέτη.

Σε κάθε περίπτωση, υγιή ή ασθενή εξεταζόμενου, εφόσον λάμβανε κάποιου είδους συμπλήρωμα με λουτεΐνη ή/και ζεαξανθίνη ή/και μέσο-ζεαξανθίνη, αυτός αποκλειόταν από τη μελέτη. Όλα τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν, τελικά, έπαιρναν τα καρροτενοειδή του αμφιβληστροειδή αποκλειστικά από τη διατροφή τους, χωρίς επιπλέον να έχουν συμβουλευθεί προηγουμένως (από κάποιον ειδικό ή από άλλες πηγές πληροφόρησης, ενημερωτικά έντυπα, τηλεόραση κλπ) για αυξημένη κατανάλωση τροφών με υψηλές συγκεντρώσεις ξανθοφυλλών.

1.2.2 Πραγματοποίηση Μετρήσεων

Για την πραγματοποίηση της μέτρησης της MPOD, η Βέλτιστα Διορθωμένη Οπτική Οξύτητα (Best Corrected Visual Acuity, BCVA) ήταν >20/80, μια και χαμηλότερες οξύτητες δεν επιτρέπουν στον εξεταζόμενο να πραγματοποιήσει την εξέταση (αδυναμία εντοπισμού και εστίασης στο στόχο).

Η μέτρηση πραγματοποιούνταν σε σκοτοπικές συνθήκες με τον έτερο οφθαλμό αποκλεισμένο με οφθαλμικό κάλυμμα εναλλάξ, μετρώντας πρώτα τον δεξιό (ΔΟ) και έπειτα τον αριστερό οφθαλμό (ΑΟ), όποτε επιτρεπόταν η μέτρηση και στους δύο οφθαλμούς. Για την απόκτηση του αποτελέσματος, πραγματοποιούνταν 3 μετρήσεις και υπολογιζόταν ο μέσος όρος, για μεγαλύτερη ακρίβεια.

Πριν από τη μέτρηση δίνονταν στον εξεταζόμενο πληροφορίες για τον σκοπό της εξέτασης και λεπτομερείς οδηγίες για τη διαδικασία, ενώ κατά τη διάρκεια της εξέτασης, ο εξεταζόμενος παροτρύνονταν να βλεφαρίζει συχνά καθώς προσηλώνει στο στόχο, κεντρικά ή περιφερικά.

1.2.3 Ερωτηματολόγιο

Στο τέλος της εξέτασης, ακολουθούσε μικρή συνέντευξη-ερωτηματολόγιο για τη συλλογή στοιχείων του οφθαλμολογικού και συστηματικού ιστορικού του, καθώς και για στοιχεία του τρόπου ζωής του που ενδεχόμενα επηρεάζουν το αποτέλεσμα. Πιο συγκεκριμένα, καταγράφονταν:

- i. το διαιτητικό προφίλ:
 - a. κατανάλωση πράσινων λαχανικών,
 - b. φρούτων
 - c. λίπους,

- ii. το κάπνισμα, ως :
 - a. καπνιστής,-ίστρια,
 - b. πρώην καπνιστής,-ίστρια
 - c. μη καπνιστής,-ίστρια,
- iii. το χρώμα της ίριδας:
 - a. ανοιχτό,
 - b. σκούρο και
- iv. ο δείκτης μάζας σώματος ($\Delta\text{Μ}\Sigma = \text{Βάρος (kg)}/\text{Υψος(m)}^2$) ως:
 - a. κανονικός: 20-25,
 - b. υπέρβαρος: 25-30,
 - c. παχύσαρκος: >30.

2 Μέθοδος¹⁴³

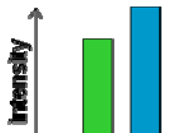
2.1 Χρησιμοποιούμενη Τεχνική HFP(QuantifEYE)

Η Οπτική Πυκνότητα της Χρωστικής της Ωχράς μετρήθηκε με το QuantifEYE, Macular Pigment Screener (MPS 9000, QuantifEYE™ - **ZeaVision**), μια καινοτόμο συσκευή που χρησιμοποιεί την ψυχοφυσική τεχνική της Φωτομετρίας Εναλλαγής Φωτεινότητας Ετεροχρωματικών μηκών κύματος (μ.κ.) (Heterochromatic Flicker Photometry, HFP).

2.1.1 Σύγκριση με την Καθιερωμένη Τεχνική Μέτρησης της MPOD με HFP

Κατά την καθιερωμένη τεχνική της HFP¹⁴⁴, ο εξεταζόμενος παρατηρεί στόχο στον οποίο εναλλάσσονται σε αντίθεση φάσης δύο διαφορετικού μήκους κύματος ακτινοβολίες, οι οποίες εκπέμπονται συνήθως από διόδους φωτοεκπομπής (Light Emitting Diodes, LEDs). Η μία

εκπέμπει στα 550 ή 570nm (πράσινο) τα οποία δεν απορροφώνται από τη χρωστική και η άλλη στα 460nm (μπλε), τα οποία απορροφώνται.



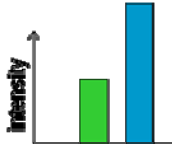
Σχήμα 1: Δύο LEDs εκπέμπουν στα 460nm (μπλε μπάρα) που απορροφώνται από τη χρωστική και στα 550nm που δεν απορροφώνται.

Από τον εξεταζόμενο ζητείται να εκμηδενίσει ή να ελαχιστοποιήσει το flicker των δύο μηκών κύματος ελέγχοντας την ένταση της μίας από τις δύο ακτινοβολίες.

Για να αποφύγει κανείς την επίδραση της απορρόφησης του μπλε φωτός και από τα υπόλοιπα στοιχεία του οφθαλμού που το απορροφούν φυσιολογικά (κυρίως του κρυσταλλοειδή φακού), οι μετρήσεις γίνονται σε δύο περιοχές του αμφιβληστροειδή, μία που έχει θεωρητικά τη μέγιστη πυκνότητα χρωστικής, δηλαδή το κεντρικό βοθρίο, και μία με σχεδόν μηδενική χρωστική, στις 4-6°, με σταθερή συχνότητα εναλλαγής, γύρω στα 15 Hz.

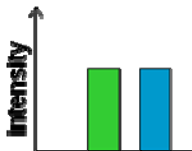
Ο εξεταζόμενος μεταβάλλει την ένταση του μπλε (ενώ του πράσινου παραμένει σταθερή), μέχρι να εξαφανίσει ή να ελαχιστοποιήσει το flicker. Τότε, οι δύο εντάσεις γίνονται αντιληπτές ως ίσες.

Στην κεντρική μέτρηση, ωστόσο, ένα μέρος της μεταβαλλόμενης έντασης φωτεινότητας απορροφάται από τη χρωστική, οπότε η πραγματική ένταση της μπλε ακτινοβολίας είναι μεγαλύτερη από της πράσινης. Ο λόγος των εντάσεων είναι : $L_c = Lum(460)/Lum(550)$.



Σχήμα 2: Όταν ελαχιστοποιείται το flicker, οι δύο εντάσεις γίνονται αντιληπτές ως ίδιες παρόλο που αυτή του μπλε είναι μεγαλύτερη γιατί ένα μέρος της απορροφάται από την χρωστική της ωχράς, η οποία συσσωρεύεται στην περιοχή, με max συγκέντρωση στο κεντρικό βοθρίο.

Στην περίπτωση της περιφερικής μέτρησης, οι δύο εντάσεις είναι πραγματικά ίσες όταν το flicker ελαχιστοποιείται. Ο λόγος των φωτεινοτήτων είναι $L_p = Lum(460)/Lum(550)$.



Σχήμα 3: Όταν ελαχιστοποιείται το flicker, οι δύο εντάσεις είναι ίσες.

Η οπτική πυκνότητα της χρωστικής της ωχράς υπολογίζεται ως η διαφορά της μετρούμενης Οπτικής Πυκνότητας μεταξύ κεντρικής και περιφερικής μέτρησης ($MPOD = k \log(L_c/L_p)$).

2.1.2 Οπτική Πυκνότητα (Optical Density, OD)

Υπενθυμίζεται ότι ως Οπτική Πυκνότητα ορίζεται το μέγεθος εκείνο που ισούται με το αρνητικό του λογαρίθμου του λόγου της διαδιδόμενης προς την προσπίπτουσα ένταση ακτινοβολίας, για συγκεκριμένο μήκος κύματος, λ :

$$OD_\lambda = -\log_{10}(I/I_0)$$

I_0 : η ένταση της ακτινοβολίας μήκους κύματος λ που προσπίπτει σε ένα οπτικό υλικό

I : η ένταση της ακτινοβολίας μήκους κύματος λ που διαπερνά το υλικό

OD: Optical Density, Οπτική Πυκνότητα.

Είναι λογαριθμικό μέγεθος, το οποίο εκφράζεται σε decibel (db). Έτσι εκφράζεται συχνά το μέγεθος μιας φυσικής ποσότητας (συνήθως δύναμης ή έντασης) σε σχέση με ένα συγκεκριμένο ή υποτιθέμενο επίπεδο αναφοράς.

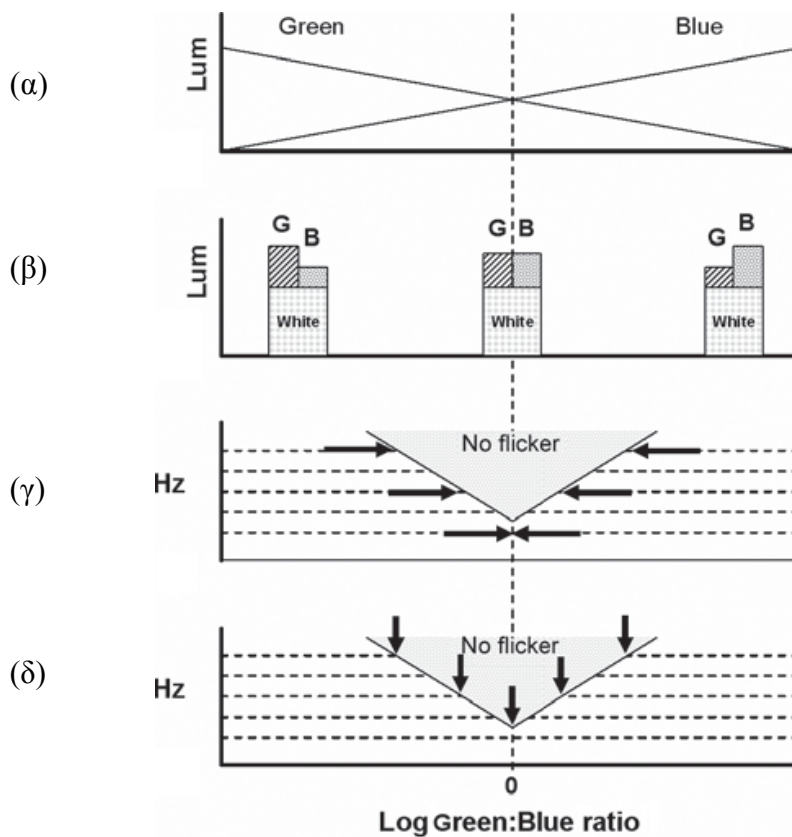
Στην περίπτωση της χρωστικής, η οπτική πυκνότητα θα είναι ο λογάριθμος της έντασης του μπλε που φτάνει τελικά στους φωτοϋποδοχείς (δηλαδή διαπερνά και δεν απορροφάται από την χρωστική) προς την ένταση του μπλε που προσπίπτει στην περιοχή της μέγιστης πυκνότητας της χρωστικής (θεωρητικά στο κεντρικό βοθρίο).

Επειδή όμως στον οφθαλμό υπάρχουν και άλλα στοιχεία που απορροφούν στο φάσμα του μπλε (με κύριο τον κρυσταλλοειδή φακό), η οπτική πυκνότητα της κεντρικής μέτρησης συγκρίνεται με την αντίστοιχη απορρόφηση σε μια περιοχή θεωρητικά μηδενικής συγκέντρωσης χρωστικής, κατά σύμβαση πέρα από τις 6° . Η διαφορά αυτή μας δίνει τελικά ποσοτικοποιημένη τη χρωστική της ωχράς: $MPOD = k \log (L_{c470}/L_{p470})$.

