

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Νεότερα δεδομένα για τη γενετική της σκλήρυνσης κατά πλάκας

Στην αιτιοπαθογένεια της σκλήρυνσης κατά πλάκας (ΣΚΠ) συμβάλλουν τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Οι γενετικοί παράγοντες μπορούν είτε να προδιαθέτουν για εμφάνιση της νόσου, είτε να επηρεάζουν την κλινική της έκφραση. Την τελευταία 20ετία, δεδομένα από άρτια σχεδιασμένες πληθυσμιακές μελέτες γενετικής επιδημιολογίας (μελέτες οικογενειών, μελέτες διδύμων, μελέτες υιοθεσίας, μελέτες σε ετεροθαλή αδέρφια και μελέτες σε οικογένειες που πάσχουν και οι δύο γονείς από τη νόσο) αποσαφήνισαν τη συμβολή των γενετικών παραγόντων στην προδιάθεση για ΣΚΠ. Σε μοριακό επίπεδο, οι μελέτες συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων της τελευταίας 15ετίας ανέδειξαν την αδιαμφισβήτητη συμμετοχή συγκεκριμένων απλοτύπων των γονιδίων του συμπλέγματος HLA στην εμφάνιση της νόσου. Οι μελέτες ανάλυσης σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος των τελευταίων 10 ετών, ιδίως η πρόσφατη μελέτη σύνδεσης υψηλής πυκνότητας που ολοκληρώθηκε το 2005, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι, εκτός του HLA, η συμβολή άλλων γονιδίων στην εμφάνιση της νόσου είναι περιορισμένης έκτασης. Την τελευταία 5ετία, εδραιώθηκε ευρέως η άποψη ότι το μέλλον των γονιδιακών μελετών στη ΣΚΠ βρίσκεται στις μελέτες συσχέτισης, οι οποίες έχουν μεγαλύτερη ισχύ να αναδείξουν τέτοια φαινόμενα περιορισμένης έκτασης. Με βάση τις τεχνολογικές κατακτήσεις των μικροσυστοιχιών DNA, διενεργήθηκαν οι πρώτες μελέτες συσχέτισης (ανισορροπίας σύνδεσης) ολόκληρου του γονιδιώματος. Τα αποτελέσματα αυτής της προσπάθειας δημοσιεύτηκαν το 2003, επιβεβαιώνοντας τα ευρήματα των μελετών ανάλυσης σύνδεσης και αναδεικνύοντας κάποιες νέες περιοχές του γονιδιώματος με πιθανή συμμετοχή στην προδιάθεση για ΣΚΠ. Πιο πρόσφατα, σχεδιάστηκαν ανάλογες μελέτες σε μεγαλύτερα δείγματα ασθενών και μαρτύρων με γονοτύπηση πολύ περισσότερων πολυμορφικών δεικτών, τα αποτελέσματα των οποίων αναμένονται στο άμεσο μέλλον. Επιπλέον, πρόσφατα ολοκληρώθηκαν μεθοδολογικά άρτιες μελέτες συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων σε μεγάλο αριθμό ασθενών και μαρτύρων, οι οποίες ανέδειξαν την πιθανή συμβολή νέων γονιδίων στην αιτιοπαθογένεια της νόσου. Την τελευταία 10ετία, με την αύξηση του αριθμού των περιστατικών που μελετώνται γενετικά αλλά και την προσπάθεια περαιτέρω ανάλυσης των κλινικών παραμέτρων της ΣΚΠ, άρχισε μια πιο εκτεταμένη και σε βάθος μελέτη της συμβολής γενετικών παραγόντων στην κλινική έκφραση της νόσου. Μολονότι δεν έχουν ακόμα εξαχθεί ασφαλή και αδιαμφισβήτητα συμπεράσματα, τα πλέον ενδιαφέροντα ευρήματα αφορούν στη συμβολή των γονιδίων του συμπλέγματος HLA και της απολιποπρωτεΐνης E σε σημαντικές κλινικές παραμέτρους, όπως η βαρύτητα ή η μορφή της νόσου. Προσπάθειες που μελλοντικά θα διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη γενετική της ΣΚΠ είναι η προσέγγιση της κλινικής ετερογένειας της νόσου, καθώς και η μελέτη γενετικά απομονωμένων πληθυσμών, αμφότερα με σκοπό την ενίσχυση της συμβολής επιμέρους γενετικών παραγόντων.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σκλήρυνση κατά πλάκας (ΣΚΠ) είναι μια άγνωστης

αιτιολογίας χρόνια, φλεγμονώδης, απομυελινωτική νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος, η οποία αποτελεί τη συχνότερη μη τραυματική αιτία αναπηρίας σε νέους ενήλι-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2008, 25(2):135-150
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2008, 25(2):135-150

Γ. Κούτσης,
Μ. Πάνας

Μονάδα Νευρογενετικής, Νευρολογική
Κλινική, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
«Αιγινήτειο» Νοσοκομείο, Αθήνα

Recent findings in the genetics
of multiple sclerosis

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Γενετική
Γονίδιο
Μελέτη σύνδεσης
Μελέτη συσχέτισης
Σκλήρυνση κατά πλάκας

Υποβλήθηκε 24.1.2007
Εγκρίθηκε 22.5.2007

κες.¹ Στην εμφάνισή της συμβάλλουν τόσο περιβαλλοντικοί όσο και γενετικοί παράγοντες.² Αρκετοί από τους πρώτους μελετητές της νόσου, όπως οι Charcot, Erb, Oppenheim, Duchenne, Marie και Gowers, κατέγραψαν οικογενείς περιπτώσεις.³ Το 1893, ο Herouet περιέγραψε 9 περιπτώσεις εμφάνισης της νόσου σε μια γενεά και το 1896 ο Eichhorst, με αφετηρία μια οικογένεια όπου νοσούσαν η μητέρα και ο γιος, έκανε λόγο περί της πιθανής κληρονομησιμότητας της νόσου.³

Μολονότι η ιδέα της συμβολής γενετικών παραγόντων στην αιτιοπαθογένεια της νόσου αναγνωρίστηκε και μελετήθηκε περαιτέρω, τόσο προπολεμικά όσο και στις πρώτες μεταπολεμικές δεκαετίες, ο βαθμός της γενετικής συμμετοχής δεν ήταν ακόμα σαφής στα τέλη της δεκαετίας του 1970.⁴⁻⁷ Την τελευταία 20ετία, με βάση τα αποτελέσματα αρτιότερων, μεθοδολογικά, πληθυσμιακών μελετών καθορίστηκε σαφώς και αδιαμφισβήτητα η έκταση της γενετικής συμβολής στην αιτιοπαθογένεια της ΣΚΠ.⁸ Επιπλέον, με την είσοδο της μοριακής γενετικής στο προσκήνιο έγινε μια σημαντική προσπάθεια για τον προσδιορισμό των γονιδίων που συμμετέχουν στην αιτιολογία της νόσου.⁹ Η προσπάθεια αυτή έχει περαιτέρω επεκταθεί την τελευταία 10ετία και στη μελέτη γονιδίων που ενδεχομένως τροποποιούν την κλινική έκφραση της νόσου.¹⁰

Οι ανασκοπήσεις για τη γενετική της ΣΚΠ στην ελληνική βιβλιογραφία την τελευταία 25ετία είναι περιορισμένες. Η αναζήτηση που επιχείρησαν οι συγγραφείς του παρόντος άρθρου στο Εθνικό Κέντρο Τεκμηρίωσης και την πανεπιστημιακή βιβλιοθήκη του «Αιγινητείου» Νοσοκομείου ανέδειξε δύο ανασκοπήσεις σε επιστημονικά περιοδικά (1983, 1997) και μία σε πιο πρόσφατη μονογραφία για τη ΣΚΠ (2001).¹¹⁻¹³ Κρίθηκε λοιπόν ώριμος ο χρόνος για μια νέα ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας, που να περιλαμβάνει και τα νεότερα δεδομένα των τελευταίων ετών. Το πρώτο και περισσότερο εκτεταμένο μέρος της παρούσας ανασκόπησης είναι αφιερωμένο στα δεδομένα που αφορούν στη γενετική προδιάθεση για ΣΚΠ. Στο δεύτερο μέρος αναπτύσσεται η γονιδιακή συνεισφορά στην κλινική έκφραση της νόσου.

2. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΓΙΑ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΚΑΣ

2.1. Τα δεδομένα από τη γενετική επιδημιολογία

2.1.1. Κίνδυνος εμφάνισης της νόσου σε συγγενείς. Η πιθανότητα ένας ασθενής με ΣΚΠ να έχει προσβεβλημένο από τη νόσο και κάποιο συγγενή του προσεγγίζει το 15–20% σε περιοχές με υψηλό επιπολασμό ΣΚΠ.¹⁴ Το 1988 δημοσιεύτηκε η πρώτη πληθυσμιακή μελέτη που υπολό-

γιζε με συστηματικό τρόπο τον ηλικιακά προσαρμοσμένο (age-adjusted) κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε συγγενείς ασθενών.¹⁴ Βρέθηκε ότι συγγενείς 1ου, 2ου και 3ου βαθμού ασθενών με ΣΚΠ έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό και ο βαθμός κινδύνου εξαρτάται από το βαθμό συγγένειας (πίν. 1). Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω από μελέτες σε άλλους πληθυσμούς.¹⁵⁻¹⁷ Ο σχετικός κίνδυνος (λs) έχει υπολογιστεί σε 100–190 για μονοζυγωτικούς διδύμους, 15–25 για αδέρφια και 7–13 για ετεροθαλή αδέρφια.^{8,18} Η απότομη πτώση του κινδύνου ανάλογα με το βαθμό συγγένειας θεωρήθηκε ότι υπαινίσσεται ολιγογονιδιακή ή πολυγονιδιακή κληρονομικότητα.⁹ Οφείλει να σημειωθεί, βέβαια, ότι τα δεδομένα οικογενούς κινδύνου από μόνα τους δεν διαφοροποιούν τον περιβαλλοντικό από το γενετικό παράγοντα. Όμως, οι μελέτες διδύμων, υιοθεσίας, ετεροθαλών αδελφών και οικογενειών με δύο γονείς πάσχοντες που ακολούθησαν, ανέδειξαν ότι η οικογενής εμφάνιση της νόσου σχετίζεται ισχυρά με γενετικούς παράγοντες.