Στην περίπτωση της οπτικής πυκνότητας της χρωστικής της ωχράς δηλαδή καταφέρνουμε να ποσοτικοποιήσουμε τα καρτενοειδή του αμφιβληστροειδή αναφορικά με το ποσό της «μπλε» ακτινοβολίας που απορροφούν.

2.1.3 Καθορισμός τελικού σημείου¹⁴³

Η διαφορά της καινούριας τεχνικής αφορά στον προσδιορισμό του τελικού σημείου. Αυτό σημαίνει ότι ενώ στην καθιερωμένη τεχνική ο εξεταζόμενος ελαχιστοποιεί flicker σταθερής συχνότητας μεταβάλλοντας την ένταση του ενός από τα δύο μήκη κύματος, στο QuantifEYE η συχνότητα εναλλαγής μειώνεται σταδιακά και ο εξεταζόμενος ανταποκρίνεται στην εμφάνισή της πατώντας ένα κουμπί. Παρακάτω φαίνεται σχηματικά αυτή η διαφορά.



Σχήμα 4: Παριστάνεται η διαφορά στον καθορισμό του τελικού σημείου.

(α) Η μέση φωτεινότητα παραμένει η ίδια καθώς το πράσινο μειώνεται και το μπλε αυξάνει

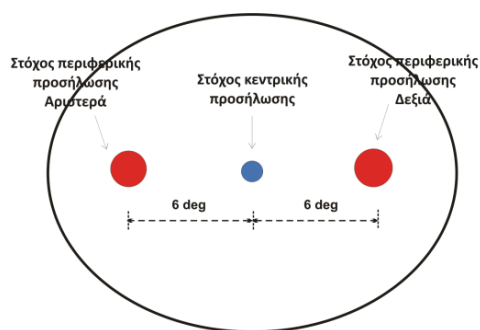
(β) Στο QuantifEYE, σ' ένα λευκό υπόστρωμα, του οποίου η φωτεινότητα μπορεί να αλλάζει χωρίς να επηρεάζεται ο λόγος των φωτεινοτήτων του πράσινου-μπλε ερεθίσματος, ο λόγος των εντάσεων αλλάζει. Αρχικά, η ένταση του πράσινου είναι μεγαλύτερη, κάποια στιγμή εξισώνεται και μετά ο λόγος αναστρέφεται με την ένταση για το μπλε να γίνεται μεγαλύτερη από το πράσινο.

(γ) Στην καθιερωμένη τεχνική της HFP, η συχνότητα εναλλαγής είναι σταθερή και ο εξεταζόμενος μεταβάλλει την ένταση του μπλε μέχρι να την εξαφανίσει ή να την ελαχιστοποιήσει.

(δ) Στη χρησιμοποιούμενη τεχνική, ο ρυθμός εναλλαγής μειώνεται μέχρι το flicker να γίνει αντιληπτό, οπότε ο εξεταζόμενος πατά ένα κουμπί απόκρισης.

2.1.4 Χαρακτηριστικά ερεθίσματος

Οι δίοδοι φωτοεκπομπής που αποτελούν την φωτεινή πηγή του QuantifEYE εκπέμπουν στα 465nm (εύρος 25nm)-μπλε- και 530nm (εύρος 30nm) –πράσινο- και εναλλάσσονται σε αντίθεση φάσης πάνω σε ομοιογενές λευκό υπόστρωμα. Ο στόχος προσήλωσης για την κεντρική μέτρηση έχει μέγεθος 1° και περιβάλλεται από μια ομοιογενώς φωτισμένη λευκή περιοχή έκτασης 30 μοιρών περίπου φωτεινότητας 250cd/m^2 . Εκατέρωθεν του κεντρικού στόχου, στις 8 μοίρες εκκεντρότητας οριζόντια βρίσκονται δύο κόκκινοι στόχοι μεγέθους $1,75^\circ$, για την προσήλωση κατά την περιφερική μέτρηση.



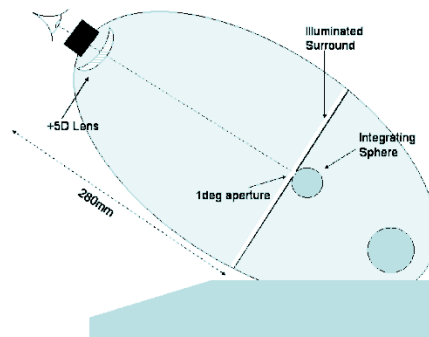
Εικ. 14: Όπως φαίνεται η οθόνη παρατήρησης του QuantifEYE. Κεντρικά, στόχος μιας μοίρας, όπου εναλλάσσονται τα δύο LEDs και περιφερικά μεγαλύτεροι κυκλικοί σταθεροί στόχοι.

Το λευκό φως του περιβάλλοντος παράγεται από 3 LEDs λευκού φωτός θερμοκρασίας 5500 K, και με τον ίδιο τρόπο παράγεται και το φως του υποστρώματος του στόχου, η φωτεινότητα του οποίου μπορεί επιπλέον να μεταβάλλεται χωρίς να επηρεάζει το λόγο φωτεινότητας μπλε-πράσινο του στόχου.

Η μεγάλη ένταση της περιβάλλουσας το στόχο φωτεινότητας ελαχιστοποιεί την επίδραση του μεγέθους της κόρης ώστε να προκύπτει σταθερός φωτισμός του αμφιβληστροειδή ανεξάρτητα από την ηλικία του εξεταζόμενου¹²³.

Υπό τις συνθήκες αυτές, με υψηλό flicker (>15Hz) και μεγάλη φωτεινότητα στον αμφιβληστροειδή (>1000td) η ανίχνευση του flicker κυριαρχείται από την αχρωματική επεξεργασία των L/M κωνίων, μέσω της magno-cellular οδού, ενώ ταυτόχρονα κάθε δραστηριότητα των S-κωνίων και των ραβδίων καταστέλλεται.

Ο στόχος παρατηρείται από απόσταση 200mm, μέσα από ένα φακό μηνίσκο δύναμης +5 D τοποθετημένο στα 180mm από το επίπεδο του στόχου.



Εικ. 15: Το QuantifEYE σε οβελιαία διατομή. Από μια οπή παρατήρησης, ο εξεταζόμενος παρατηρεί το στόχο σε απόσταση 200mm με την παρεμβολή μηνίσκου φακού δύναμης +5D στα 180mm από το στόχο.

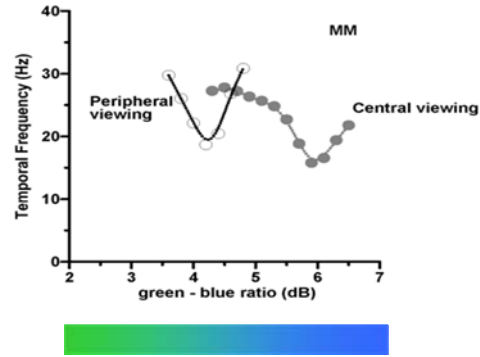
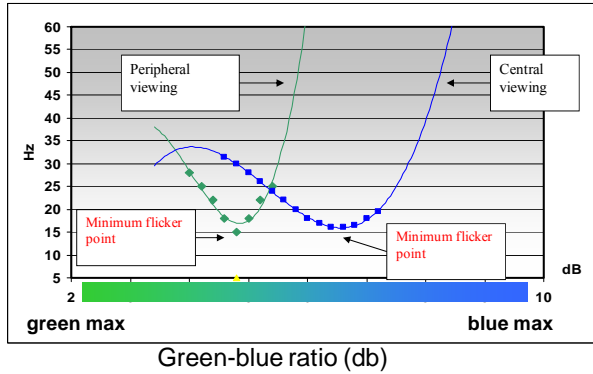
2.2 Διαδικασία μέτρησης

Αναλυτικότερα, πριν την κυρίως δοκιμασία, προηγείται μια σύντομη (περίπου 30 sec) εξέταση προσδιορισμού του εύρους φωτεινής ευαισθησίας του εξεταζόμενου, όπου τόσο η φωτεινότητα του υποστρώματος όσο και ο λόγος των φωτεινοτήτων μπλε-πράσινου παραμένουν σταθερές, σε προκαθορισμένες τιμές.

Με τις πρώτες 5 μετρήσεις καθορίζεται η φωτεινότητα του υποστρώματος για την κυρίως δοκιμασία, έτσι ώστε το εύρος των συχνοτήτων των αποκρίσεων να ξεκινά γύρω στα 30 Hz και να παρουσιάζει ελάχιστο κοντά στα 15 Hz. Ο λόγος των φωτεινοτήτων μπλε-πράσινο L_r ξεκινά με την ένταση του πράσινου μεγαλύτερη από του μπλε. Ο αρχικός ρυθμός εναλλαγής μπλε-πράσινο ξεκινά από τα 60 Hz (το ερέθισμα δε γίνεται αντιληπτό από τον παρατηρητή) και μειώνεται με ρυθμό 6 Hz ανά sec, μέχρι να γίνει αντιληπτό το flicker από τον παρατηρητή. Τότε, αυτός πατά ένα κουμπί απόκρισης και ξεκινά η επόμενη μέτρηση, πάλι από τα 60Hz αλλά με το λόγο των φωτεινοτήτων να έχει αλλάξει κατά 0,2 db, με το μπλε να έχει αυξηθεί και το πράσινο μειωθεί (η μέση φωτεινότητα μένει σταθερή). Όταν ο εξεταζόμενος αντιληφθεί το flicker πατά και πάλι το κουμπί απόκρισης. Αυτό επαναλαμβάνεται για μια σειρά από λόγους φωτεινοτήτων μπλε-πράσινο μέχρι να σχηματιστεί μια V-καμπύλη. Το ελάχιστο αντιστοιχεί στην εξίσωση των φωτεινοτήτων των δύο ακτινοβολιών.

Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για τις μετρήσεις περιφερικής παρατήρησης, η οποία πραγματοποιείται σε περίπου 7° εκκεντρότητα και με παρόμοιο τρόπο παίρνουμε μια δεύτερη V-καμπύλη. Το ελάχιστο αυτής της καμπύλης αντιστοιχεί επίσης στο λόγο ίσων εντάσεων. Στα παρακάτω σχήματα φαίνονται, αριστερά σχηματικά και δεξιά από πραγματική μέτρηση, οι σχηματιζόμενες V-καμπύλες. Ο κάθετος άξονας είναι η συχνότητα εναλλαγής φωτεινότητας σε Hz και ο οριζόντιος είναι ο λόγος L_r (ως προς την φωτεινότητα του πράσινου LED, $L_1 : L_r = 10^{-2} \times L_1$) σε db.

Η γραμμή προσαρμογής στα δεδομένα προκύπτει από τη μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων μιας πολυωνυμικής εξίσωσης τρίτου βαθμού. Ας σημειωθεί ότι η τιμή 0 για την MPOD έχει προκαθοριστεί να αντιστοιχεί στα 4db.



Διάγραμμα 2: Αριστερά σχηματικά και δεξιά κατά την πραγματική διαδικασία, οι καμπύλες που σχηματίζονται κατά την κεντρική και περιφερική μέτρηση. Αν δεν υπήρχε η χρωστική, οι δύο καμπύλες θα συνέπιπταν με την προϋπόθεση της ομοιογενώς ίσης φωτεινής ευαισθησίας του αμφιβληστροειδή. Η διαφορά μεταξύ των δύο ελαχίστων αντιστοιχεί στην απορρόφηση της χρωστικής της ωχράς, η οποία και υπολογίζεται τελικά ως MPOD.

2.3 Υπολογισμός της MPOD

Στο σχήμα, τα δύο ελάχιστα προκύπτουν για διαφορετικούς λόγους εντάσεων μπλε-πράσινου, γιατί η χρωστική της ωχράς απορροφά μόνο το μπλε μήκος κύματος. Αν δεν υπήρχε η χρωστική, οι δύο καμπύλες θα ταυτίζονταν, με δεδομένη τη σταθερή φωτεινή ευαισθησία του αμφιβληστροειδή σε όλη του την έκταση. Η MPOD υπολογίζεται, με την προϋπόθεση ότι όλο το ανιχνεύσιμο φως απορροφάται από τη χρωστική και ότι η MPOD είναι μηδενική στην περιοχή εκκεντρότητας (περίπου 8°) που μετράται, σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$MPOD = k \log_{10} (L_{bc}/L_{gc}) - k \log_{10} (L_{bp}/L_{gp}) = k \log_{10} (L_{bc}/L_{gc}) (L_{gp}/L_{bp}),$$

και επειδή θεωρούμε πως $L_{gc} = L_{gp}$, τελικά

$$MPOD = k \log_{10} (L_{bc}/L_{bp})$$

L_{bc} και L_{bp} είναι οι εντάσεις φωτεινότητας του μπλε στο ελάχιστο της καμπύλης της κεντρικής και περιφερικής μέτρησης αντίστοιχα και L_{gc} και L_{gp} οι αντίστοιχες εντάσεις φωτεινότητας του πράσινου.