2.1.2. Μελέτες διδύμων. Οι πρώιμες μελέτες διδύμων που έγιναν στη ΣΚΠ δεν ήταν πληθυσμιακές και οδήγησαν στο εσφαλμένο συμπέρασμα της μικρής γενικά συμμετοχής του γενετικού παράγοντα στην αιτιολογία της νόσου.¹⁹⁻²¹ Μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του 1980, αυτή ήταν η επικρατούσα άποψη και στον ελληνικό χώρο.^{7,11} Την τελευταία 20ετία, όμως, έχουν ολοκληρωθεί αρκετές πληθυσμιακές μελέτες διδύμων, που δείχνουν ότι ο βαθμός συμφωνίας σε μονοζυγωτικούς διδύμους (20–35%) είναι 5–10 φορές μεγαλύτερος απ' ό,τι σε διζυγωτικούς διδύμους (3–5%) και κατ' επέκταση τονίζουν τη μεγάλη σημασία του γενετικού παράγοντα.²²⁻²⁴ Δεν πρέπει βέβαια να υποτιμάται το γεγονός ότι στην πλειονότητα των μονοζυγωτικών διδύμων δεν παρατηρείται συμφωνία, γεγονός που υποδηλώνει και τη συμμετοχή μη γενετικών παραγόντων.

Πίνακας 1. Οικογενής κίνδυνος εμφάνισης σκλήρυνσης κατά πλάκας (ΣΚΠ).^{8,14,15,27}

Συγγένεια με ασθενή δείκτη	Ηλικιακά προσαρμοσμένος κίνδυνος εμφάνισης ΣΚΠ (%)	Σχετικός κίνδυνος (λs) συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό*
Μονοζυγωτικός διδύμος	34,0	170
Τέκνο με δύο πάσχοντες γονείς	30,5	150
Αδελφός/-ή	3,0–5,0	15–25
Τέκνο με έναν πάσχοντα γονέα	2,1	10,5
Ετεροθαλής αδελφός/-ή	1,3	6,5
Υιοθετημένο τέκνο	0,2	1

* Επιπολασμός στο γενικό πληθυσμό 0,2%

2.1.3. Μελέτες υιοθεσίας. Το 1995 ολοκληρώθηκε μια μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη στη ΣΚΠ, η οποία, μετά από έλεγχο συνολικά 16.000 ασθενών με ΣΚΠ, υπολόγισε τον επιπολασμό της νόσου στο σύνολο των 1.201 μη βιολογικών συγγενών που προέκυψαν.²⁵ Τα αποτελέσματα ανέδειξαν ότι η συχνότητα της νόσου σε μη βιολογικούς συγγενείς είναι η ίδια με εκείνη του γενικού πληθυσμού (μία περίπτωση στους 1.201). Η οικογενής εμφάνιση της νόσου αποδόθηκε σχεδόν αποκλειστικά στο γενετικό παράγοντα.

2.1.4. Μελέτες σε ετεροθαλή αδέρφια. Στις μελέτες αυτές συγκρίνεται ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου σε ετεροθαλή (25% κοινό γονιδιακό υπόστρωμα) και πλήρη αδέρφια (50% κοινό γονιδιακό υπόστρωμα), που μοιράζονται το ίδιο οικογενειακό περιβάλλον. Επιπλέον, ετεροθαλή αδέρφια που μεγάλωσαν μαζί με τον ασθενή-δείκτη συγκρίνονται με ετεροθαλή αδέρφια που μεγάλωσαν μακριά από αυτόν. Τέλος, συγκρίνονται ετεροθαλή αδέρφια από τη μητέρα με ετεροθαλή αδέρφια από τον πατέρα, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα να μελετηθεί το «φαινόμενο του γονέα προέλευσης» (parent-of-origin effect). Στη ΣΚΠ βρέθηκε ότι ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου είναι σημαντικά μικρότερος στα ετεροθαλή αδέρφια (1,32%) συγκριτικά με τα πλήρη αδέρφια (3,48%) και επιβεβαιώθηκε ότι ο κοινός γενετικός παράγοντας και όχι το κοινό περιβάλλον είναι υπεύθυνο για την οικογενή εμφάνιση.²⁶ Σε μια πιο πρόσφατη επέκταση της μελέτης αναδείχθηκε και φαινόμενο μητρικού γονέα προέλευσης (υψηλότερος επιπολασμός σε ετεροθαλή αδέρφια με κοινή μητέρα απ' ό,τι με κοινό πατέρα).²⁷

2.1.5. Μελέτες σε οικογένειες που πάσχουν και οι δύο γονείς από ΣΚΠ. Σποραδικές αναφορές οικογενειών όπου και οι δύο γονείς πάσχουν από ΣΚΠ έχουν εμφανιστεί στη βιβλιογραφία εδώ και δεκαετίες.²⁸ Υπάρχουν όμως μόνο δύο μελέτες που προσέγγισαν το φαινόμενο συστηματικά.^{29,30} Και στις δύο μελέτες, ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου στα τέκνα ήταν σημαντικά υψηλότερος με δύο πάσχοντες γονείς παρά με έναν. Στην Καναδική μελέτη, ο κίνδυνος αυτός υπολογίστηκε στο 30,5% και 2,49%, αντίστοιχα, τονίζοντας εκ νέου τη σημασία του γενετικού παράγοντα στην αιτιοπαθογένεια της νόσου. Επιπλέον, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων οδήγησε στο συμπέρασμα ότι προσβεβλημένα άτομα χωρίς κάποια συγγένεια πιθανότατα μοιράζονται κάποια γονίδια προδιάθεσης.³⁰

2.2. Τα δεδομένα από τη μοριακή γενετική

2.2.1. Το μεθοδολογικό πλαίσιο. Με την ανάπτυξη τεχνικών μοριακής βιολογίας τα τελευταία 20 χρόνια κατέστη δυνατό να μελετηθεί περαιτέρω το γονιδιακό υπόβαθρο της προδιάθεσης για ΣΚΠ. Δύο βασικές μεθοδολογίες χρησιμοποιήθηκαν εκτεταμένα για το σκοπό αυτόν: οι μελέτες

συσχέτισης (association studies) και οι μελέτες ανάλυσης σύνδεσης (linkage studies). Στις μελέτες συσχέτισης συγκρίνεται η κατανομή συχνοτήτων ενός πολυμορφικού δείκτη σε μια ομάδα ασθενών και σε μια ομάδα ελέγχου. Αν βρεθούν διαφορές, συμπεραίνεται ότι ο δείκτης συσχετίζεται με την εμφάνιση της νόσου. Αυτό συμβαίνει είτε επειδή ο δείκτης εντοπίζεται σε κάποιο γονίδιο που εμπλέκεται στον παθογενετικό μηχανισμό της νόσου, είτε γιατί βρίσκεται σε ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium) με κάποιο άλλο εμπλεκόμενο γονίδιο. Στις μελέτες ανάλυσης σύνδεσης διερευνάται η πιθανή σύνδεση (δηλαδή συγκληρονόμηση) συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφικών δεικτών με τη νόσο, σε οικογένειες πασχόντων.

Οι μελέτες συσχέτισης έχουν γενικά μεγαλύτερη στατιστική ισχύ από τις μελέτες σύνδεσης.³¹ Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία στην ανίχνευση γονιδίων με μικρή ή σχετικά μικρή συνεισφορά στην προδιάθεση.³² Επειδή όμως η γενετική σύνδεση εκτείνεται σε πολύ μεγαλύτερες γενετικές αποστάσεις από την ανισορροπία σύνδεσης, επιτρέπει τον έλεγχο ολόκληρου του γονιδιώματος με πολύ μικρότερο αριθμό δεικτών.

Στις αρχές της δεκαετίας του 1990, με την ευρεία διάδοση μεθόδων PCR δημοσιεύτηκε σημαντικός αριθμός μελετών συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων στη ΣΚΠ. Με την εξαίρεση όμως των ευρημάτων από τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας, τα δεδομένα για άλλα γονίδια χαρακτηρίζονταν από θετικές αρχικά συσχετίσεις, που κατά το πλείστον δεν επιβεβαιώνονταν σε δεύτερο χρόνο. Το 1996, με την ανάπτυξη μη παραμετρικών στατιστικών μεθόδων υπολογισμού σύνδεσης σε πολυπαραγοντικά νοσήματα, εμφανίστηκαν οι πρώτες μελέτες σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος και ακολούθησαν τα επόμενα χρόνια συνολικά 8 ανάλογες μελέτες. Οι μελέτες αυτές αποδείχθηκαν μεθοδολογικά αδύναμες να αναδείξουν άλλες περιοχές με αδιαμφισβήτητη σημασία στην αιτιοπαθογένεια της νόσου. Δύο δεδομένα ανέτρεψαν την εικόνα αυτή την τελευταία 5ετία: η δυνατότητα διενέργειας μελετών σύνδεσης υψηλής πυκνότητας και η ανάπτυξη μεθόδων που επιτρέπουν μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος.

2.2.2. Μελέτες συσχέτισης με υποψήφια γονίδια. Μέχρι σήμερα, έχει διερευνηθεί η πιθανή συμβολή >100 γονιδίων στην προδιάθεση για ΣΚΠ. Η αναζήτηση υποψηφίων γονιδίων έχει στηριχθεί σε μεγάλο βαθμό στην αυτοάνοση θεωρία της αιτιοπαθογένειας της νόσου και αφορά στην πλειονότητά τους γονίδια του ανοσοποιητικού συστήματος. Σε μικρότερο βαθμό έχουν μελετηθεί και δομικά γονίδια της μυελίνης. Ένας εμπειριστατωμένος κατάλογος όλων των γονιδίων που έχουν μελετηθεί έχει συνταχθεί και είναι διαθέσιμος στο διαδίκτυο.³³ Η επιμέρους ανεξάρτητη

αξιολόγηση όλων αυτών των μελετών αποτελεί εξαιρετικά δύσκολο εγχείρημα. Όταν όμως συνδυαστούν οι εκτιμήσεις πολλαπλών ανασκοπήσεων του θέματος αυτού στη διεθνή βιβλιογραφία, προκύπτουν ορισμένα σημαντικά συμπεράσματα.^{8,9,34-39} Το μόνο αδιαμφισβήτητο εύρημα, το οποίο έχει πολλές φορές και σε διαφορετικούς πληθυσμούς επιβεβαιωθεί, είναι η συσχέτιση με τα αντιγόνα μείζονος ιστοσυμβατότητας. Για ένα μικρό αριθμό γονιδίων έχουν προκύψει θετικά ευρήματα σε περισσότερες από μία μελέτες. Για την πλειονότητα των γονιδίων οι μελέτες ήταν αρνητικές ή μια αρχικά θετική μελέτη δεν επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια.

Αντιγόνα μείζονος ιστοσυμβατότητας (HLA): Η συσχέτιση της ΣΚΠ με το σύμπλεγμα HLA αποτελεί εύρημα γνωστό εδώ και 30 χρόνια, παρατηρήθηκε πρώτα με ορολογικές μεθόδους πολύ πριν από την έλευση της μοριακής γενετικής στο προσκήνιο, και συνιστά ένα από τα βασικότερα επιχειρήματα υπέρ της αυτοάνοσης αιτιολογίας της νόσου. Αρχικά, παρατηρήθηκε συσχέτιση με τα αντιγόνα A3 και B7 του HLA class I και στη συνέχεια πιο ισχυρή συσχέτιση με τα αντιγόνα DR2 του HLA class II.⁴⁰⁻⁴³ Η συσχέτιση αυτή συγκεκριμενοποιήθηκε με μοριακές μεθόδους για τον απλότυπο DRB1*1501, DQA1*0102, DQB1*0602.^{44,45} Έχει υπολογιστεί ότι το HLA μπορεί να ερμηνεύσει το 17-62% της γενετικής προδιάθεσης για ΣΚΠ.⁴³ Η ισχυρή όμως ανισορροπία σύνδεσης στην περιοχή αυτή δεν έχει επιτρέψει, τουλάχιστον στο βορειοευρωπαϊκό πληθυσμό, να προσδιοριστεί το συγκεκριμένο γονίδιο προδιάθεσης.⁸ Σε μεσογειακούς πληθυσμούς παρατηρήθηκε συσχέτιση με διαφορετικούς απλότυπους DR3 και DR4 και, συγκεκριμένα, τους DRB1*0405-DQA1*0501-DQB1*0301 και DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201.⁴⁶

Γονίδια των οποίων η συμμετοχή είναι αμφιλεγόμενη: Για τα ακόλουθα γονίδια προέκυψαν θετικά δεδομένα συσχέτισης περισσότερο από μία φορά, χωρίς όμως να λείπουν και αρκετές αρνητικές αναφορές: γονίδιο υποδοχέα Τ-λεμφοκυττάρων (TCR β variable region locus),⁴⁷⁻⁴⁹ γονίδιο CTLA-4,^{50,51} γονίδιο της βασικής πρωτεΐνης της μυελίνης (MBP), για το οποίο η συσχέτιση περιορίζεται σε απομονωμένο φινλανδικό πληθυσμό,^{52,53} και γονίδιο της βαριάς αλυσού της ανοσοσφαιρίνης (immunoglobulin heavy chain variable region).^{54,55}

Γονίδια για τα οποία οι μελέτες ήταν κατά κύριο λόγο αρνητικές: Τα ακόλουθα γονίδια μελετήθηκαν σε διαφορετικούς πληθυσμούς, με ευρήματα που ήταν στην πλειονότητά τους αρνητικά: TCR-α, γ και δ, IL-1, 2, 4 και 10, IL-1ra, ILR-2, 4 και 5, IFN α, β και γ, TNF, γονίδια συμπληρώματος, CCR5, TGF-β1 και β2, ICAM-1, PECAM-1, MAG και PLP.^{8,9,34,37}

Πρόσφατα δεδομένα με ιδιαίτερο ενδιαφέρον: Δεδομένης

της περιορισμένης επιτυχίας των μελετών συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων, τα τελευταία χρόνια έγινε προσπάθεια από αρκετές ερευνητικές ομάδες να βελτιωθεί η μεθοδολογία των ερευνών αυτών. Με βάση λειτουργικά και τοπογραφικά δεδομένα μελετήθηκε ταυτόχρονα σημαντικός αριθμός πολυμορφικών δεικτών σε μεγάλο αριθμό υποψηφίων γονιδίων, ακολουθώντας συχνά σχεδιασμό πολλαπλών διαφορικών σταδίων και επιβεβαίωση σε ανεξάρτητες ομάδες ασθενών. Μέχρι στιγμής, έχουν προκύψει ενδιαφέροντα δεδομένα για τα ακόλουθα γονίδια: LAG 3, IL-7R,⁵⁶ NOS2A,⁵⁷ JAG1 και POU2AF1.⁵⁸

Ολοκληρώνοντας την ενότητα των μελετών συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων, αξίζει να σημειωθεί ότι, μέχρι αρκετά πρόσφατα, η πλειονότητά τους γινόταν σε σχετικά μικρά δείγματα ασθενών και μαρτύρων (200-300 συνολικά), με αποτέλεσμα να μην είναι μεθοδολογικά δυνατόν να ανιχνευτεί η συμβολή γονιδίων με σχετικά μικρή συμμετοχή στην προδιάθεση.⁵⁹ Το αποτέλεσμα είναι ο πολύ μεγάλος αριθμός μελετών με στατιστικό σφάλμα τύπου II, δηλαδή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Δεν είναι διόλου απίθανο, λοιπόν, σημαντικός αριθμός γονιδίων να έχει αποκλειστεί άδικα.

2.2.3. Μελέτες σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος. Όπως προαναφέρθηκε, στα μέσα της δεκαετίας του 1990 αναπτύχθηκαν μη παραμετρικές μέθοδοι, που επέτρεπαν μελέτες σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος σε γενετικά σύνθετα (πολυγονιδιακά) νοσήματα. Έτσι, το 1996 εμφανίστηκαν ταυτόχρονα οι τρεις πρώτες μελέτες στη ΣΚΠ, σε πληθυσμούς οικογενειών με τη νόσο από το Ηνωμένο Βασίλειο, τις ΗΠΑ, τη Γαλλία και τον Καναδά.⁶⁰⁻⁶² Ακολούθησε ένα χρόνο μετά μια μελέτη στο φινλανδικό πληθυσμό.⁶³ Το 2001 δημοσιεύτηκε μια μετα-ανάλυση των τριών πρώτων μελετών.⁶⁴ Στην περίοδο 2001-2003 δημοσιεύτηκαν πέντε ακόμα αντίστοιχες μελέτες σε πληθυσμούς από την Ιταλία, τη Σαρδηνία, τη Σκανδιναβία, την Αυστραλία και την Τουρκία και μια επέκταση της Βρετανικής μελέτης.⁶⁵⁻⁷⁰ Το 2003 έγινε μια δεύτερη μετα-ανάλυση όλων των 10 προϋπαρχουσών μελετών, ενώ το 2004 δημοσιεύτηκε και μια επέκταση της μελέτης από τις ΗΠΑ και τη Γαλλία.^{71,72} Όλες οι μελέτες χρησιμοποίησαν γενετικούς δείκτες μικροδορυφορικού DNA, ο αριθμός των οποίων κυμαινόταν από 250-450 για όλο το γονιδίωμα, με μέση γενετική απόσταση μεταξύ τους 10,2 cM (centiMorgan). Καμιά από τις επιμέρους μελέτες δεν κατάφερε να εντοπίσει κάποια χρωμοσωμική περιοχή που να εμφανίζει αδιαμφισβήτητη γενετική σύνδεση με τη ΣΚΠ (βαθμολογία LOD $\geq 3,6$).⁷³ Στη μεγάλη μετα-ανάλυση, όμως, του 2003 αναδείχθηκε μια περιοχή με στατιστική σημαντικότητα για όλο το γονιδίωμα. Ήταν η περιοχή 6p21 του HLA, η οποία πριν από πολλά έτη είχε ήδη αναδειχθεί από τις μελέτες συσχέτισης. Παρόλα αυτά, ένας

σημαντικός αριθμός περιοχών με ενδείξεις σύνδεσης με τη νόσο αναδείχθηκε από τις επιμέρους μελέτες. Κάποιες από αυτές τις περιοχές ήταν κοινές σε περισσότερες από μία μελέτες, άλλες εμφάνιζαν πληθυσμιακή ειδικότητα, ενώ άλλες αναδεικνύονταν μόνο στις μετα-αναλύσεις. Ο πίνακας 2 συνοψίζει τα δεδομένα αυτά.

Τα ευρήματα από το σύνολο των μελετών ανάλυσης σύνδεσης στη ΣΚΠ δεν ήταν τελικά τα αναμενόμενα. Μετά από μια τεράστια προσπάθεια, που διήρκεσε σχεδόν μία δεκαετία, δεν αναδείχθηκαν με αδιαμφισβήτητη σημασία γονιδιακοί τύποι που δεν ήταν ήδη γνωστοί από τις μελέτες συσχέτισης. Φαίνεται, δηλαδή, ότι οι αναλύσεις σύνδεσης με τη μεθοδολογία που ακολουθήθηκε δεν είχαν την απαιτούμενη ισχύ ώστε να λύσουν το γρίφο της γονιδιακής προδιάθεσης στη ΣΚΠ. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε έναν από τους ακόλουθους λόγους: (α) η συγκεκριμένη

Πίνακας 2. Χρωμοσωμικές περιοχές που εμφάνισαν ενδείξεις σύνδεσης με σκλήρυνση κατά πλάκας σε 9 μελέτες ανάλυσης σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος και σε μία μετα-ανάλυση όλων αυτών των μελετών.^{62-69,97}

Χρωμόσωμα 1	p35, p21, q11-24, q31, q42-44
Χρωμόσωμα 2	p23, p21, p13, q24-33 , q36
Χρωμόσωμα 3	p25, p14, p26, q21-24 , q26
Χρωμόσωμα 4	p16, q12 , q24, q26-28 , q31-35
Χρωμόσωμα 5	ptel-14, p14-12, q11-13 , q13-23 , q33
Χρωμόσωμα 6	p25 , p21* , q14, q21, q22, q26, q27
Χρωμόσωμα 7	p21, p15, p14, q11, q21-22 , q32-35
Χρωμόσωμα 8	p23-21
Χρωμόσωμα 9	p24-22, q21, q34
Χρωμόσωμα 10	p15, p13-12, cen, q21-22 , q24, q26
Χρωμόσωμα 11	ptel, p15 , q22, q25
Χρωμόσωμα 12	p13, q21, q23, q24
Χρωμόσωμα 13	q14-22, q31-32, q33-34
Χρωμόσωμα 14	q32
Χρωμόσωμα 15	q21
Χρωμόσωμα 16	p13 , p11, q12, q23-24
Χρωμόσωμα 17	p13, q21, q22-24 , q25
Χρωμόσωμα 18	p11 , q21, q23
Χρωμόσωμα 19	q13
Χρωμόσωμα 20	p12
Χρωμόσωμα 21	
Χρωμόσωμα 22	q12-13
Χρωμόσωμα X	p22 , p21 , p11 , q23-28, q26

Με έντονα γράμματα οι περιοχές που εμφάνισαν ενδείξεις σύνδεσης σε περισσότερες από μία μελέτες

* Η μόνη περιοχή η οποία εμφάνισε σύνδεση που ξεπέρασε τον ουδό στατιστικής σημαντικότητας για όλο το γονιδίωμα (πρόκειται για την περιοχή του HLA· ο ουδός ξεπεράστηκε μόνο στη μετα-ανάλυση)

μεθοδολογία που ακολουθήθηκε (δηλαδή ο αριθμός και η πυκνότητα των γενετικών δεικτών) ήταν ανεπαρκής, (β) η γενετική προδιάθεση για τη νόσο οφείλεται σε αρκετά γονίδια, που το καθένα ασκεί μικρή έως μέτρια δράση και τα οποία δεν μπορεί να προσεγγιστούν με αναλύσεις σύνδεσης αλλά μόνο με μεθοδολογία συσχέτισης, (γ) το γονιδιακό υπόστρωμα που προδιαθέτει για τη νόσο διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό και χάνεται στις μετα-αναλύσεις, ενώ στις επιμέρους μελέτες δεν επαρκεί ο εκ των πραγμάτων περιορισμένος αριθμός οικογενειών, (δ) αυτό που ονομάζουμε «ΣΚΠ» αποτελεί τελικά συνδυασμό διαφορετικών νοσημάτων, τα οποία έχουν διαφορετικά μεταξύ τους γονίδια προδιάθεσης, η σημασία των οποίων χάνεται όταν οι πληθυσμοί αναμιγνύονται.