Το k είναι μια σταθερά που ισούται με 1,2 και εισάγεται για να αντισταθμίσει :

- 1) Την επικάλυψη του φάσματος του πράσινου μήκους κύματος με το φάσμα απορρόφησης της χρωστικής
- 2) Την επικάλυψη των φασμάτων του μπλε και πράσινου LED και
- 3) Το γεγονός ότι το λ_{max} του μπλε LED δε συμπίπτει απόλυτα με αυτό της μέγιστης απορρόφησης από τη χρωστική, όπως καθορίστηκαν από τους Wyszecki και Stiles (1982)¹¹⁹.

3 Στατιστική ανάλυση

Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν μονομετάβλητες αναλύσεις (univariate analysis) για τη σύγκριση των δημογραφικών στοιχείων μεταξύ των ομάδων.

Χρησιμοποιήθηκε One way aNOVa για τη σύγκριση των μέσων ηλικιών και ο έλεγχος χ^2 του Pearson για το φύλο.

Έπειτα εφαρμόστηκαν μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης (Γενικευμένα Μοντέλα Γραμμικής Παλινδρόμησης, generalized linear models with an identity link), για τη σύγκριση της MPOD μεταξύ των ομάδων και την επίδραση της ηλικίας και του φύλου στα αποτελέσματά μας. Η προσαρμογή των μοντέλων ελέγχθηκε με τη χρήση των τυποποιημένων υπολειπόμενων ποσοτήτων (standardized residuals).

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων που αποκομίστηκαν έγινε με το πρόγραμμα SPSS Statistics 15.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois USA).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Πληθυσμός της μελέτης

Μετρήθηκαν συνολικά 102 άτομα, 52 γυναίκες και 50 άντρες, ηλικίας 72 ετών κατά μέσο όρο (ΤΑ: 6,49), σχηματίζοντας τρεις ομάδες εξεταζομένων.

1.1 Δημογραφική κατανομή του πληθυσμού της μελέτης.

Η ομάδα των ασθενών με την ετερόπλευρη υγρή AMD (ομάδα 1) αποτελούνταν από 34 άτομα, 21 γυναίκες (61,8%) και 13 άντρες (38,2%), με μέσο όρο ηλικίας τα 74 έτη (ΤΑ: 6,35). Η ομάδα των ασθενών με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου (2), για σύγκριση με την ομάδα των ασθενών και με την ομάδα ελέγχου των υγιών ατόμων. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 71 έτη (ΤΑ: 6,66) και η ομάδα αποτελούνταν από 33 εξεταζόμενους, 17 (51,5%) γυναίκες και 16 (48,5%) άντρες. Η ομάδα των υγιών ατόμων που χρησιμοποιήθηκε σαν ομάδα ελέγχου στη μελέτη, αποτελούνταν από 35 άτομα, 21 (60%) άντρες και 14 (40%) γυναίκες, με μέσο όρο ηλικίας τα 71 έτη (ΤΑ: 6,18). Η μέση ηλικία δεν διέφερε μεταξύ των τριών ομάδων ($p=0,105$). Η κατανομή των δύο φύλων δε διέφερε επίσης μεταξύ των ομάδων ($p=0,194$)

	Ομάδα 0: Υγιείς (n=35)	Ομάδα 2: Ασθενείς με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD (ελέγχου) (n=33)	Ομάδα 1: Ασθενείς με ετερόπλευρη υγρή AMD (μελέτης) (n=34)	p-value	
Φύλο	Άντρες Γυναίκες	21 (60%) 14 (40%)	16 (49%) 17 (51%)	13 (38%) 21 (62%)	0,194 (χ^2 Pearson's=3,28(df=2))
Μέσος όρος ηλικίας (έτη) (TA)	71 (6,18)	71 (6,66)	74 (6,35)	0,105 (One way ANOVA(df=2)	
Κάπνισμα¹	CS NS PS			4 (12%) 23 (68%) 7 (20%)	
Χρώμα ίριδας¹ σκούρο				27 (79%) 7 (21%)	
ανοικτό					
ΔΜΣ¹	<25 25-30 >30			7 (21%) 18 (53%) 10 (26%)	
¹ Η πληροφορία υπήρχε μόνο για την ομάδα 1 (CS: καπνιστές, PS: πρώην καπνιστές, NS: δεν κάπνισαν ποτέ) , ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m ²)					

Πίνακας 2: Δημογραφική κατανομή των εξεταζόμενων της μελέτης και καταγεγραμμένων χαρακτηριστικών της ομάδας μελέτης.

Όπως προείπαμε, για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης (Generalized Linear Model, GLM with an identity link function). Αρχικά, έγινε η σύγκριση των τιμών της MPOD μεταξύ των τριών ομάδων χωρίς την επίδραση επιμέρους παραγόντων (Model 1). Στη συνέχεια, ελέγχθηκαν και εισήχθησαν οι παράγοντες ηλικία και φύλο (Model 2).

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΜΡΟD

2.1 ΜΡΟD ΣΥΝΟΛΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Καταρχήν, η χρωστική της ωχράς, *συνολικά* στους 102 εξεταζόμενους, ασθενείς και υγιείς, ηλικίας 55 ως 88 ετών, βρέθηκε ίση με 0,52 (CI 95% 0,49-0,55). Να θυμίσουμε εδώ ότι πρόκειται για μέγεθος χωρίς μονάδες και εκφράζει ποσοτικά την απορρόφηση του μπλε LED από την χρωστική της ωχράς.

2.2 ΜΡΟD ανά ομάδα εξεταζομένων και σύγκριση μεταξύ των ομάδων (μοντέλο παλινδρόμησης)

Παρατηρώντας τα επίπεδα της ΜΡΟD σε κάθε ομάδα και συγκρίνοντάς τα μεταξύ των ομάδων, κάναμε τις εξής παρατηρήσεις.

2.2.1 ΜΡΟD ανά ομάδα εξεταζομένων

Ομάδας μελέτης (1)

Η μέση ΜΡΟD των υπό μελέτη ασθενών βρέθηκε ίση με 0,58 (CI95%: 0,53-0,63).

Ομάδα ελέγχου ασθενών (2).

Η μέση ΜΡΟD των ασθενών με αμφοτερόπλευρη ξηρή Ηλικιακή Εκφύλιση της Ωχράς κηλίδας βρέθηκε ίση με 0,48 (CI95%: 0,43-0,53).

Ομάδα ελέγχου-υγιείς (0).

Η μέση MPOD των εξεταζομένων, παρόμοιου ηλικιακού εύρους, χωρίς ευρήματα ΗΕΩ, βρέθηκε ίση με 0,5 (CI95%: 0,45-0,55).

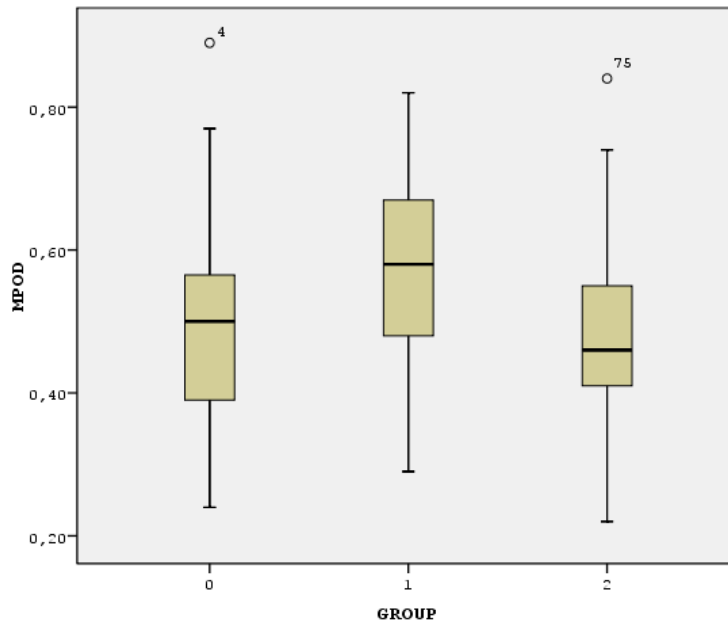
ΟΜΑΔΑ	MPOD	CI 95%
0 (υγιείς)	0,5	0,45-0,55
1 (ασθενείς)	0,58	0,53-0,63
2 (ασθενείς-ελέγχου)	0,48	0,43-0,53

Πίνακας 4: Μέσοι όροι MPOD και διαστήματα εμπιστοσύνης 95% των ομάδων των εξεταζομένων .

2.2.2 Σύγκριση MPOD μεταξύ των ομάδων (GLM)

Συνολικά, φάνηκε ότι υπάρχει κάποια διαφορά στην MPOD μεταξύ των τριών ομάδων (Wald's $\chi^2 = 6,623$ (df=2), $p=0,045$). Ωστόσο η διαφορές δεν εμφανίστηκαν όπως ήταν αναμενόμενες.

Η MPOD δε φάνηκε να είναι λιγότερη στον οφθαλμό με την ξηρή ωχροπάθεια των ασθενών με ετερόπλευρη υγρή ΗΕΩ (group 1), όπως υποθέσαμε αρχικά, συγκρινόμενη με αυτήν υγιών ατόμων της ίδιας ηλικίας (group 0) και ασθενών με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD (group 2).



Boxplot 1: Στο διάγραμμα πλαισίου, η έντονη γραμμή μέσα στο πλαίσιο επιδεικνύει τη διάμεσο. Το κάτω όριο του είναι το 1^ο τεταρτημόριο (Q1, η τιμή που “κόβει” το πρώτο τέταρτο της κατανομής), το άνω όριο του πλαισίου το 3^ο τεταρτημόριο (Q3, η τιμή που “κόβει” το μεγαλύτερο τέταρτο της κατανομής), η παράλληλη στο τέλος του άνω μίσχου είναι η μεγαλύτερη τιμή η οποία είναι μικρότερη ή ίση με 1,5 φορά το IQR(Q3-Q1, ενδοτεταρτημοριακό εύρος) από την άνω πλευρά του κορμού.

° :οι ‘απομακρυσμένες τιμές’ (outliers) 1,5 με 3IQR από την άνω πλευρά.

Φαίνεται συνεπώς ότι η MPOD των ασθενών της μελέτης **(1)** βρίσκεται περισσότερη από αυτή των υγιών **(0)** και περισσότερη από τους ασθενείς με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD **(2)**.

Όχι μόνο η MPOD δε βρέθηκε λιγότερη στους ασθενείς αυτούς, αλλά αντιθέτως βρέθηκε αυξημένη σε σχέση και με τις δύο ομάδες ελέγχου. Αν και η διαφορά μεταξύ των υγιών και των ασθενών δεν αποδείχτηκε στατιστικά σημαντική κατά την εισαγωγή στο μοντέλο των παραγόντων ηλικία και φύλο, ωστόσο η αρχική μας υπόθεση δεν αποδείχτηκε, γεγονός που αποτελεί εξίσου σημαντικό εύρημα για την ομάδα αυτή των ασθενών. Η διαφορά μεταξύ ασθενών μελέτης και ασθενών ελέγχου ήταν στατιστικά σημαντική και στις δύο περιπτώσεις και αποτελεί εξαιρετικά σημαντικό εύρημα επίσης. Οι ανευρισκόμενες διαφορές και τα επίπεδα σημαντικότητας παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 5, όπου καταγράφονται οι

συντελεστές του μοντέλου της παλινδρόμησης και το ποιες και πώς αυτές μεταβάλλονται κατά την εισαγωγή στο μοντέλο των παραγόντων ηλικία και φύλο. Επιπλέον σημειώνεται για κάθε φορά (πριν και μετά την εισαγωγή ηλικίας-φύλου), σε διαφορετική στήλη, το επίπεδο σημαντικότητας (p value) κάθε συντελεστή των μεταβλητών του μοντέλου καθώς και το διάστημα εμπιστοσύνης (confidence interval) για κάθε ένας από αυτούς.