Η κατεύθυνση που πήραν οι ερευνητικές προσπάθειες την τελευταία πενταετία καθορίστηκε σε μεγάλο βαθμό από τα παραπάνω συμπεράσματα.^{64,71} Αυτό όμως κατέστη δυνατό κυρίως λόγω της ανάπτυξης μιας νέας τεχνολογίας γονοτύπησης, που έφερε επανάσταση στον ευρύτερο χώρο της μοριακής γενετικής. Πρόκειται για την τεχνολογία των μικροσυστοιχιών DNA (DNA microarrays), που επέτρεψε την ταυτόχρονη γονοτύπηση τεράστιου αριθμού πολυμορφισμών (εκατοντάδων χιλιάδων) σε ένα δείγμα.⁷⁴ Ήδη έχουν δημοσιευτεί τα αποτελέσματα δύο πολύ σημαντικών προσπαθειών στη ΣΚΠ: η πρώτη χρησιμοποίησε 10 φορές μεγαλύτερη πυκνότητα δεικτών σε μια μελέτη σύνδεσης με εξαιρετικά μεγάλο αριθμό νοσούσων οικογενειών, ενώ η δεύτερη έκανε την πρώτη μελέτη συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (full genome association screen) σε μεγάλο αριθμό διαφορετικών ευρωπαϊκών πληθυσμών.

2.2.4. Νεότερα δεδομένα στη μοριακή γενετική της σκλήρυνσης κατά πλάκας: Υψηλής πυκνότητας ανάλυση σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium 2005). Τον Ιούλιο του 2005 δημοσιεύτηκε η πρώτη και μοναδική μελέτη ανάλυσης σύνδεσης του γονιδιώματος υψηλής πυκνότητας.⁷⁵ Γονοτυπήθηκαν συνολικά 4.506 πολυμορφικοί δείκτες σε σύνολο 730 οικογενειών (1.595 ασθενείς με ΣΚΠ), 10 φορές δηλαδή περισσότεροι απ' ό,τι στις παλαιότερες μελέτες σύνδεσης. Οι περιοχές που εμφάνισαν μέγιστες βαθμολογίες LOD παραθέτονται στον πίνακα 3. Και στη μελέτη αυτή, το βασικό εύρημα αφορούσε στην περιοχή 6p21 του HLA. Αυτή τη φορά όμως η στατιστική σημαντικότητα του ευρήματος ήταν πολύ μεγαλύτερη (mean LOD score 11,7), αντικατοπτρίζοντας τη σημαντικά μεγαλύτερη ισχύ της μεθόδου. Οι αμέσως επόμενες περιοχές σε βαθμό σύνδεσης με τη νόσο δεν έφθασαν τον ουδό σημαντικότητας για όλο το γονιδίωμα. Και οι τέσσερις είχαν εντοπιστεί σε επιμέρους προηγούμενες μελέτες σύνδεσης (πίν. 2). Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων αυτής της μελέτης οδήγησε στο συμπέρασμα ότι

Πίνακας 3. Οι περιοχές με τις υψηλότερες τιμές σύνδεσης με σκλήρυνση κατά πλάκας στην πρόσφατη υψηλής πυκνότητας μελέτη ανάλυσης σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος και εκτίμηση του σχετικού κινδύνου που προσδίδουν.⁷⁵

Χρωμόσωμα	MLS	λs
6p21	11,7	1,5
17q23	2,5	1,2
5q33	2,2	1,2
20p12	1,8	1,1
3p26	1,7	1,1

MLS: Mean LOD score

λs: Σχετικός κίνδυνος εμφάνισης σκλήρυνσης κατά πλάκας

γονίδια που προδιαθέτουν για ΣΚΠ και βρίσκονται εκτός της περιοχής του HLA προσδίδουν σχετικό κίνδυνο λs < 1,2. Αυτού του επιπέδου τιμές λs θεωρείται ότι δεν επιτρέπουν στα γονίδια αυτά να εντοπιστούν με μεθόδους σύνδεσης.⁷⁵

Το σημαντικότερο, λοιπόν, συμπέρασμα από την πρόσφατη αυτή μελέτη ήταν ότι στο μέλλον οι προσεγγίσεις για τη γενετική προδιάθεση της ΣΚΠ πρέπει να βασίζονται σε μεθοδολογίες συσχέτισης σε μεγάλους πληθυσμούς ασθενών. Τονίστηκε επίσης από τους συγγραφείς ότι πολλά από τα υποψήφια γονίδια, των οποίων η συμμετοχή θεωρήθηκε στο παρελθόν αρνητική, οφείλουν να ξαναμελετηθούν κάτω από αυτό το πρίσμα. Υπό την καθοδήγηση ανάλογων συλλογισμών σχεδιάστηκε παράλληλα και η πρώτη συντονισμένη διεθνής προσπάθεια μελέτης συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος, γνωστή και με το ακρωνύμιο GAMES, η οποία περιγράφεται παρακάτω.

2.2.5. Νεότερα δεδομένα στη μοριακή γενετική της σκλήρυνσης κατά πλάκας: Μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (Genetic Analysis of Multiple Sclerosis in Europeans 2003). Τον Οκτώβριο του 2003 δημοσιεύτηκε σε ένα ειδικά αφιερωμένο τεύχος του *Journal of Neuroimmunology* η πρώτη προσπάθεια μελέτης συσχέτισης (ή, αλλιώς, ανισορροπίας σύνδεσης) ολόκληρου του γονιδιώματος στη ΣΚΠ.⁷⁶⁻⁹¹ Επρόκειτο για μια πολυκεντρική, κυρίως ευρωπαϊκή μελέτη (τα αποτελέσματα από την κάθε χώρα δημοσιεύτηκαν σε ξεχωριστές εργασίες), που χρησιμοποίησε μεθοδολογία ασθενών-μαρτύρων. Γονοτυπήθηκαν συνολικά 6.000 μικροδορυφορικοί δείκτες διασκορπισμένοι σε όλη την έκταση του γονιδιώματος, οι ίδιοι σε κάθε χώρα, με μια μεθοδολογία DNA pooling (η οποία επιτρέπει ταυτόχρονο προσδιορισμό ενός πολυμορφισμού σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων).^{92,93} Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να προσδιοριστούν τόσο γονιδιακοί τόποι προδιάθεσης κοινοί σε όλους τους πληθυσμούς, όσο και γονιδιακοί τόποι με σημασία σε μεμονωμένους πληθυσμούς.

Τα αποτελέσματα της σημαντικότερης αυτής προσπάθειας

συνοψίζονται στον πίνακα 4. Πολλοί από τους χρωμοσωμικούς τόπους που εμφάνισαν συσχέτιση με τη ΣΚΠ είχαν ήδη ανιχνευτεί στις προηγηθείσες μελέτες ανάλυσης σύνδεσης, ενώ άλλοι ήταν νέοι. Επιπλέον, κάποιοι τόποι (π.χ. οι 6p21 και 19q13) εμφάνισαν συσχέτιση σε πολλούς πληθυσμούς, ενώ άλλοι μόνο σε επιμέρους δείγματα. Περισσότερο από 80% των μελετών του GAMES ανέδειξαν συσχέτιση με την περιοχή του συμπλέγματος HLA και αυτό θεωρήθηκε ως ένδειξη αξιοπιστίας της μελέτης.⁹⁴

Παρά τη σημασία των ευρημάτων του GAMES, κάποιοι σημαντικοί περιορισμοί, που είχαν ήδη αρχίσει να διαφαίνονται κατά τη διάρκεια της μελέτης, περιόρισαν τελικά σε μεγάλο βαθμό την ισχύ της.⁹⁵ Ο πλέον σημαντικός περιορισμός αποδείχθηκε η πυκνότητα και ο αριθμός των δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν. Αυτός είχε υπολογιστεί κατά το σχεδιασμό της μελέτης με βάση τα δεδομένα που υπήρχαν τότε για το βαθμό ανισορροπίας σύνδεσης του

Πίνακας 4. Χρωμοσωμικές περιοχές που εμφάνισαν συσχέτιση με σκλήρυνση κατά πλάκας στις μελέτες συσχέτισης (ανισορροπίας σύνδεσης) ολόκληρου του γονιδιώματος.⁷⁶⁻⁹²

Χρωμόσωμα 1	p34, p33, p13, q23, q31, q43
Χρωμόσωμα 2	p36, p24, p22, p16, p13, q14, q24, q33, q34, q36
Χρωμόσωμα 3	p25, p24, p14, p13, q13, q25
Χρωμόσωμα 4	p16, p15, q28, q34, q35
Χρωμόσωμα 5	p15, q14, q13, q22, q23
Χρωμόσωμα 6	p25, p21, p13, q14, q22, q23
Χρωμόσωμα 7	p22, p13, p12, q21, q34
Χρωμόσωμα 8	q21
Χρωμόσωμα 9	p22, p21, q21
Χρωμόσωμα 10	p13, q21, q25
Χρωμόσωμα 11	q12, q13, q12, q23
Χρωμόσωμα 12	q12, q13, q15, q21, q23, q24
Χρωμόσωμα 13	q12, q14, q21
Χρωμόσωμα 14	q13, q21, q32
Χρωμόσωμα 15	q14, q21, q24, q26
Χρωμόσωμα 16	p13, p12, q22
Χρωμόσωμα 17	p13, q11, q23, q14-24
Χρωμόσωμα 18	p11, q22
Χρωμόσωμα 19	p13, q13
Χρωμόσωμα 20	p13
Χρωμόσωμα 21	q21
Χρωμόσωμα 22	q12
Χρωμόσωμα X	p11, q13, q22

Με έντονα γράμματα οι περιοχές που εμφάνισαν και ενδείξεις σύνδεσης (πίν. 2)
Με πλάγια γράμματα οι περιοχές που εμφάνισαν συσχέτιση σε περισσότερες από μία μελέτες

ανθρώπινου γονιδιώματος. Πιο πρόσφατες μελέτες, όμως, ανέδειξαν ότι ο βαθμός ανισορροπίας σύνδεσης είναι πολύ μικρότερος απ' ό,τι είχε υποθεθεί (εκτείνεται δηλαδή σε πολύ μικρότερες γενετικές αποστάσεις), με αποτέλεσμα η πυκνότητα δεικτών που χρειάζεται να είναι πολύ μεγαλύτερη. Υπολογίζεται ότι στη μελέτη GAMES έγινε έλεγχος μόνο του 1% του ανθρώπινου γονιδιώματος.⁹⁵ Επιπλέον, η μεθοδολογία του DNA rooiling εισάγει σημαντική μεταβλητότητα στις μετρήσεις, με αποτέλεσμα να μειώνεται περαιτέρω στατιστικά η δυνατότητα ανάδειξης σημαντικών συσχετίσεων. Τέλος, ο αριθμός του δείγματος (περίπου 200 ασθενείς και 200 μάρτυρες ανά χώρα) θεωρήθηκε ανεπαρκής για να αναδειχθούν γενετικοί τόποι με χαμηλή ή μέτρια συμβολή στην προδιάθεση για ΣΚΠ. Αυτοί οι τρεις βασικοί περιορισμοί, σε συνδυασμό με τα συμπεράσματα από την ανάλυση σύνδεσης υψηλής πυκνότητας, έδωσαν τις κατευθύνσεις που ακολούθησε η έρευνα για τη γενετική της ΣΚΠ την τελευταία 3ετία.

2.2.6. Το μέλλον: Υψηλής πυκνότητας μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος. Όπως προαναφέρθηκε, τα αποτελέσματα της πρόσφατης υψηλής πυκνότητας ανάλυσης σύνδεσης όλου του γονιδιώματος οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι στο μέλλον η μεθοδολογία για την ανεύρεση γονιδίων προδιάθεσης στη ΣΚΠ οφείλει να είναι μεθοδολογία συσχέτισης.⁷⁵ Επιπλέον, τα αποτελέσματα από την προσπάθεια GAMES προσδιόρισαν με πιο συγκεκριμένο τρόπο την ακριβή μεθοδολογία που οφείλει να ακολουθηθεί στις μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος, δηλαδή κατά κύριο λόγο (α) μεγάλο δείγμα και (β) μεγάλος αριθμός γενετικών δεικτών. Δεν αποτελεί έκπληξη, λοιπόν, ότι η επόμενη μεγάλη προσπάθεια, που αυτή τη στιγμή ολοκληρώνεται (τα αποτελέσματα δεν έχουν ακόμη δημοσιευτεί), είναι μια μελέτη συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος, με 100.000 πολυμορφικούς δείκτες σε τρεις ομάδες ασθενών και ελέγχου από τις ΗΠΑ, τη Σουηδία και τη Γαλλία.³⁹ Παρουσιάζει πάντως ιδιαίτερο ενδιαφέρον το ότι ήδη, προτού καν δημοσιευτούν τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, εμφανίστηκαν οι πρώτες επικριτικές φωνές, που θεωρούν ότι ούτε το δείγμα ούτε ο αριθμός των δεικτών είναι επαρκής.^{39,96} Επιπλέον, αναμένονται και τα αποτελέσματα πιο πρόσφατης μελέτης, στην οποία γονοτυπήθηκαν 500.000 δείκτες σε ομάδα 1.000 οικογενειακών «τριάδων» (ασθενών καθώς και μη πασχόντων γονέων).^{39,96}

3. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ ΚΑΤΑ ΠΛΑΚΑΣ

3.1. Το γενικό μεθοδολογικό πλαίσιο

Με τον όρο «κλινική έκφραση» γίνεται αναφορά σε μια

σειρά μετρήσιμων παραμέτρων, που άλλοτε είναι ποιοτικές, όπως για παράδειγμα η μορφή της νόσου (διαλείπουσα ή προϊούσα) ή ο τύπος της συμπτωματολογίας έναρξης (π.χ. οπτική νευρίτιδα, μυελική συνδρομή, στελεχιαία συνδρομή), και άλλοτε ποσοτικές, όπως η ηλικία έναρξης, ο ρυθμός συσσώρευσης αναπηρίας, η βαρύτητα της νόσου ή ο βαθμός προσβολής νοητικών λειτουργιών. Επικρατεί η άποψη ότι οι γενετικοί παράγοντες είναι πιθανότερο να επηρεάζουν μακροπρόθεσμες παραμέτρους της νόσου (όπως η συσσώρευση αναπηρίας) παρά διαλείπουσες παραμέτρους (όπως η συχνότητα υποτροπών σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα), που πιθανότατα εξαρτώνται από περιστασιακούς εξωγενείς παράγοντες.^{10,97}

Η σημαντικότερη κλινική παράμετρος στη ΣΚΠ είναι η εγκατάσταση μόνιμης αναπηρίας. Όσο ταχύτερη είναι αυτή, τόσο βαρύτερη θεωρείται η νόσος. Είναι κατανοητό, λοιπόν, ότι έχει γίνει εκτεταμένη προσπάθεια να προσδιοριστεί ο καλύτερος τρόπος υπολογισμού της βαρύτητας της νόσου σε μελέτες γενετικής συσχέτισης. Σε προοπτικές μελέτες, συχνά υπολογίζεται ο χρόνος μέχρι την εγκατάσταση ενός προαποφασισμένου βαθμού αναπηρίας, όπως αυτός υπολογίζεται από την κλίμακα EDSS (expanded disability status scale).⁹⁸ Σε «συγχρονικές» μελέτες ασθενών-μαρτύρων έχει χρησιμοποιηθεί ο δείκτης εξέλιξης (progression index, EDSS/διάρκεια νόσου), που όμως είναι αξιόπιστος μόνο για ασθενείς με διάρκεια νόσου >5 ετών.⁹⁹ Το 2005 προτάθηκε ένας νέος δείκτης βαρύτητας της νόσου, το MSSS (multiple sclerosis severity score), που αποτελεί ουσιαστικά έναν αλγόριθμο, βασισμένο σε 10.000 ασθενείς με ΣΚΠ, ο οποίος επιτρέπει να προσαρμοστεί ο βαθμός αναπηρίας με βάση τη διάρκεια της νόσου.¹⁰⁰

3.2. Τα δεδομένα από τη γενετική επιδημιολογία

Όπως αναπτύχθηκε στις προηγούμενες ενότητες της ανασκόπησης αυτής, η συμμετοχή γενετικών παραγόντων στον κίνδυνο εμφάνισης ΣΚΠ είναι πλέον αδιαμφισβήτητη. Τα τελευταία χρόνια έχουν συσσωρευτεί σημαντικά επιδημιολογικά δεδομένα, που αναδεικνύουν τη σημασία γενετικών παραγόντων και στην κλινική έκφραση της νόσου.¹⁰ Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι οι οικογενείς και οι σποραδικές μορφές της νόσου δεν διαφέρουν σημαντικά σε κλινικά χαρακτηριστικά, όπως η ηλικία έναρξης, η μορφή της νόσου (διαλείπουσα ή προϊούσα) και η βαρύτητα της νόσου. Ενδέχεται λοιπόν τα «νοσοτροποποιητικά» γονίδια να είναι κοινά τόσο για τις οικογενείς όσο και για τις σποραδικές μορφές ΣΚΠ.¹⁰¹

Επιδημιολογικές μελέτες κλινικής έκφρασης της νόσου σε οικογένειες με πολλαπλούς πάσχοντες έχουν διαπιστώσει ότι υπάρχει ενδοοικογενειακή συμφωνία ως προς

το φύλο, τη μορφή και τη βαρύτητα της νόσου.^{15,102,103} Σε αρκετές μελέτες έχει διαπιστωθεί και συμφωνία ως προς την ηλικία έναρξης της νόσου,^{104,105} μολονότι σε άλλες αυτό δεν έχει επιβεβαιωθεί.^{15,102} Τέλος, έχει παρατηρηθεί συμφωνία και ως προς τη συμπτωματολογία έναρξης.¹⁰⁶ Με βάση, δηλαδή, τις μέχρι σήμερα επιδημιολογικές ενδείξεις, η ενδοοικογενειακή συμφωνία φαινοτύπων στη ΣΚΠ είναι σημαντικά μεγαλύτερη απ' ό,τι θα μπορούσε να συμβεί κατά τύχη. Είναι λοιπόν αναμενόμενο να έχουν δημοσιευτεί και αρκετές μελέτες μοριακής γενετικής, με σκοπό τον προσδιορισμό των γονιδιακών παραμέτρων του φαινομένου αυτού.

3.3. Τα δεδομένα από τη μοριακή γενετική

3.3.1. Μεθοδολογικό πλαίσιο. Στη μελέτη των γονιδιακών παραμέτρων που μπορεί να συμβάλλουν στην κλινική έκφραση της ΣΚΠ θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν τόσο μελέτες συσχέτισης όσο και μελέτες ανάλυσης σύνδεσης. Τα σχετικά πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της κάθε μεθόδου ισχύουν για τη μελέτη του φαινοτύπου, όπως ισχύουν για τη μελέτη της προδιάθεσης. Στην περίπτωση όμως της μελέτης του φαινοτύπου, υπάρχουν και επιπλέον λόγοι που συνηγορούν υπέρ της χρήσης μεθοδολογίας συσχέτισης: (α) Στις μελέτες κλινικής έκφρασης της νόσου το δείγμα εκ των πραγμάτων κατανέμεται σε επιμέρους ομάδες, με αποτέλεσμα να απαιτείται ακόμα μεγαλύτερος συνολικός αριθμός περιστατικών. Αυτό επιτυγχάνεται πολύ πιο εύκολα στις μελέτες συσχέτισης με τη συλλογή της συχνής σποραδικής μορφής της νόσου παρά στις μελέτες σύνδεσης, όπου απαιτείται η συλλογή των σπάνιων οικογενών περιστατικών. (β) Τα αποτελέσματα των αναλύσεων συσχέτισης είναι πιο κατάλληλα για πολυπαραγοντική (multivariate) ανάλυση, που επιτρέπει τον έλεγχο άλλων, εκτός από τις γονιδιακές, μεταβλητών που σχετίζονται με την κλινική έκφραση της νόσου.¹⁰

Όπως και στις μελέτες προδιάθεσης, η ισχύς των μελετών φαινοτύπου εξαρτάται άμεσα από το μέγεθος του δείγματος. Ο ελάχιστος δυνατός αριθμός περιστατικών που επιτρέπει την αποφυγή σφάλματος τύπου II έχει υπολογιστεί με βάση θεωρητικά πρότυπα και για ποσοτικά χαρακτηριστικά.¹⁰

3.3.2. Μελέτες συσχέτισης με υποψήφια γονίδια. Μέχρι σήμερα, έχει μελετηθεί η πιθανή συμβολή αρκετών γονιδίων στην κλινική έκφραση της ΣΚΠ. Ο αριθμός αυτός βέβαια είναι πολύ μικρότερος απ' ό,τι στις μελέτες προδιάθεσης. Ένας σημαντικός αριθμός μελετών αφορά στο HLA, δεδομένης της σημασίας του στην προδιάθεση για τη νόσο. Πολλές όμως είναι και οι εργασίες που έχουν διερευνήσει το ρόλο του γονιδίου της απολιποπρωτεΐνης E.