Να σημειωθεί εδώ ότι κατά την εφαρμογή της παλινδρόμησης, για τη σύγκριση της MPOD της ομάδας μελέτης μας και των υγιών ατόμων παρόμοιου ηλικιακού εύρους, ο συντελεστής της MPOD άλλαζε και η στατιστική σημαντικότητα χανόταν όταν εισήγαμε στο μοντέλο τις μεταβλητές «ηλικία» και «φύλο». Δεν είναι απίθανος, λοιπόν, ο ρόλος τους ως συγχυτικών παραγόντων (confounding factors), μια και το ίδιο συνέβαινε και κατά τη σύγκριση των ασθενών μας με τα άτομα με την αμφοτερόπλευρη ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας. Μόνο που στην τελευταία περίπτωση, παρόλο που άλλαζαν οι συντελεστές της εξίσωσης της MPOD, αλλά και η τιμή p , ο τελευταίος δεν έπαυε να παραμένει σε επίπεδα που φανέρωναν τη σημαντικότητα της ευρισκόμενης διαφοράς. Τα παραπάνω συνοψίζονται στον πίνακα 5.

	B-Model 1	Hypothesis Test- Model 1 (p value)	95% Wald Confidence Interval (Model 1)		B-Model 2	Hypothesis Test- Model 2 (p value)	95% Wald Confidence Interval (Model 2)	
			Lower	Upper			Lower	Upper
			Intercept	0.559			<0.0001	0.478
Group ¹		0,012				0,045		
0-1	-0.076	0.022	-0.142	-0.011	-0.059	0.08	-0.125	0.007
0-2	0.018	0.585	-0.048	0.084	0.024	0.477	-0.042	0.089
2-1	-0.095	0.005	-0.161	-0.028	-0.083	0.015	-0.150	-0.016

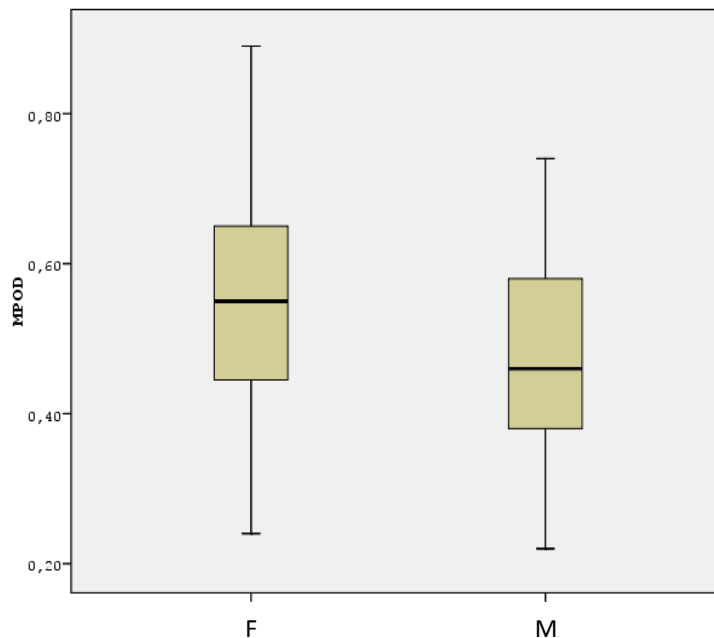
¹ Η σύγκριση μεταξύ και των τριών ομάδων έδωσε για το Model 1 το Wald's χ^2 ίσο με 8,842 (με 2 βαθμούς ελευθερίας, df) και για το Model 2 το Wald's χ^2 ίσο με 6,623 (2 df)

Πίνακας 5: Οι σταθερές του εφαρμοζόμενου μοντέλου, πριν και μετά την εισαγωγή των παραγόντων ηλικία και φύλο. **0-1:** Σύγκριση ομάδας ελέγχου με υπό μελέτη ομάδας ασθενών. Το αρνητικό πρόσημο σημαίνει ότι η πρώτη βρέθηκε με χαμηλότερα επίπεδα MPOD από τη δεύτερη. **0-2 :** Σύγκριση ομάδας ελέγχου με ασθενείς με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD, **2-1:** Σύγκριση σθενών με ετερόπλευρη υγρή AMD με αυτούς με αμφοτερόπλευρη ξηρή AMD. B: συντελεστής σταθεράς παλινδρόμησης (intercept), Model 1: μοντέλο παλινδρόμησης πριν την εισαγωγή ηλικίας- φύλου, Model 2: μοντέλο παλινδρόμησης μετ την εισαγωγή των 2 παραγόντων. Καταγράφονται οι τιμές p (p value) και το διάστημα εμπιστοσύνης 95% (confidence interval) κάθε φορά

2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΛΛΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ (ΗΛΙΚΙΑ, ΦΥΛΟ)

Αναλύοντας τις σχέσεις και για τις υπόλοιπες μεταβλητές του μοντέλου που εφαρμόσαμε, παρατηρούμε ότι η *MPOD* δε φαίνεται να επηρεάζεται από την ηλικία ($B=0,001$, $p= 0,518$).

Αντίθετα, το φύλο φαίνεται να έχει κάποια επίδραση στην τιμή της *MPOD*. Συγκεκριμένα, οι γυναίκες εμφανίζονται να έχουν ελαφρώς αλλά στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη *MPOD* από τους άντρες ($\beta=0,06$, $MPOD_F= 0,55$ vs $MPOD_M=0,49$, $p= 0,029$), λαμβάνοντας υπόψη τους άλλους παράγοντες στο μοντέλο. Αν και η διαφορά που ανιχνεύεται είναι πολύ μικρή, είναι πάντοτε παρούσα και ανεπηρέαστη από την επίδραση του πιθανού συγχυτικού παράγοντα της ηλικίας.



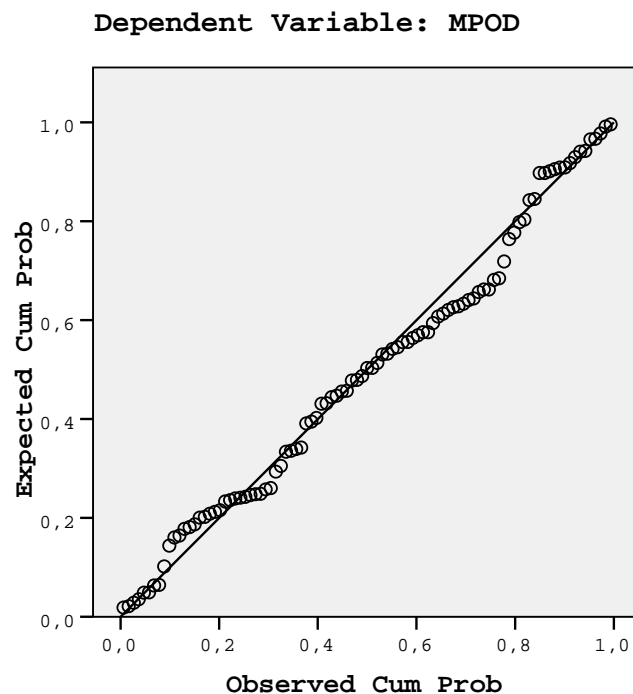
Boxplot 2: F για γυναίκες, M για άντρες. Η *MPOD* των γυναικών ανευρίσκεται ελαφρώς αλλά σταθερά περισσότερη από των αντρών, συνολικά σε όλες τις ομάδες.

Δε βρέθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των μεταβλητών του μοντέλου ηλικία και φύλο.

3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΘΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ Model fitting, αλληλεπιδράσεις, διακύμανση.

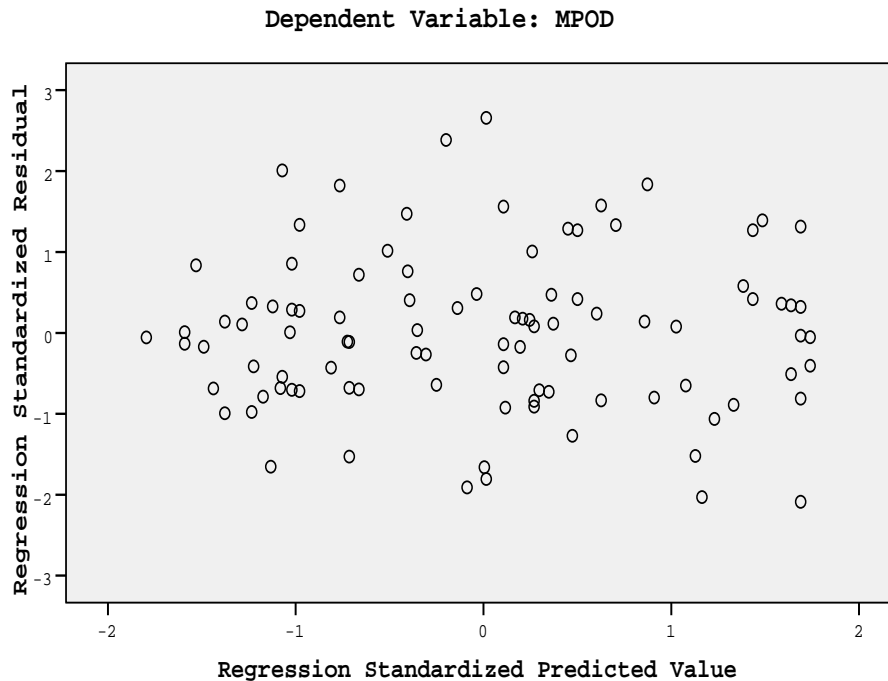
Τελικά, να σημειωθεί ότι πριν την εξαγωγή των αποτελεσμάτων, ελέγχθηκε η ορθότητα του μοντέλου μας.

Στο πρώτο διάγραμμα φαίνεται ότι οι προβλεπόμενες από το μοντέλο μας τιμές είναι πολύ κοντά στις παρατηρούμενες καθώς επίσης ότι οι υπολειμματικές τιμές είναι μικρές (<3, φαίνεται καλύτερα και στα επόμενα διαγράμματα).



Διάγραμμα 1: Normal P-P Plot of Regression Standardized Residual

Επιπλέον, η διακύμανση των τιμών εμφανίζεται σταθερή όπως διακρίνεται στο δεύτερο διάγραμμα.



Διάγραμμα 2: Διάγραμμα διασποράς των υπολειπόμενων ποσοτήτων (άξονας Y) και προσαρμοσμένων τιμών (άξονας X).

Τα παραπάνω επιβεβαιώνουν την ορθότητα της εφαρμογής του μοντέλου που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση.

Όταν ωστόσο προσπαθεί κανείς να ελέγξει το κατά πόσο η παρατηρούμενη διακύμανση στην τιμή της οπτικής πυκνότητας της χρωστικής της ωχράς μπορεί να εξηγηθεί από το μοντέλο μας, μόνο με την εισαγωγή των δύο αυτών παραγόντων, τότε παρατηρεί ότι δεν εξηγείται σε μεγάλο βαθμό από αυτό ($R^2=0,125$).

Ας επισημάνουμε όμως στο σημείο αυτό ότι στο μοντέλο εισήχθησαν μόνο δύο από τους πλείστους παράγοντες που φαίνεται ότι επηρεάζουν τις τιμές της MPOD, η ηλικία και το φύλο. Η αδυναμία χρήσης στο μοντέλο της παλινδρόμησης παραγόντων όπως η διατροφή και το κάπνισμα μπορεί να δικαιολογήσει την ευρισκόμενη χαμηλή τιμή του R^2 , χωρίς αυτό να μας εμποδίζει τελικά να χρησιμοποιήσουμε με ασφάλεια τα αποτελέσματα του μοντέλου μας.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η MPOD στον πληθυσμό της μελέτης μας συνολικά βρέθηκε ίση με 0,52, τιμή αρκετά υψηλή αν λάβει κανείς υπόψη τα ακόλουθα:

I. Σε αντίστοιχες μελέτες σε άλλες χώρες της Ευρώπης και της Αμερικής, η μέση MPOD σε ηλικιωμένο αλλά και σε νέο πληθυσμό, όταν μετράται με την τεχνική της HFP δίνει χαμηλότερες τιμές. Ενδεικτικά, το 2000, σε μια μελέτη σε κάποιο βορειοευρωπαϊκό πληθυσμό, οι Beatty et al⁷⁸ βρήκαν την μέση MPOD 46 ατόμων (21-81 ετών) μετρημένη με HFP ίση με 0.289 (± 0.156) και την ίδια χρονιά οι Hammond et al σε έναν πληθυσμό 216 ατόμων (17-92 ετών) της νοτιοδυτικής Αμερικής ίση με 0.22 (± 0.13), ενώ οι Nolan et al⁷⁶ το 2007 μέτρησαν την MPOD ψυχοφυσικά με HFP σε 828 Ιρλανδούς (20-60) και (εκτός των υπολοίπων ευρημάτων τους) βρήκαν τη μέση MPOD ίση με 0,299 \pm 0,169.