Αντιγόνα μείζονος ιστοσυμβατότητας (HLA): Η παρουσία του HLA-DR2 συσχετίζεται με μικρότερη ηλικία έναρξης της νόσου και μειώνει το χρόνο μετατροπής ενός κλινικά μεμονωμένου συνδρόμου σε κλινικά βέβαιη ΣΚΠ.^{107,108} Όσον αφορά στη μορφή της νόσου, η παρουσία του HLA-DR2 συσχετίζεται τόσο με τη διαλείπουσα όσο και με την πρωτοπαθώς προϊούσα μορφή της νόσου.^{107,109,110} Τα δεδομένα όμως σχετικά με τη βαρύτητα της νόσου είναι αμφιλεγόμενα, με αρκετές μελέτες να αναδεικνύουν συσχέτιση του DR2 με βαρύτερη πρόγνωση και άλλες με ηπιότερη πρόγνωση.¹¹¹⁻¹¹³ Επιπλέον, σε μια μετα-ανάλυση παρατηρήθηκε σαφής συσχέτιση του HLA-DR4 και του HLA-DR1 με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης διαλείπουσας, όχι όμως και πρωτοπαθώς προϊούσας μορφής της νόσου.¹⁰

Γονίδιο απολιποπρωτεΐνης E (APOE): Το γονίδιο της APOE ήρθε στο προσκήνιο της Κλινικής Νευρολογίας όταν διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του αλληλίου ε4 σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου Alzheimer.¹¹⁴ Παράλληλα, ένας αριθμός μελετών ανέδειξε την πιθανή εμπλοκή της APOE σε μηχανισμούς αποκατάστασης βλαβών στο κεντρικό και το περιφερικό νευρικό σύστημα.^{115,116} Ακολούθησε σημαντικός αριθμός μελετών στη ΣΚΠ, όπου διερευνήθηκε η ενδεχόμενη συμμετοχή της APOE στην κλινική έκφραση της νόσου και, πιο συγκεκριμένα, στη βαρύτητα της νόσου. Στον πίνακα 5 συνοψίζονται οι μελέτες αυτές.^{98,117-133} Αρκετές ανέδειξαν ότι η παρουσία του αλληλίου ε4 συσχετίζεται με βαρύτερη πορεία της νόσου.^{98,117,120,122,124} Σε σημαντικό αριθμό όμως άλλων μελετών αυτό δεν επιβεβαιώθηκε.^{118,119,125,126,129,130,132} Τα αντικρουόμενα αυτά δεδομένα ενδέχεται να οφείλονται σε γενετικές ιδιαιτερότητες επιμέρους πληθυσμών, διαφορές στον αριθμό των περιστατικών που μελετήθηκαν, διαφορές στη συχνότητα του ε4 αλληλίου ή και διαφορές στη μεθοδολογία μέτρησης της βαρύτητας της νόσου. Πρόσφατη μελέτη στον ελληνικό πληθυσμό, που έκανε χρήση του MSSS, δεν επιβεβαίωσε την επιβαρυντική δράση του αλληλίου ε4.¹³⁴ Σε μια μεγάλη πρόσφατη μετα-ανάλυση σε 3.299 ασθενείς με ΣΚΠ, όπου επίσης χρησιμοποιήθηκε το MSSS, δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση του ε4 με τη βαρύτητα της νόσου.¹³⁵

Η συμμετοχή της APOE στην κλινική έκφραση της ΣΚΠ έχει διερευνηθεί και ως προς τη νοητική λειτουργία. Σε μια πρώτη μελέτη δεν ανευρέθηκε θετική συσχέτιση του ε4 με τη γνωσιακή έκπτωση.¹³⁶ Σε επέκταση της μελέτης αυτής σε σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό περιστατικών διαπιστώθηκε σε άρρηνες πάσχοντες αύξηση της συχνότητας γνωσιακής έκπτωσης σε φορείς του ε4.¹³⁷ Η επίπτωση του ε4 στη νοητική λειτουργία ασθενών με ΣΚΠ έχει μελετηθεί πρόσφατα και στον ελληνικό πληθυσμό, όπου παρατηρήθηκε συσχέτιση με διαταραχές της λεκτικής μάθησης, αλλά όχι με άλλους τομείς των νοητικών λειτουργιών.¹³⁸

Πίνακας 5. Μελέτες που διερεύνησαν τη συμβολή της APOE στη βαρύτητα της σκλήρυνσης κατά πλάκας (ΣΚΠ).^{98,117-133,135}

Δημοσίευση	Ημερομηνία	Πολυμορφισμοί	Δείγμα	Αντικείμενο μελέτης	Συμπεράσματα
Evangelou et al*	1999	ε2-4	95	Διχοτομημένο δείγμα με βάση EDSS και διάρκεια νόσου	Συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Ferri et al	1999	ε2-4, 491 πολυμορφισμός υποκινητή	161	Διχοτομημένο δείγμα με βάση EDSS και διάρκεια νόσου	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Weatherby et al	2000	ε2-4	370	Διχοτομημένο δείγμα με βάση EDSS μετά από 10 έτη	Μη συσχέτιση αλληλίων με εξέλιξη
Hogh et al*	2000	ε2-4	240	Λογαριθμοποιημένος δείκτης εξέλιξης	Συσχέτιση ε4 με ταχύτερη εξέλιξη
Ballerini et al	2000	ε2-4	66	Χρόνος μέχρι προϊούσα πορεία	ε2 δρα προστατευτικά
Chapman et al*	2001	ε2-4	205	Χρόνος μέχρι EDSS 4,0 και 6,0	Συσχέτιση ε4 με ταχύτερη εξέλιξη
Fazekas et al*	2001	ε2-4	374	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Schmidt et al	2002	ε2-4, 7 SNPs	614	Διχοτομημένο δείγμα με βάση EDSS και διάρκεια νόσου	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη, συσχέτιση ε2 με ηπιότερη εξέλιξη
Masterman T*	2002	ε2-4	264	Σύγκριση μεταξύ καλοήθους και κακοήθους ΣΚΠ	Σχετικός κίνδυνος που προσδίδει το ε4 αυξάνει στα αντίθετα άκρα
Schreiber et al	2002	ε2-4	70	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Μη συσχέτιση μεταξύ αλληλίων και εξέλιξης
Savettieri et al	2003	ε2-4	428	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Μη συσχέτιση μεταξύ αλληλίων και εξέλιξης
Guerrero et al	2003	ε2-4	42	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Niino et al	2003	ε2-4	135	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Kantarci et al	2004	ε2-4, 3 πολυμορφισμοί υποκινητή	221	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη, συσχέτιση ε2 με ηπιότερη εξέλιξη σε γυναίκες
Santos et al	2004	ε2-4	243	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Zakrewska-Pniewska et al	2004	ε2-4	117	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη)	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Zwemmer et al	2004	ε2-4	408	Δείγμα μελετήθηκε με βάση το δείκτη εξέλιξης (EDSS/έτη) και το χρόνο μέχρι EDSS 6,0	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη ή ε2 με ηπιότερη εξέλιξη
Cocco et al	2005	ε2-4	871	Χρόνος μέχρι EDSS 6,0	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη
Burwick et al	2006	ε2-4	3.299 (μετα-ανάλυση)	MSSS	Μη συσχέτιση ε4 με βαρύτερη εξέλιξη ή ε2 με ηπιότερη εξέλιξη

* Σημειώνονται οι μελέτες που ανέδειξαν θετική συσχέτιση της παρουσίας του ε4 με βαρύτερη εξέλιξη της νόσου
EDSS: Expanded disability status scale, MSSS: Multiple sclerosis severity score, SNPs: Πολυμορφισμοί μονήρους νουκλεοτιδίου

Άλλα γονίδια: Από σημαντικό αριθμό άλλων γονιδίων που μελετήθηκαν, προέκυψαν θετικά ευρήματα σε περισσότερες από μία μελέτες για το γονίδιο της ιντερλευκίνης 1β (IL-1β), του οποίου το αλληλίο-2 έχει συσχετιστεί με ηπιότερη πορεία της νόσου,^{139,140} καθώς και για το γονίδιο του ανταγωνιστή του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 1 (IL-

1ra), του οποίου επίσης το αλληλίο-2 έχει θεωρηθεί ευνοϊκός προγνωστικός δείκτης.^{141,142} Για τα ακόλουθα γονίδια προέκυψαν αρνητικά αποτελέσματα ή τα αρχικά θετικά αποτελέσματα δεν έχουν επιβεβαιωθεί ακόμη: TNFα, TNFR, B7-1, CTLA-4, ESR1, GSTM-1, GSTP-1, GSTT-1, IFNγ, IgG, IgG FcR, IL-10, IL-4, MPO, PECAM-1, TGFβ.¹⁰

4. ΕΠΙΛΟΓΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ

Η ΣΚΠ παραμένει μια νόσος άγνωστης αιτιολογίας. Στην αιτιοπαθογένειά της πιστεύεται ότι συμβάλλουν τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Την τελευταία 25ετία αποσαφηνίστηκε η συμβολή των γενετικών παραγόντων στην προδιάθεση για τη νόσο. Αυτοί θεωρούνται σχεδόν αποκλειστικά υπεύθυνοι για την οικογενή εμφάνιση της νόσου. Σε μοριακό επίπεδο, είναι αδιαμφισβήτητη η συσχέτιση συγκεκριμένων απλοτύπων των γονιδίων του συμπλέγματος HLA με την προδιάθεση για εμφάνιση της νόσου. Όμως, οι μελέτες σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος που έχουν ολοκληρωθεί μέχρι σήμερα, ιδίως η πολύ πρόσφατη μελέτη σύνδεσης υψηλής πυκνότητας, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι, εκτός του HLA, η συμβολή άλλων γονιδίων στην εμφάνιση της νόσου είναι περιορισμένης έκτασης. Κατ'επέκταση, είναι πλέον ευρέως αποδεκτό ότι το μέλλον των γονιδιακών μελετών στη ΣΚΠ βρίσκεται στις μελέτες συσχέτισης, οι οποίες έχουν μεγαλύτερη ισχύ να αναδειξουν τέτοια φαινόμενα περιορισμένης έκτασης. Στον ορίζοντα διακρίνονται δύο κατευθύνσεις. Η πρώτη, στηριζόμενη στις πλέον πρόσφατες τεχνολογικές κατακτήσεις των μικροσυστοιχιών DNA, οδηγεί στις μελέτες συσχέτισης (ανισορροπίας σύνδεσης) ολόκληρου του γονιδιώματος σε μεγάλα δείγματα ασθενών και μαρτύρων με γονοτύπηση μερικών εκατοντάδων χιλιάδων πολυμορφικών δεικτών. Η δεύτερη, που σε μεγάλο βαθμό θα στηριχθεί στα ευρήματα της πρώτης και η οποία είναι λιγότερο απαιτητική τεχνικά, οδηγεί σε μεθοδολογικά άρτιες κλασικές μελέτες συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων σε πολύ μεγάλο αριθμό ασθενών και μαρτύρων (σημαντικά μεγαλύτερο απ'ότι στο παρελθόν). Παράγοντες που θα διαδραματίσουν επίσης σημαντικό ρόλο θα είναι η προσπάθεια προσέγγισης της κλινικής ετερογένειας της νόσου, καθώς και η μελέτη γενετικά απομονωμένων πληθυσμών, αμφότερα με σκοπό την ενίσχυση της συμβολής επιμέρους γενετικών παραγόντων. Με την αύξηση του αριθμού των περιστατικών που θα μελετώνται, αλλά και την προσπάθεια περαιτέρω ανάλυσης των κλινικών παραμέτρων της νόσου, θα ανοίξει ταυτόχρονα και ο δρόμος για μια περισσότερο εκτεταμένη και σε βάθος μελέτη της συμβολής του γενετικού παράγοντα στην κλινική έκφραση της νόσου.