II. Η μελέτη μας συμπεριλάμβανε και ασθενείς με ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας, δηλαδή επιβαρυσμένους αμφιβληστροειδείς από άποψη οξειδωτικού φορτίου, για τους οποίους τα ευρήματα σ' ότι αφορά τα επίπεδα της χρωστικής ποικίλλουν, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.

Πράγματι, τα επίπεδα της χρωστικής που μετρήσαμε είναι αξιοσημείωτα υψηλά. Η αυξημένη τιμή της MPOD στον ηλικιωμένο πληθυσμό της Κρήτης (κατά κύριο λόγο) είναι κάτι που δεν μπορεί να εξηγηθεί εύκολα. Ας σημειωθεί ότι κανείς από τους εξεταζόμενους μας δεν έπαιρνε διατροφικά συμπληρώματα με λουτεΐνη, ζεαξανθίνη ή μεσοζεαξανθίνη. Η μεσογειακή δίαιτα, που ακολουθούν οι περισσότεροι από τους ηλικιωμένους της μελέτης μας, είναι πλούσια σε φρούτα και λαχανικά με υψηλή περιεκτικότητα στα καροτενοειδή της χρωστικής (χόρτα και άλλα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, πορτοκάλια και πολλά άλλα πλούσια σε λουτεΐνη και ζεαξανθίνη φρούτα). Παρόλο που δεν ισχύει πάντα αυτό, μπορεί η διατροφή να εξηγήσει εν μέρει τα ευρήματα. Ωστόσο αυτό από μόνο του δεν είναι αρκετό, μια και τόσο η κατανάλωση λιπαρών τροφών, όπως το κρέας και τα λιπαρά τυριά είναι αυξημένη, ενώ παράλληλα οι

περισσότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα της χρωστικής είναι εναντίον. Αυξημένο σωματικό λίπος^{72,73} και αυξημένη έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία¹⁴⁵ χαρακτηρίζει την πλειοψηφία των ανθρώπων αυτών. Από την άλλη πλευρά, δεν μπορεί κανείς να μιλήσει για την επίδραση του χρώματος της ίριδας μια και δεν υπάρχει συγκεκριμένη τάση. Αν και ο κρητικός πληθυσμός έχει υψηλά επίπεδα μελανίνης στο δέρμα, οι οφθαλμοί τους δεν εμφανίζουν αντιστοιχία στο χαρακτηριστικό αυτό, εμφανίζοντας ποικιλία στο χρώμα της ίριδας τους. Ας σημειωθεί επίσης ότι, τουλάχιστον από τους ασθενείς, η πλειοψηφία τους δεν καπνίζει, γεγονός που πιθανά συμβάλλει στην εμφάνιση μεγάλης MPOD αν και ούτε αυτή η παράμετρος μπορεί να δικαιολογήσει πλήρως τα ευρήματά μας. Πάντοτε το αποτέλεσμα της MPOD είναι πολυπαραγοντικό. Δεν αποκλείεται να παίζουν ρόλο και γενετικοί παράγοντες όπως αυτοί που καθορίζουν την πυκνότητα των πρωτεϊνών σύνδεσης των ξανθοφυλλών (xanthophylls binding proteins, XBPs) στον αμφιβληστροειδή. Μια μελέτη σε διδύμους υπέδειξε την ύπαρξη γενετικού υποβάθρου στα επίπεδα της χρωστικής¹⁴⁶. Σ' αυτήν μετρήθηκε η MPOD με ένα ψυχοφυσικό (HFP) και έναν φυσικό (FAF, Fundus autofluorescence) σε 120 ζευγάρια θηλυκών διδύμων, 64 ομοζυγωτικών και 54 ετεροζυγωτικών. Βρέθηκε ότι η διακύμανση λόγω κληρονομικότητας στην HFP μέθοδο ήταν 0,64 και στην FAF 0,84 (το υπόλοιπο αποδόθηκε σε περιβαλλοντικούς παράγοντες), γεγονός που ενισχύει την υπόθεση για ύπαρξη γενετικού παράγοντα στη συσσώρευση χρωστικής στην ωχρά κηλίδα. Δεν αποκλείεται η συγκέντρωση των XBPs να επηρεάζει και με τον τρόπο αυτό τα επίπεδα της MPOD.

Από τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων προέκυψαν διαφορές, τελείως αντίθετες από τις αναμενόμενες βάσει της αρχικής μας υπόθεσης. Όπως εξηγήθηκε και παραπάνω, η αρχική μας υπόθεση ήταν ότι ανεξαρτήτως επιμέρους ευεργετικών ή επιβαρυντικών παραγόντων, η χρωστική της ωχράς των ασθενών αυτών βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα. Μετά από τη μέτρηση 34 ασθενών, όχι μόνο δεν ανευρεθεί κάτι τέτοιο, αλλά ακριβώς το αντίθετο. Δηλαδή αν και δεν άγγιζε τα όρια της σημαντικότητας οι ασθενείς της μελέτης μας βρέθηκε να έχουν υψηλότερα επίπεδα MPOD από τα 35 υγιή άτομα που μετρήθηκαν.

Να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει μέχρι τώρα κάποια μελέτη που να έχει διερευνήσει τα μάτια με προχωρημένη νόσο, όπως αυτά που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη μας. Αυτό δεν προκαλεί έκπληξη, μια και τα μάτια με εξιδρωματική AMD δεν μπορούν συνήθως να εστιάσουν, λόγω της χαμηλής οπτικής οξύτητας (από τη διαταραχή της αρχιτεκτονικής και της φυσιολογικής λειτουργίας της ωχράς) και επομένως να εκτελέσουν ψυχοφυσικές δοκιμασίες όπως η HFP. Παρόλ'αυτά, δεν είχε μετρηθεί μέχρι τώρα ούτε ο έτερος οφθαλμός των ασθενών με ετερόπλευρη υγρή AMD, ο οποίος, όταν δεν έχει ήδη προσβληθεί και αυτός από τη υγρή μορφή, παρουσιάζει τις περισσότερες φορές σημεία ξηρής ωχροπάθειας. Μόνο ένας μικρός αριθμός μετρήθηκε από τους Beatty, Murray et al⁷⁸, το 2001. Οι 9 οφθαλμοί που μετρήθηκαν από τους δύο ερευνητές αφενός δεν είχαν παθολογικά ευρήματα AMD (ούτε ξηρής μορφής) στον έτερο οφθαλμό τους και ο αριθμός τους ήταν πολύ μικρός για να γενικεύσει κανείς τα συμπεράσματα από τα ευρήματά τους. Ωστόσο, η MPOD των οφθαλμών αυτών (μετρημένη με την καθιερωμένη τεχνική HFP) είχε βρεθεί σημαντικά λιγότερη από την αντίστοιχη υγιών οφθαλμών {[MPOD (SD) =] 0,147 (0,144) vs 0,289(0,156)}

Τα ευρήματά μας λοιπόν θα μπορούσαν να οδηγήσουν στα ακόλουθα συμπεράσματα. Καταρχάς, στο παρόν δείγμα, οι ασθενείς με ετερόπλευρη υγρή AMD δε φαίνεται να έχουν χαμηλότερη πυκνότητα καροτενοειδών, των ειδικών του αμφιβληστροειδή, λουτεΐνη και ζεαξανθίνη, όπως αυτά ποσοτικοποιούνται ως MPOD, σε σχέση με τους υγιείς αμφιβληστροειδείς της ίδιας ηλικίας. Αυτοί οι ασθενείς ανήκουν σε ομάδα υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη εξιδρωματικής AMD και στον έτερο οφθαλμό τους και το εύρημα αυτό μπορεί ενδεχομένως να έχει ιδιαίτερη σημασία ως προς τις εικασίες για την χρησιμότητα της χρωστικής στην προστασία του αμφιβληστροειδή από την AMD. Παρόλο που το δείγμα μας ήταν αρκετά ετερογενές σ' ότι αφορά τους παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα της MPOD (διατροφικές συνήθειες, κάπνισμα, έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία κλπ), αλλά και τη νόσο (διαφορές στο χρόνο εγκατάστασης και στη βαρύτητα τόσο της ξηρής όσο και της υγρής ωχροπάθειας), τα επίπεδα που ανευρέθηκαν είναι ψηλά όχι μόνο για νοσούντες αμφιβληστροειδείς, αλλά και για υγιείς οποιασδήποτε ηλικίας, όπως σχολιάστηκε παραπάνω.

Παρά τις περιβαλλοντικές επιδράσεις (μη κάπνισμα, μεσογειακή διατροφή) και την όχι απίθανη γενετική προδιάθεση, το γεγονός ότι οι οφθαλμοί αυτοί, οι οποίοι είναι σε τόσο υψηλό ρίσκο για να εμφανίσουν νεοαγγειακή νόσο, παρουσιάζουν επίπεδα χρωστικής όχι μειωμένα σε σχέση με τους υπόλοιπους ηλικιωμένους εξεταζόμενους, ασθενείς ή μη, ενδέχεται να σχετίζεται με κάποια ιδιαιτερότητα στην παθοφυσιολογική διαδικασία της ανάπτυξης υπαμφιβληστροειδικής νεοαγγείωσης. Θα μπορούσε λόγω χάρη κανείς να υποθέσει ότι υπάρχει κάποια διαδικασία η οποία να επιτρέπει την αυξημένη συσσώρευση καροτενοειδών, τα οποία ούτως ή άλλως είναι απαραίτητα σε αυτά τα μάτια και τα οποία όμως δεν καταφέρνουν ή δεν προλαβαίνουν να χρησιμοποιηθούν για να μειώσουν το stress του ιστού. Το 2006, οι Παλλήκαρης και συνεργάτες¹⁴⁷, διαπίστωσαν ότι η οφθαλμική ακαμψία σε οφθαλμούς με νεοαγγειακή νόσο είναι μεγαλύτερη απ' ό,τι σε υγιείς και αμφοτέρως μεγαλύτερες από αυτή οφθαλμών με ξηρή AMD. Θα μπορούσε λοιπόν να υποθέσει κανείς ότι οι αλλαγές στην οφθαλμική ακαμψία, η οποία όπως είναι γνωστό επηρεάζει την αιματική ροή στον οφθαλμό, μπορεί να επηρεάζουν με κάποιον φυσιολογικό μηχανισμό τη συγκέντρωση και των καροτενοειδών, υπόθεση που απαιτεί μελλοντική έρευνα για τη διερεύνησή της.

Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης το εύρημα της σημαντικά μεγαλύτερης MPOD σε σχέση με τα άτομα με αμφοτερόπλευρη ξηρή ωχροπάθεια. Η γενική πεποίθηση για τη σχέση των δύο οντοτήτων είναι ότι πρόκειται για δύο μορφές της ίδιας πάθησης, συνεπώς με κοινή παθοφυσιολογική διεργασία. Δε λείπουν παρόλ' αυτά και διατυπώσεις για το αντίθετο, ότι δηλαδή η παθογένεση του ατροφικού τύπου της AMD μπορεί και να διαφέρει από αυτή του εξιδρωματικού τύπου^{108,109}. Μια τέτοια υπόθεση θα μπορούσε ενδεχομένως να δικαιολογήσει εν μέρει τα ευρήματά μας, με την MPOD να επηρεάζεται διαφορετικά από τις διαφορετικές παθοφυσιολογικές διεργασίες που διαδραματίζονται στην κεντρική περιοχή του αμφιβληστροειδή. Για να τεκμηριωθεί ωστόσο κάτι τέτοιο χρειάζονται μακροχρόνιες προοπτικές μελέτες με συνδυασμένη και στοχευμένη εργαστηριακή και κλινική έρευνα.

Το γεγονός ότι η MPOD των ατόμων με ξηρή AMD βρέθηκε στα ίδια επίπεδα με των υγιών της ίδιας ηλικίας συμφωνεί με αρκετές μελέτες που έχουν γίνει πρόσφατα και χρησιμοποιούν HFP

ή άλλες αντικειμενικές μεθόδους. Οι Berendschot et al⁸⁴ το 2002 σε μια μελέτη που συμπεριέλαβε 435 άτομα δεν βρήκαν σημαντικές διαφορές στην MPOD μεταξύ υγιών οφθαλμών και οφθαλμών με πρώιμη AMD σε άτομα πάνω από 55 ετών , όταν αυτή μετρούνταν με μέθοδο που χρησιμοποιεί την τεχνική της φασματικής αμφιβληστροειδικής ανακλασιμετρίας (spectral fundus reflectance). Το 2004 οι Ciulla et al⁸¹ επίσης δεν βρήκαν διαφορές στα επίπεδα της MPOD μεταξύ υγιών οφθαλμών και οφθαλμών με (μη ξηδρωματική) AMD (και καταρράκτη) εξετάζοντας 390 ηλικιωμένα άτομα με HFP τεχνική. Πιο πρόσφατα ακόμα, οι Alessandro Iannaccone et al¹⁴⁸ το 2007, σε 222 άτομα μετρημένα με HFP, δεν εντόπισαν σύνδεση των επιπέδων MPOD και ξηρής AMD κάτι που επιβεβαίωσε και η CAREDS MP Study Group⁸⁷ (2008) σε 1698 ασθενείς μετρημένους με HFP επίσης αλλά και οι Kanis et al⁸⁶ το 2007 επίσης σε 419 άτομα, με φασματική αμφιβληστροειδική ανακλασιμετρία. Η μείωση της MPOD με την εμφάνιση και την εξέλιξη της AMD έχει από την άλλη πλευρά καταδειχθεί από επίσης αρκετούς ερευνητές. Τόσο σε μεταθανάτιες μετρήσεις σε οφθαλμούς, με HPLC⁷⁹, όσο και με in vivo τεχνικές, κυρίως HFP⁷⁶ έχουν αναδείξει μείωση της MP σε άτομα με ξηρής μορφής AMD όλων των σταδίων. Γι' αυτό και δεν μπορεί να έχει κανείς κατηγορηματική τοποθέτηση για τη σχέση (πρώιμης και ενδιάμεσης) ξηρής AMD και χρωστικής της ωχράς με τα μέχρι τώρα ευρήματα.

Σημαντική στατιστικά βρέθηκε επίσης η διαφορά της MPOD σ' αυτήν την ηλικιακή ομάδα μεταξύ των δύο φύλων, με τις γυναίκες να υπερτερούν ελαφρώς (αλλά σημαντικά). Αυτό έρχεται σε αντίθεση με μελέτες που θέλουν τα επίπεδα της MPOD χαμηλότερα στο γυναικείο φύλο^{69,70}. Ωστόσο, οι Curran-Celentano et al⁷¹ το 2001 βρήκαν επίσης περισσότερη χρωστική σε γυναικείους οφθαλμούς μετρώντας 280 άτομα (17-50 ετών) με ψυχοφυσική μέθοδο (αν και πάλι μικρή σε σχέση με τα δικά μας ευρισκόμενα επίπεδα, 0.21 ± 0.13). Ο αριθμός του δείγματός μας δεν παύει να είναι μικρός για να μας επιτρέψει μεγαλύτερες γενικεύσεις.

Η επίδραση της ηλικίας δεν έγινε εμφανής σε αυτήν την μελέτη. Τα επίπεδα της χρωστικής σε αυτήν την πληθυσμιακή ομάδα δεν μεταβάλλονται με την ηλικία. Η επίδραση της ηλικίας στα επίπεδα της MPOD είναι μια συζήτηση που δεν έχει καταλήξει σε σαφή συμπεράσματα ακόμα.

Μεγάλες μελέτες, με άλλοτε άλλη μεθοδολογία, καταδεικνύουν διαφορετικά αποτελέσματα. Οι Nolan et al⁷⁶ και οι Hammond et al⁶⁹ το 2006 έδειξαν ότι η χρωστική μειώνεται με την ηλικία, ενώ οι Berendshot και Ciulla⁸² το 2005 δεν είχαν καταδείξει καμία σημαντική αλλαγή της MPOD με την ηλικία. Καθώς δεν υπάρχει ακόμα καθιερωμένη τεχνική για την μέτρηση της MPOD, είναι σημαντικό να διερευνούμε πάντοτε τη μεθοδολογία κάθε μελέτης ώστε να κρίνουμε την αντικειμενικότητα των ευρημάτων της.

Ο μικρός αριθμός του δείγματος των ασθενών αποτελεί επιπλέον περιορισμό για τη δύναμη της μελέτης. Είναι όμως σημαντικό να σημειωθεί ότι η ετερόπλευρη υγρή AMD είναι μια όχι συχνή κατάσταση, καθώς η πάθηση, αν και έχει ασύμμετρη προσβολή, θίγει στην πλειονότητα των περιπτώσεων και τα δύο μάτια σε άλλοτε άλλο χρόνο. Οι παλαιότεροι ασθενείς έχουν δηλαδή ήδη προσβεβλημένους και του δύο οφθαλμούς τους με σπάνιες εξαιρέσεις. Η συγκέντρωση μεγάλου δείγματος ασθενών με ετερόπλευρη υγρή ωχροπάθεια είναι χρονοβόρα και απαιτητική ενώ ο επιπολασμός της AMD μικρός (2.3% (95% CI, 1.7%-2.9%) σύμφωνα με τη EUREYE Study¹¹¹ . Γι'αυτό το λόγο πιθανά να μην υπάρχουν και σχετικές αναφορές για τους οφθαλμούς αυτούς,

Επιπροσθέτως, δε μετρήθηκαν τα επίπεδα της λουτεΐνης και της ζεαξανθίνης στο πλάσμα των εξεταζόμενων μας, μέτρηση που θα μπορούσε να προσφέρει χρήσιμη πληροφορία σχετικά με τη διαθεσιμότητά τους στο σώμα.

Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι για την μέτρηση της MPOD, κάθε εργαστήριο χρησιμοποιεί διαφορετική μεθοδολογία, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει ακόμα ένα κοινώς αποδεκτό εύρος φυσιολογικών τιμών ούτε κοινό έγκυρο πρωτόκολλο, παρόλο που οι τεχνικές είναι συγκεκριμένες (ψυχοφυσικές ή φυσικές). Η τεχνική της HFP του QuantifEYE έχει αποδειχθεί ικανή να αποδώσει τα επίπεδα της οπτικής πυκνότητας της χρωστικής της ωχράς σε ευρεία κλίμακα¹⁴³ . Η νέα συσκευή είναι εύκολη στη λειτουργία της. Παρέχει γρήγορους, αξιόπιστους και αναπαραγωγίσιμους υπολογισμούς της MPOD. Αυτοί είναι στατιστικά επαναλήψιμοι, συσχετίζονται καλά με μια καθιερωμένη αντικειμενική μέθοδο που βασίζεται στην

αμφιβληστροειδική ανακλασιμετρία και αποκαλύπτει τη χωρική κατανομή της ΧΩ σύμφωνα με προηγούμενες αναφορές¹⁴³.

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα της μελέτης μας είναι ενδεικτικά των επιπέδων της MPOD των ηλικιωμένων ατόμων στην Κρήτη. Η υπόθεσή μας για πιθανή μείωση των επιπέδων της χρωστικής της ωχράς σε ασθενείς με ετερόπλευρη υγρή ωχροπάθεια δεν επιβεβαιώθηκε. Αντίθετα αναδείχτηκε μια τάση για αυξημένα επίπεδα χρωστικής στους ασθενείς αυτούς σε σύγκριση με φυσιολογικούς συνομήλικούς τους και ασθενείς με αμφοτερόπλευρη ξηρή ωχροπάθεια. Τα ευρήματά μας πιθανότητα σχετίζονται με την πολυπαραγοντικότητα της πάθησης και του προς μέτρηση μεγέθους. Δηλαδή με τους ποικίλους παράγοντες που διαμορφώνουν την MPOD, την παθοφυσιολογία, εκδήλωση και εξέλιξη της AMD και της πιθανής συσχέτισης αυτών των δύο. Παρότι δεν μπορεί κανείς να αγνοήσει τις υποθέσεις που συσχετίζουν την αντιοξειδωτική χρωστική της ωχράς με την ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας, είναι απαραίτητες περαιτέρω μελέτες για να καταδειχτεί μια τέτοια συσχέτιση ή να επιβεβαιωθούν τα ευρήματά της παρούσας μελέτης. Οι περιβαλλοντικοί, αλλά και γενετικοί παράγοντες που εμπλέκονται στη διαμόρφωση των επιπέδων της χρωστικής και η ενδεχόμενη συσχέτισή τους με την εκδήλωση της AMD αποτελούν ευρύ πεδίο για μελλοντική έρευνα

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 Στάγκος ΝΤ. Κλινική Οφθαλμολογία, University Studio Press, Έτος έκδοσης 2002
- 2 Kanski Jack J, Clinical Ophthalmology, A Systematic Approach, 6th Ed Elsevier, 2007
- 3 Γκίνης Χ. «Το οπτικό σύστημα του οφθαλμού-Οπτικές Εκτροπές», Σημ. Μαθήμ. «Όραση και Φυσιολογική Οπτική» του ΔΜΠ «Οπτική και Όραση» του ΠΚ, 2006
- 4 Πλαϊΐνης Σ. Νευροφυσιολογία, Σημ. Μαθήμ. «Όραση και Φυσιολογική Οπτική» του ΔΜΠ «Οπτική και Όραση» του ΠΚ, 2006
- 5 Home E. An account of the orifice in the retina of the human eye, discovered by Professor Soemmering: to which are added proofs of this appearance being extended to the eyes of other animals. *Philos Trans R Soc Lond.* 1798; 2: 332.
- 6 Buzzi F. Nuove sperienze fatte sulli occhio umano. *Opuscoli Scetti Sulle Scienze e Sulle Arti.* 1782; 5:87.
- 7 Soemmering S. De foramina centrali limbo luteo cincto retinae humanae. *Comment Soc Reg Sci Goetting.* 1799; 13.
- 8 Wolin LR, Massopust LC. Characteristics of the ocular fundus in primates. *J Anat.* 1967; 101: 693-699.
- 9 Wald G. Human vision and the spectrum. *Science.* 1945; 101: 653-658.
- 10 Weale RA. Hue discrimination in paracentral parts of the human retina measured at different luminance levels. *J Physiol.* 1951; 113: 115-122.
- 11 Brown PK, Wald G. Visual pigments in human and monkey retinas. *Nature.* 1963; 200:37-43.
- 12 Ruddock KH. Evidence for macular pigmentation from colour matching data. *Vision Res.* 1963; 61:417-429.
- 13 Hartridge H. Macular pigment. *Nature.* 1951; 167: 76-77.
- 14 Goodwin TW. The Biochemistry of the Carotenoids. *London, England: Chapman & Hall; 1980.*
- 15 Bone RA, Landrum JT, Tarsis SL. Preliminary identification of the human macular pigment. *Vision Res.* 1985; 25:1531-1535.