Επιλεκτικό γλωσσάριο γενετικών όρων^{143,144}

Αλληλόμορφο ή αλληλία (allele): Μία από τις εναλλακτικές μορφές ενός συγκεκριμένου γονιδίου.

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR): Τεχνική με την οποία μια μικρή αλληλουχία DNA μπορεί να ενισχυθεί κατά $>10^6$ φορές, με τη βοήθεια δύο πλευρικών ολιγονουκλεοτιδίων εκκινητών σε επαναλαμβανόμενους κύκλους

πολλαπλασιασμού με DNA πολυμεράση.

Ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium): Η τάση συγκεκριμένων συνδυασμών αλληλομόρφων, σε δύο ή περισσότερους συνδεδεμένους γενετικούς τόπους, να εμφανίζονται μαζί στο ίδιο χρωμόσωμα συχνότερα απ'ότι θα αναμενόταν στατιστικά.

Απλότυπος (haplotype): Η αναφορά σε δύο ή περισσότερα γονίδια που βρίσκονται σε γειτονικές θέσεις του ίδιου χρωμοσώματος. Συχνά, ο όρος χρησιμοποιείται για να χαρακτηρίσει τα γειτονικά γονίδια του συμπλέγματος HLA στο χρωμόσωμα 6.

Αποτέλεσμα LOD (LOD score): Δύο γονίδια θεωρείται ότι είναι συνδεδεμένα, όταν η πιθανότητα σύνδεσης προς την πιθανότητα μη σύνδεσης είναι $\geq 1000:1$. Για λόγους πρακτικής, ο λόγος των πιθανοτήτων αυτών εκφράζεται με τον αρνητικό δεκαδικό λογάριθμο, που φέρεται ως LOD score.

Γενετικός δείκτης (genetic marker): Γενετικός τόπος με άμεσα ταξινομήσιμα αλληλόμορφα, ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε γενετικές μελέτες.

Γενετικός τόπος (locus): Η θέση ενός γονιδίου πάνω σε ένα χρωμόσωμα.

Μη παραμετρική ανάλυση σύνδεσης (non-parametric linkage): Σε πολυπαραγοντικά νοσήματα όπου δεν είναι γνωστό το πρότυπο μεταβίβασης, χρησιμοποιούνται μη παραμετρικές μέθοδοι για τον υπολογισμό του αποτελέσματος LOD. Αυτό συχνά φέρεται ως αποτέλεσμα NPL (non parametric linkage).

Μικροδορυφορικοί δείκτες (microsatellite markers): Πολυμορφικοί γενετικοί τόποι που αποτελούνται από μεταβαλλόμενες επαναλήψεις δι-, τρι- ή τετρανουκλεοτιδίων.

Μικροσυστοιχίες DNA (microarrays): Υψηλής πυκνότητας συστοιχίες μορίων DNA για παράλληλες αναλύσεις υβριδοποίησης. Οι μικροσυστοιχίες είναι σχεδιασμένες με σκοπό να επιτρέπουν την ταυτόχρονη διενέργεια πολλών πειραμάτων υβριδοποίησης.

Παραμετρική ανάλυση σύνδεσης (parametric linkage): Για να υπολογιστεί το αποτέλεσμα LOD με παραμετρικές μεθόδους, είναι απαραίτητο να είναι γνωστό εκ των προτέρων το πρότυπο μεταβίβασης της νόσου.

Πολυμορφισμός (polymorphism): Φαινόμενο κατά το οποίο, σε έναν πληθυσμό, εμφανίζονται δύο ή περισσότερες γενετικά καθορισμένες μορφές (αλληλόμορφα) για κάποια γενετική θέση, με συχνότητα τουλάχιστον 1%.

Πολυμορφισμός μονήρους νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism, SNP): Πολυμορφισμός σε κάποια γενετική θέση, που οφείλεται σε μεταβολή ενός μόνο νουκλεοτιδίου.

Συμφωνία (concordance): Όταν και τα δύο μέλη ενός ζεύγους διδύμων εμφανίζουν την ίδια νόσο, τότε λέμε ότι οι δίδυμοι βρίσκονται σε συμφωνία.

Σύνδεση (linkage): Φαινόμενο κατά το οποίο δύο γονίδια βρίσκονται στο ίδιο χρωμόσωμα, σε τόσο μικρή απόσταση μεταξύ τους, ώστε να συγκληρονομούνται.

Συσχέτιση (association): Η συνύπαρξη σε έναν πληθυσμό δύο χαρακτηριστικών (φαινοτυπικών ή γενετικών ή ενός φαινοτυπικού και ενός γενετικού) συχνότερα απ' ό,τι θα αναμενόταν από την ανεξάρτητη εμφάνιση του κάθε χαρα-

κτηριστικού. Δεν πρέπει να συγχέεται με τη «σύνδεση».

Σχετικός κίνδυνος (relative risk): Αποτελεί το λόγο του κινδύνου στην ομάδα των εκτεθειμένων διά του κινδύνου στην ομάδα των μη εκτεθειμένων σε ένα συγκεκριμένο παράγοντα. Στην περίπτωση οικογενών νοσημάτων υπολογίζεται ο σχετικός κίνδυνος επανεμφάνισης της νόσου σε συγγενή (recurrence risk, λς).

DNA pooling: Μέθοδος γονοτύπησης, η οποία επιτρέπει ταυτόχρονο προσδιορισμό ενός πολυμορφικού δείκτη σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

ABSTRACT

Recent findings in the genetics of multiple sclerosis

G. KOUTSIS, M. PANAS

Department of Neurology, University of Athens, "Aeginition" Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2008, 25(2):135–150

The pathogenesis of multiple sclerosis (MS) is influenced by both genetic and environmental factors. Genetic factors can affect MS susceptibility or clinical expression. Findings from well-designed, population-based epidemiological studies in the past 20 years (family, twin, adoptee, half-sibling and conjugal MS studies) have clarified the contribution of genetic factors to MS susceptibility. At the molecular level, candidate gene association studies of the past 15 years have correlated specific HLA gene haplotypes with the disease. Genome-wide linkage studies in the past 10 years, especially the recently completed high-density linkage study, have made clear that, apart from the HLA locus, the contribution of other genes to susceptibility is limited. In the past 5 years, therefore, it has been widely accepted that the future of MS genetic research lies with association studies, which are more powerful for identifying genes with moderate contribution to risk. Based on recent DNA microarray technology, the first genome-wide association (linkage disequilibrium) screens in MS have been completed. The findings, published in 2003, confirmed the results of linkage studies and further identified genomic regions of possible importance for disease susceptibility. Studies in larger patient cohorts using much higher density markers are under way, and their results are eagerly awaited in the near future. Well-designed candidate gene studies in large patient cohorts have also been completed recently and have identified new possible MS susceptibility genes. As a result of the higher patient numbers studied and the further analysis of clinical parameters of MS, over the last 10 years an increased and in-depth study of the genetic influence on disease expression has been witnessed. Although definite conclusions cannot yet be drawn, the most interesting findings concern the influence of HLA and apolipoprotein E on significant disease parameters, such as disease course and severity. Factors that will be important in the future include accounting for the clinical heterogeneity of MS and studying genetically isolated populations, in an effort to enhance the contribution of different genetic factors.

Key words: Association study, Gene, Genetics, Linkage study, Multiple sclerosis

Βιβλιογραφία

- LUCCHINETTI CF, BRUCK W, LASSMANN H. Pathology and pathogenesis of multiple sclerosis. In: McDonald WI, Noseworthy JH (eds) *Multiple sclerosis 2*. Butterworth Heinemann, Philadelphia, 2003:93–113
- KANTARCI O, WINGERCHUK D. Epidemiology and natural history of multiple sclerosis: New insights. *Curr Opin Neurol* 2006, 19:248–254
- MURRAY TJ. *Multiple sclerosis: The history of a disease*. Demos, New York, 2005:278
- CURTIUS F. *Multiple Sklerose und Erbanlage*. G. Thieme, Leipzig, 1933
- McKAY RP. The familial occurrence of multiple sclerosis and its implications. In: *Multiple sclerosis and the demyelinating diseases. Proceedings of the association for research in nervous*