- 16 Snodderly DM, Auran JD, Delori FC. The macular pigment, II: spatial distribution in primate retinas. *IOVS*. 1984; 25: 674-685.
- 17 Weiser H, Kormann AW. Provitamin A activities of carotenoids and physical functions in animals. *Ann N Y Acad Sci*. 1993; 691:213-215.
- 18 Müller H. Die tägliche Aufnahme von Carotinoiden (Carotine und Xanthophylle) aus Gesamtnahrungsproben und die Carotinoidgehalte ausgewählter Gemüse-und Obstarten. *Z Ernährungswiss*. 1996; 35:45-50.
- 19 Mares-Perlman JA, Fisher AI, Klein R, et al. Lutein and zeaxanthin in the diet and serum and their relation to age-related maculopathy in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol*. 2001; 153:424-432.
- 20 Erdman JW Jr, Bierer TL, Gugger ET. Absorption and transport of carotenoids. *N Y Acad Sci*. 1993; 691:76-85.
- 21 Broekmans WM, Berendschot TT, Klopping- Ketelaars IA, et al. Macular pigment density in relation to serum and adipose tissue concentrations of lutein and serum concentrations of zeaxanthin. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76:595- 603.
- 22 Hammond BR Jr, Johnson EJ, Russell RM, et al. Dietary modification of human macular pigment density. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997; 38:1795-1801.
- 23 Zaripheh S, Erdman JW Jr. Factors that influence the bioavailability of xanthophylls. *J Nutr*. 2002; 132:531S-534S.
- 24 Khachik F, Spangler CJ, Smith JC Jr, Canfield LM, Steck A, Pfander H. Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem*. 1997; 69:1873-1881.
- 25 Kaplan LA, Lau JM, Stein EA. Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem*. 1990; 8:1-10.
- 26 Bhosale P, Larson AJ, Frederick JM, Southwick K, Thulin CD, Bernstein PS. Identification and characterization of a Pi isoform of glutathione Stransferase (GSTP1) as a zeaxanthin-binding protein in the macula of the human eye. *J Biol Chem*. 2004; 279:49447-49454.
- 27 Bernstein PS, Balashov NA, Tsong ED, Rando RR. Retinal tubulin binds macular carotenoids. *IOVS* 1997; 38:167-175.

- 28 Yemelyanov AY, Katz NB, Bernstein PS. Ligandbinding characterization of xanthophyll carotenoids to solubilized membrane proteins derived from human retina. *Exp Eye Res.* 2001; 72:381-392.
- 29 Snodderly DM, Handelman GJ, Adler AJ. Distribution of macular pigment carotenoids in central retina of macaque and squirrel monkeys. *IOVS* 1991; 32:268-279.
- 30 Snodderly DM, Brown PK, Delori FC, Auran JD. The macular pigment, I: absorbance spectra, localization, and discrimination from other yellow pigments in primate retinas. *IOVS* 1984; 25:660-673.
- 31 Handelman GJ, Dratz EA, Reay CC, van Kuijk JG. Carotenoids in the human macula and whole retina. *IOVS* 1988; 29: 850-855.
- 32 Bone RA, Landrum JT, Hime GW, Cains A, Zamor J. Stereochemistry of the human macular carotenoids. *IOVS* 1993; 34:2033-2040.
- 33 Bone RA, Landrum JT, Friedes LM, et al. Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina. *Exp Eye Res.* 1997; 64:211- 218.
- 34 Bone RA, Landrum JT, Fernandez L, Tarsis SL. Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. *IOVS* 1988; 29:843-849.
- 35 Sujak A, Okulski W, Gruszecki WI. Organisation of xanthophyll pigments lutein and zeaxanthin in lipid membranes formed with dipalmitoylphosphatidylcholine. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1509:255-263.
- 36 Bone RA. The role of the macular pigment in the detection of polarized light. *Vision Res* 1980; 20:213–20.
- 37 Robson AG, Harding G, van Kuijk FJ, et al. Comparison of fundus autofluorescence and minimum-motion measurements of macular pigment distribution profiles derived from identical retinal areas. *Perception.* 2005; 34:1029-2034.
- 38 Hammond BR Jr, Fuld K. Interocular differences in macular pigment density. *IOVS* 1992; 33:350-355.
- 39 Snodderly DM, Mares JA, Wooten BR, Oxton L, Gruber M, Ficek T; CAREDS Macular Pigment Study Group. Macular pigment measurement by heterochromatic flicker photometry in older subjects: the Carotenoids and Age-Related Eye Disease Study. *IOVS* 2004; 45:531-538.

- 40 Bernstein PS, Yoshida MD, Katz N, McClane RW, Gellerman W. Raman detection of macular carotenoid pigments in intact human retina. *IOVS* 1998; 39:2003-2011.
- 41 Johnson EJ, Hammond BR, Russell RM, et al. Relation among serum and tissue concentrations of lutein and zeaxanthin and macular pigment density. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71:1555- 1562.
- 42 Howarth PA, Bradley A. The longitudinal chromatic aberration of the human eye and its correction. *Vis Res.* 1986; 26:361-366.
- 43 Walls GL, Judd HD. The intraocular colour filters of vertebrates. *Br J Ophthalmol.* 1933; 17:641-675, 705-725.
- 44 Gilmartin B, Hogan RE. The magnitude of longitudinal chromatic aberration in the human eye between 458 and 633 nm. *Vision Res.* 1985; 25:1747-1753.
- 45 Wooten BR, Hammond BR. Macular pigment: influences on visual acuity and visibility. *Prog Retin Eye Res.* 2002; 21:225-240.
- 46 Bone RA, Landrum JT. Macular pigment in Henle fiber layer as a model for Haidinger's brushes. *Vision Res.* 1984; 24:103-108.
- 47 Boettner EA, Wolter JR. Transmission of the ocular media. *IOVS* 1962; 1:776-783.
- 48 Campbell FW, Gubisch RW. Optical quality of the human eye. *J Physiol.* 1966; 186:558-578.
- 49 Stringham JM, Hammond BR Macular Pigment and Visual Performance under Glare Conditions. *Optom Vis Sci* 2008; 85:82–88.
- 50 Hammond BR Jr, Wooten BR, Snodderly DM. Preservation of visual sensitivity of older subjects: association with macular pigment density. *IOVS* 1998; 39:397-406.
- 51 Werner JS, Peterzell DH, Scheetz AJ. Light, vision, and aging. *Optom Vis Sci.* 1990; 67: 214-229.
- 52 Hammond BR Jr, Wooten BR, Curran- Celentano J. Carotenoids in the retina and lens: possible acute and chronic effects on human visual performance. *Arch Biochem Biophys.* 2001; 385:41-46.
- 53 Young RW. The family of sunlight-related eye diseases. *Optom Vis Sci.* 1994; 71:125-144.
- 54 Winkler BS, Boulton ME, Gottsch JD, Sternberg P. Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Mol Vis.* 1999; 5:e32.

- 55 Conn PF, Schalch W, Truscott TG. The singlet oxygen and carotenoid interaction [published correction appears in *J Photochem Photobiol B*. 1993; 17:89]. *J Photochem Photobiol B*. 1991; 11:41-47.
- 56 De La Paz M, Anderson RE. Region and age dependent variation in susceptibility of the human retina to lipid peroxidation. *IOVS* 1992; 33:3497-3499.
- 57 Gottsch JD, Pou S, Bynoe LA, Rosen GM. Hematogenous photosensitization: a mechanism for the development of age-related macular degeneration. *IOVS* 1990; 31:1674-1682.
- 58 Gottsch JD, Bynoe LA, Harlan JB, Rencs EV, Green WR. Light-induced deposits in Bruch's membrane of protoporphyric mice. *Arch Ophthalmol*. 1993; 111:126-129.
- 59 Bynoe LA, Gottsch JD, Pou S, Rosen GM. Light-dependent generation of superoxide from human erythrocytes. *Photochem Photobiol*. 1992; 56:353-356.
- 60 Stahl W, Briviba K, Hamusch M, et al. Biological activities of natural and synthetic carotenoids: induction of gap junctional communication and singlet oxygen quenching. *Carcinogenesis*. 1997; 18:89-92.
- 61 Liebster DC, Stratton SP, Kaysen KL. Antioxidant actions of β -carotene in liposomal and microsomal membranes: role of carotenoid membrane incorporation and α -tocopherol. *Arch Biochem Biophys*. 1997; 338:244-250.
- 62 Foote CS, Denny RW, Weaver L, Chang Y, Phil D, Peters J. Quenching of singlet oxygen. *Ann N Y Acad Sci*. 1970; 171:139-148.
- 63 Sundelin SP, Nilsson SE, Brunk UT. Lipofuscin formation in retinal pigment epithelial cells is reduced by antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 2001; 31:217-225.
- 64 Berendschot TT, Goldbohm RA, Klopping WA, van de Kraats J, van Norel J, van Norren D. Influence of lutein supplementation on macular pigment, assessed with two objective techniques. *IOVS* 2000; 41:3322- 3326.
- 65 Bone RA, Landrum JT, Guerra LH, Ruiz CA. Lutein and zeaxanthin dietary supplements raise macular pigment density and serum concentrations of these carotenoids in humans. *J Nutr*. 2003; 133:992-998.
- 66 Aleman TS, Duncan JL, Bieber ML, et al. Macular pigment and lutein supplementation in retinitis pigmentosa and Usher syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001; 42:1873-1881.

- 67 Koh HH, Murray IJ, Nolan D, Carden D, Feather J, Beatty S. Plasma and macular responses to lutein supplementation in subjects with and without age-related maculopathy: a pilot study. *Exp Eye Res.* 2004; 79:21-27.
- 68 van Het Hof KH, West CE, Weststrate JA, Hautvast JG. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr.* 2000; 130:503- 506.
- 69 Hammond BR Jr, Caruso-Avery M. Macular pigment optical density in a southwestern sample. *IOVS* 2000; 41:1492- 1497.
- 70 Hammond BR Jr, Curran-Celentano J, Judd S, et al. Sex differences in macular pigment optical density: relation to plasma carotenoid concentrations and dietary patterns. *Vision Res.* 1996; 36:2001-2012.
- 71 Curran-Celentano J, Hammond BR Jr, Ciulla TA, Cooper DA, Pratt LM, Danis RB. Relation between dietary intake, serum concentrations, and retinal concentrations of lutein and zeaxanthin in adults in a Midwest population. *AmJ Clin Nutr.* 2001; 74:796-802.
- 72 Nolan J, O'Donovan O, Kavanagh H, et al. Macular pigment and percentage of body fat. *IOVS* 2004; 45:3940-3950.
- 73 Hammond BR, Ciulla TA, Snodderly DM. Macular Pigment Density Is Reduced in Obese Subjects *IOVS*, 2002;43(1):47-50
- 74 Hammond BR Jr, Fuld K, Snodderly DM. Iris color and macular pigment optical density. *Exp Eye Res.* 1996; 62:293-297.
- 75 Ciulla TA, Curran-Celantano J, Cooper DA, et al. Macular pigment optical density in a Midwestern sample. *Ophthalmology.* 2001; 108:730-737.
- 76 Nolan JM, Stack J, O'Donovan O, Loane E, Beatty S, Risk factors for age-related maculopathy are associated with a relative lack of macular pigment *Exp. Eye Research*, 2006;84:61-74
- 77 Bernstein PS, Zhao DY, Wintch SW, Ermakov IV, McClane RW, Gellermann W. Resonance Raman measurement of macular carotenoids in normal subjects and in age-related macular degeneration patients. *Ophthalmology.* 2002; 109: 1780-1787.
- 78 Beatty S, Murray IJ, Henson DB, Carden D, Koh H, Boulton M. Macular pigment and risk of age-related macular degeneration in subjects from a northern European population. *IOVS* 2001; 42:439-446.

- 79 Bone RA, Landrum JT, Mayne ST, Gomez CM, Tibor SE, Twaroska EE. Macular pigment in donor eyes with and without AMD: a case-control study [published correction appears in *IOVS* 2001; 42:548]. *IOVS* 2001; 42:235-240.
- 80 Eye Disease Case-Control Study Group. Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1992; 110: 1701-1708.
- 81 Ciulla TA, Hammond BR Macular Pigment Density and Aging, Assessed in the Normal Elderly and Those With Cataracts and Age-related Macular Degeneration *Am J Ophthalmol* 2004; 138: 582–587
- 82 Berendschot TTJM, van Norren D On the age dependency of the macular pigment optical density, *Experimental Eye Research*, 2005; 81: 602–609
- 83 Khachik F, Spangler CJ, Smith JC Jr, Canfield LM, Steck A, Pfander H. Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem*. 1997; 69:1873-1881.
- 84 Berendschot TTJM, Willemse-Assink JJM, Bastiaanse M, de Jong PTVM, van Norren D Macular Pigment and Melanin in Age-Related Maculopathy in a General Population *IOVS* 2002; 43(6): 1928-1932
- 85 Richer S, Stiles W, Statkute L, Pulido J, Frankowski J, Rudy D, Pei K, Tspursky M, Nyland J Double-masked, placebo-controlled, randomized trial of lutein and antioxidant supplementation in the intervention of atrophic age-related macular degeneration: the Veterans LAST study (Lutein Antioxidant Supplementation Trial). *Optometry*. 2004 Apr; 75(4):216-30.
- 86 Kanis M, Berendschot TTJM, van Norren D Influence of macular pigment and melanin on incident early AMD in a white population *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* (2007) 245:767–773
- 87 LaRowe TL, Mares JA, Snodderly DM, Klein ML, Macular Pigment Density and Age-Related Maculopathy in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study An Ancillary Study of the Women's Health Initiative *Ophthalmology*. 2008; 115(5): 876-883
- 88 Malinow MR, Feeney-Burns L, Peterson LH, Klein ML, Neuringer M. Diet-related macular anomalies in monkeys. *IOVS* 1980; 19:857-863.

- 89 Neuringer M, Sandstrom MM, Johnson EJ, Snodderly DM. Nutritional manipulation of primate retinas, I: effects of lutein or zeaxanthin supplements on serum and macular pigment in xanthophyll-free rhesus monkeys. *IOVS 2004; 45: 3234-3243.*
- 90 Leung IY, Sandstrom MM, Zucker CL, Neuringer M, Snodderly DM. Nutritional manipulation of primate retinas, II: effects of age, n-3 fatty acids, lutein, and zeaxanthin on retinal pigment epithelium. *IOVS 2004; 45:3244-3256.*
- 91 Thomson LR, Toyoda Y, Delori FC, et al. Long term dietary supplementation with zeaxanthin reduces photoreceptor death in light-damaged Japanese quail. *Exp Eye Res. 2002; 75:529-542.*
- 92 Thomson LR, Toyoda Y, Langner A, et al. Elevated retinal zeaxanthin and prevention of lightinduced photoreceptor cell death in quail. *IOVS. 2002; 43:3538-3549.*
- 93 Landrum JT, Bone RA, Joa H, Kilburn MD, Moore LL, Sprague KE. A one-year study of the macular pigment: the effect of 140 days of a lutein supplement. *Exp Eye Res. 1997; 65: 57-62.*
- 94 Schalch W, Cohn W, Barker FM, Köpcke W, Mellerio J, Bird AC, Robson AG, Fitzke FF, van Kuijk FJGM Xanthophyll accumulation in the human retina during supplementation with lutein or zeaxanthin – the LUXEA (LUtein Xanthophyll Eye Accumulation) study *Archives of Biochemistry and Biophysics 2007; 458: 128–135*
- 95 Trieschmann M, Beatty S, Nolan JM, Hense HW, Heimes B, Austermann U, Fobker M, Pauleikhoff D Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin: The LUNA study *Experimental Eye Research 2007; 84: 718-728*
- 96 Richer S, Devenport J, Lang JC LAST II: Differential temporal responses of macular pigment optical density in patients with atrophic age-related macular degeneration to dietary supplementation with xanthophylls *Optometry (2007) 78, 213-219*
- 97 Jackson GR, Owsley C, Cordle EP, Finley CD. Aging and scotopic sensitivity. *Vision Res. 1998; 38:3655-3662.*
- 98 Barker FM. The Direct Spectral Transmittance of the Human Crystalline Lens as a Function of Age *FDA Report. Rockville, Md: National Press Office; 1991.*

- 99 Boulton M. Aging of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res.* 1991; 11: 125-151.
- 100 Curcio CA, Millican CL, Allen KA, Kalina RE. Aging of the human photoreceptor mosaic: evidence for selective vulnerability of rods in central retina. *IOVS.* 1993; 34:3278-3296.
- 101 Mares JA, La Rowe TL, Blodi BA. Doctor, what vitamins should I take for my eyes? *Arch Ophthalmol.* 2004;122:628-635.
- 102 Mares J. Carotenoids and eye disease: epidemiological evidence. In: Krinsky NI, Mayne ST, Sies H, eds. *Carotenoids in Health and Disease.* New York, NY: Marcel Dekker Inc; 2004.
- 103 Snodderly DM. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and anti-oxidant vitamins. *Am J Clin Nutr.* 1995; 62(suppl):1448S-1461S.
- 104 Age-Related Eye Disease Study Research Group. Results from the Age-Related Eye Disease Study Booklet of AREDS I, 2001.
- 105 Age-Related Eye Disease Study Research Group. A Randomized, Placebo-Controlled, Clinical Trial of High-Dose Supplementation with Vitamins C and E, Beta Carotene, and Zinc for Age-Related Macular Degeneration and Vision Loss - Report Number 8. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1417-1435
- 106 Age-Related Eye Disease Study Research Group. A Randomized, Placebo-Controlled, Clinical Trial Of High-Dose Supplementation With Vitamins C And E And Beta Carotene For Age-Related Cataract And Vision Loss: AREDS Report Number 9. *Arch Ophthalmol.* 2001; 119(10): 1439-52.
- 107 Kahn HA, Leibowitz HM, Ganley LP, Kini Mm, Colton T, Nickerson RS, Dawber TR. The Framingham Eye Study I. Outline and Major Prevalence Findings. *Am J of Epidem* 1977; 106 (1): 17-32
- 108 Klein R et al. Prevalence of Age-Related Maculopathy: the Beaver Dam Eye Study *Ophthalmology* 1992; 99: 933-43
- 109 Klein R et al. The Beaver Dam Eye Study: The Relation of Age-related Maculopathy to Smoking *Am J of Epidem* 1993; 137(2): 190-200
- 110 Ferris FI, Fine SL, Hyman L. Age-Related Macular Degeneration And Blindness Due To Neovascular Maculopathy *Arch Ophthalmol* 1984; 102(11): 1640-1642

- 111 Prevalence of Age-Related Maculopathy in Older Europeans. The European Eye Study (EUREYE) *Arch Ophthalmol.* 2006; 124: 529-535
- 112 Klein RJ et al. Complement Factor H Polymorphism in Age-Related Macular Degeneration *Science* 2005;308 (5720): 385 - 389
- 113 Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Nouredine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance MA. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science.* 2005; 308(5720):362-4.
- 114 Edwards AO, Ritter R, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA Complement Factor H Polymorphism and Age-Related Macular Degeneration *Science* 2005; 308 (5720): 385
- 115 Hageman GS et al A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005;102 (20): 7227-7232
- 116 Christen WG, Glynn RJ, Mauseon JE, Ajain UA and Buring JE. A prospective study of cigarette smoking and the risk of age-related macular degeneration in men. *J. Am. Med. Assoc.* 1996; 276: 1147-1151
- 117 Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18:4-25
- 118 Aiello LP et al. Vascular Endothelial Growth Factor in Ocular Fluid of Patients with Diabetic Retinopathy and Other Retinal Disorders *The New England Journal of Medicine* 1994; 331(22): 1480-1487
- 119 Wyszecski, G. and Stiles, W. S. (1982) *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*, 2nd edn. John Willey & Sons, New York, NY.
- 120 Yi et al. Vascular Endothelial Growth Factor Expression In Choroidal Neovascularization In Rats *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997; 235: 313-319
- 121 Okamoto N et al. Transgenic Mice With Increased Expression Of Vascular Endothelial Growth Factor In The Retina: A New Model Of Intraretinal And Subretinal Neovascularization *Am J Pathol.* 1997; 151(1): 281-291

- 122 Schwesinger C et al. Intrachoroidal Neovascularization in Transgenic Mice Overexpressing Vascular Endothelial Growth Factor in the Retinal Pigment Epithelium *American Journal of Pathology* 2001; 158:1161-1172.
- 123 Winn, B., Whitaker, D., Elliott, D. B. and Phillips, N. J. (1994) Factors affecting light-adapted pupil size in normal human subjects. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 35, 1132–1137.
- 124 Feeney-Burns L, Hilderbrand ES, Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *IOVS* 1984; 25:195-200.
- 125 Boulton M, Dontsov A, Jarvis-Evans J, Ostrovsky M, Svistunenko D. Lipofuscin is a photoinducible free radical generator. *J Photochem Photobiol B.* 1993; 19:201-204.
- 126 Suter M, Reme C, Grimm C, et al. Age-related macular degeneration: the lipofuscin component *N*-retinyl-*N*-retinylidene ethanolamine detaches pro-apoptotic proteins from mitochondria and induces apoptosis in mammalian retinal pigment cells. *J Biol Chem.* 2000; 275:39625- 39630.
- 127 Sparrow JR, Cai B. Blue light–induced apoptosis of A2E-containing RPE: involvement of caspase-3 and protection by *Bcl-2*. *IOVS* 2001; 42:1356-1362.
- 128 Sparrow JR, Nakanski K, Parish CA. The lipofuscin fluorophor A2E mediates blue light damage to retinal pigment epithelial cells. *IOVS* 2000; 41:1981-1989.
- 129 Rozanowska M, Wessels J, Boulton M, et al. Blue light–induced singlet oxygen generation by retinal lipofuscin in non-polar media. *Free Radic Biol Med.* 1998; 24:1107-1112.
- 130 Shaban H, Borrás C, Vina J, Richter C. Phosphatidylglycerol potently protects human retinal pigment epithelial cells against apoptosis induced by A2E, a compound suspected to cause age-related macular degeneration. *Exp Eye Res.* 2002; 75:99-108.
- 131 Young RW. Pathophysiology of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 1987; 31:291-306.
- 132 Wustemeyer H, Jahn C, Nestler A, Barth T, Wolf S. A new instrument for the quantification of macular pigment density: first results in patients with AMD and healthy subjects. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2002; 240:666-671.

- 133 Gale CR, Hall NF, Phillips DI, Martyn CN. Lutein and zeaxanthin status and risk of age-related macular degeneration. *IOVS* 2003; 44:2461-2465.
- 134 Seddon JM, Ajani UA, Sperduto R, et al; Eye Disease Case-Control Study Group. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration [published correction appears in *JAMA*. 1995; 273:622]. *JAMA*. 1994; 272:1413-1420.
- 135 Eye Disease Case-Control Study Group. Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1992; 110: 1701-1708.
- 136 Eye Disease Case-Control Study Group. Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1993; 111:104-109.
- 137 Snellen EL, Verbeek AL, Van Den Hoogen GW, Cruysberg JR, Hoyng CB. Neovascular age-related macular degeneration and its relationship to antioxidant intake. *Acta Ophthalmol Scand*. 2002; 80:368-371.
- 138 Cho E, Seddon JM, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE. Prospective study of intake of fruits, vegetables, vitamins, and carotenoids and risk of age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol*. 2004; 122:883-892.
- 139 Mares-Perlman JA, Brady WE, Klein R, et al. Serum antioxidants and age-related macular degeneration in a population-based case-control study. *Arch Ophthalmol*. 1995; 113:1518-1523.
- 140 Van den Langenberg GM, Mares-Perlman JA, Klein R, Klein BE, Brady WE, Palta M. Associations between antioxidant and zinc intake and the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study. *Am J Epidemiol*. 1998; 148:204-214.
- 141 Flood V, Smith W, Wang JJ, Manzi F, Webb K, Mitchell P. Dietary antioxidant intake and incidence of early age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 2002; 109:2272-2278.
- 142 Tan JSL et al. Dietary Antioxidants and the Long-Term Incidence of Age-Related Macular Degeneration, The Blue Mountain Eye Study. *Ophthalmology* 2008; 115(2):334-341.
- 143 van der Veen RLP, Berendschot TJM, Hendrikse F, Carden D, Makridaki M, Murray I A New Desktop Instrument For Measuring Macular Pigment Optical Density Based On A Novel Technique For Setting Flicker Thresholds. *OPO*, 2009; 29:127-137

- 144 Wooten BR, Hammond BR, Land RI, Snodderly DM. A Practical Method for Measuring Macular Pigment Optical Density *IOVS* 199; 40 (11):2481-2489.
- 145 Wenzel AJ, Fuld K, Stringham JM Light Exposure and Macular Pigment Optical Density *IOVS*, 2003, 44 (1):306-309
- 146 Liew SM, Gilbert CE, Spector TD, Beatty S, van Kuijk FJ, Mellerio J, Marshall J, Hammond CJ Macular Pigment Heritability: A Twin Study *IOVS* 2005;46: E-Abstract 1760
- 147 Pallikaris IG et al. Ocular Rigidity in Patients with Age-related Macular Degeneration. *Am J of Ophth* 2006; 141(4): 611-615
- 148 Iannaccone A et al. Macular Pigment Optical Density in the Elderly: Findings in a Large Biracial Midsouth Population Sample *IOVS* 2007;48:1458-1465