- and mental diseases*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1950
6. MYRIANTHOPOULOS NC. Genetic aspects of multiple sclerosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW (eds) *Handbook of clinical neurology*. North Holland, Amsterdam, 1970
 7. ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΣ Δ. *Γενετική και νευρικό σύστημα*. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα, 1979
 8. DYMENT DA, EBERS GC, SADOVNICK AD. Genetics of multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2004, 3:104–110
 9. DYMENT DA, SADOVNICK AD, EBERS GC. Genetics of multiple sclerosis. *Hum Mol Genet* 1997, 6:1693–1698
 10. KANTARCI OH, De ANDRADE M, WEINSHENKER BG. Identifying disease modifying genes in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2002, 123:144–159
 11. ΤΣΑΚΑΝΙΚΑΣ Κ. Επιδημιολογία και γενετική της σκλήρυνσης κατά πλάκας. *Εγκέφαλος* 1981, 18:337–347
 12. ΠΕΤΡΙΔΟΥ Μ, ΚΑΖΗΣ Α. Γενετικοί παράγοντες στη σκλήρυνση κατά πλάκας. *Γαληνός* 1997, 39:480–484
 13. ΣΦΑΓΓΟΣ Κ. Επιδημιολογία της σκλήρυνσης κατά πλάκας. Στο: Σφάγγος Κ, Τριανταφύλλου Ν (Συντ.) *Σκλήρυνση κατά πλάκας*. Αθήνα, 2001:11–18
 14. SADOVNICK AD, BAIRD PA, WARD RH. Multiple sclerosis: Updated risks for relatives. *Am J Med Genet* 1988, 29:533–541
 15. ROBERTSON NP, FRASER M, DEANS J, CLAYTON D, WALKER N, COMPSTON DA. Age-adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis. *Brain* 1996, 119:449–455
 16. CARTON H, VLIETINCK R, DEBRUYNE J, De KEYSER J, D'HOOGHE MB, LOOS R ET AL. Risks of multiple sclerosis in relatives of patients in Flanders, Belgium. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997, 62:329–333
 17. MONTOMOLI C, PROKOPENKO I, CARIA A, FERRAI R, MANDER A, SEAMAN S ET AL. Multiple sclerosis recurrence risk for siblings in an isolated population of Central Sardinia, Italy. *Genet Epidemiol* 2002, 22:265–271
 18. KENEALY SJ, PERICAK-VANCE MA, HAINES JL. The genetic epidemiology of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:7–12
 19. CURTIUS F, SPEER H. Multiple Sklerose und Erbanlage. *Z Gesamte Neurol Psychiatr* 1937, 160:226–245
 20. THUMS K. Das Eblichkeitsproblem bei der multiplen Sklerose. *Muenchen Med Wochenschr* 1939, 86:1634–1638
 21. MACKAY RP, MYRIANTHOPOULOS NC. Multiple sclerosis in twins and their relatives: Final report. *Arch Neurol* 1966, 15:449–462
 22. WILLER CJ, DYMENT DA, RISCH NJ, SADOVNICK AD, EBERS GC, CANADIAN COLLABORATIVE STUDY GROUP. Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100:12877–12882
 23. MUMFORD CJ, WOOD NW, KELLAR-WOOD H, THORPE JW, MILLER DH, COMPSTON DA. The British Isles survey of multiple sclerosis in twins. *Neurology* 1994, 44:11–15
 24. SADOVNICK AD, ARMSTRONG H, RICE GP, BULMAN D, HASHIMOTO L, PATY DW ET AL. A population-based study of multiple sclerosis in twins: Update. *Ann Neurol* 1993, 33:281–285
 25. EBERS GC, SADOVNICK AD, RISCH NJ. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. *Nature* 1995, 377:150–151
 26. SADOVNICK AD, EBERS GC, DYMENT DA, RISCH NJ. Evidence for genetic basis of multiple sclerosis. The Canadian Collaborative Study Group. *Lancet* 1996, 347:1728–1730
 27. EBERS GC, SADOVNICK AD, DYMENT DA, YEE IM, WILLER CJ, RISCH N. Parent-of-origin effect in multiple sclerosis: Observations in half-siblings. *Lancet* 2004, 363:1773–1774
 28. SCHAPIRA K, POSKANZER DC, MILLAR H. Familial and conjugal multiple sclerosis. *Brain* 1966, 86:315–332
 29. ROBERTSON NP, O'RIORDAN JI, CHATAWAY J, KINGSLEY DP, MILLER DH, CLAYTON D ET AL. Offspring recurrence rates and clinical characteristics of conjugal multiple sclerosis. *Lancet* 1997, 349:1587–1590
 30. EBERS GC, YEE IM, SADOVNICK AD, DUQUETTE P. Conjugal multiple sclerosis: Population-based prevalence and recurrence risks in offspring. Canadian Collaborative Study Group. *Ann Neurol* 2000, 48:927–931
 31. RISCH N, MERIKANGAS K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 1996, 273:1516–1517
 32. CORDELL HJ, CLAYTON DG. Genetic association studies. *Lancet* 2005, 366:1121–1131
 33. UNIVERSITY OF CALIFORNIA AT SAN FRANCISCO. Multiple sclerosis candidate genes: Research papers. http://www.ucsf.edu/msdb/r_ms_candidate_genes.html
 34. EBERS GC, SADOVNICK AD. Association studies in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1994, 53:117–122
 35. WALSH EC, GUSCHWAN-McMAHON S, DALY MJ, HAFLE DA, RIOUX JD. Genetic analysis of multiple sclerosis. *J Autoimmun* 2003, 21:111–116
 36. HENSIEK A, ROXBURGH R, COMPSTON A. Genetics of multiple sclerosis. In: McDonald WI, Noseworthy JH (eds) *Multiple sclerosis 2*. Butterworth Heinemann, Philadelphia, 2003:75–92
 37. OKSENBERG JR, HAUSER SL. Genetics of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 2005, 23:61–75
 38. HILLERT J. Multiple sclerosis: Post-linkage genetics. *Clin Neurol Neurosurg* 2006, 108:220–222
 39. SAWCER S. A new era in the genetic analysis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2006, 19:237–241
 40. NAITO S, NAMEROW N, MICKEY MR, TERASAKI PI. Multiple sclerosis: Association with HL-A3. *Tissue Antigens* 1972, 2:1–4
 41. JERSILD C, SVEJGAARD A, FOG T. HL-A antigens and multiple sclerosis. *Lancet* 1972, i:1240–1241
 42. COMPSTON DA, BATCHELOR JR, McDONALD WI. B-lymphocyte alloantigens associated with multiple sclerosis. *Lancet* 1976, ii:1261–1265
 43. HAINES JL, TERWEDOW HA, BURGESS K, PERICAK-VANCE MA, RIMMLER JB, MARTIN ER ET AL. Linkage of the MHC to familial multiple sclerosis suggests genetic heterogeneity. The Multiple Sclerosis Genetics Group. *Hum Mol Genet* 1998, 7:1229–1234
 44. HAUSER SL, FLEISCHNICK E, WEINER HL, MARCUS D, AWDEH Z, YUNIS EJ ET AL. Extended major histocompatibility complex haplotypes in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 1989, 39:275–277
 45. ALLEN M, SANDBERG-WOLLHEIM M, SJOGREN K, ERLICH HA, PETERSON U, GYLLENSTEN U. Association of susceptibility to multiple sclerosis in Sweden with HLA class II DRB1 and DQB1 alleles. *Hum Immunol* 1994, 39:41–48
 46. MARROSU MG, MURRU R, MURRU MR, COSTA G, ZAVATTARI P, WHALEN M ET AL. Dissection of the HLA association with multiple sclerosis in the founder-isolated population of Sardinia. *Hum*

- Mol Genet* 2001, 10:2907–2916
47. SEBOUN E, ROBINSON MA, DOOLITTLE TH, CIULLA TA, KINDT TJ, HAUSER SL. A susceptibility locus for multiple sclerosis is linked to the T cell receptor beta chain complex. *Cell* 1989, 57:1095–1100
 48. WEI S, CHARMLEY P, BIRCHFIELD RI, CONCANNON P. Human T-cell receptor V beta gene polymorphism and multiple sclerosis. *Am J Hum Genet* 1995, 56:963–969
 49. HOCKERTZ MK, PATY DW, BEALL SS. Susceptibility to relapsing-progressive multiple sclerosis is associated with inheritance of genes linked to the variable region of the TcR beta locus: Use of affected family-based controls. *Am J Hum Genet* 1998, 62:373–385
 50. KANTARCI OH, HEBRINK DD, ACHENBACH SJ, ATKINSON EJ, WALISZEWSKA A, BUCKLE G ET AL. CTLA4 is associated with susceptibility to multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 134:133–141
 51. DYMENT DA, STECKLEY JL, WILLER CJ, ARMSTRONG H, SADOVNICK AD, RISCH N ET AL. No evidence to support CTLA-4 as a susceptibility gene in MS families: The Canadian Collaborative Study. *J Neuroimmunol* 2002, 123:193–198
 52. TIENARI PJ, WIKSTROM J, SAJANTILA A, PALO J, PELTONEN L. Genetic susceptibility to multiple sclerosis linked to myelin basic protein gene. *Lancet* 1992, 340:987–991
 53. EOLI M, PANDOLFO M, MILANESE C, GASPARINI P, SALMAGGI A, ZEVIANI M. The myelin basic protein gene is not a major susceptibility locus for multiple sclerosis in Italian patients. *J Neurol* 1994, 241:615–619
 54. HASHIMOTO LL, WALTER MA, COX DW, EBERS GC. Immunoglobulin heavy chain variable region polymorphisms and multiple sclerosis susceptibility. *J Neuroimmunol* 1993, 44:77–83
 55. WALTER MA, GIBSON WT, EBERS GC, COX DW. Susceptibility to multiple sclerosis is associated with the proximal immunoglobulin heavy chain variable region. *J Clin Invest* 1991, 87:1266–1273
 56. ZHANG Z, DUVEFELT K, SVENSSON F, MASTERMAN T, JONASDOTTIR G, SALTER H ET AL. Two genes encoding immune-regulatory molecules (LAG3 and IL7R) confer susceptibility to multiple sclerosis. *Genes Immun* 2005, 6:145–152
 57. BARCELLOS LF, BEGOVICH AB, REYNOLDS RL, CAILLIER SJ, BRASSAT D, SCHMIDT S ET AL. Linkage and association with the NOS2A locus on chromosome 17q11 in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2004, 55:793–800
 58. THE GAMES COLLABORATIVE GROUP. Linkage disequilibrium screening for multiple sclerosis implicates JAG1 and POU2AF1 as susceptibility genes in Europeans. *J Neuroimmunol* 2006, 179:108–116
 59. HATTERSLEY AT, MCCARTHY MI. What makes a good genetic association study? *Lancet* 2005, 366:1315–1323
 60. SAWCER S, JONES HB, FEAKES R, GRAY J, SMALDON N, CHATAWAY J ET AL. A genome screen in multiple sclerosis reveals susceptibility loci on chromosome 6p21 and 17q22. *Nat Genet* 1996, 13:464–468
 61. HAINES JL, TER-MINASSIAN M, BAZYK A, GUSELLA JF, KIM DJ, TERWEDOW H ET AL. A complete genomic screen for multiple sclerosis underscores a role for the major histocompatibility complex. The Multiple Sclerosis Genetics Group. *Nat Genet* 1996, 13:469–471
 62. EBERS GC, KUKAY K, BULMAN DE, SADOVNICK AD, RICE G, ANDERSON C ET AL. A full genome search in multiple sclerosis. *Nat Genet* 1996, 13:472–476
 63. KUOKKANEN S, GSCHWEND M, RIOUX JD, DALY MJ, TERWILLIGER JD, TIENARI PJ ET AL. Genomewide scan of multiple sclerosis in Finnish multiplex families. *Am J Hum Genet* 1997, 61:1379–1387
 64. THE TRANSATLANTIC MULTIPLE SCLEROSIS GENETICS COOPERATIVE. A meta-analysis of genomic screens in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2001, 7:3–11
 65. BROADLEY S, SAWCER S, D'ALFONSO S, HENSIEK A, CORADDU F, GRAY J ET AL. A genome screen for multiple sclerosis in Italian families. *Genes Immun* 2001, 2:205–210
 66. CORADDU F, SAWCER S, D'ALFONSO S, LAI M, HENSIEK A, SOLLA E ET AL. A genome screen for multiple sclerosis in Sardinian multiplex families. *Eur J Hum Genet* 2001, 9:621–626
 67. AKESSON E, OTURAI A, BERG J, FREDRIKSON S, ANDERSEN O, HARBO HF ET AL. A genome-wide screen for linkage in Nordic sibpairs with multiple sclerosis. *Genes Immun* 2002, 3:279–285
 68. BAN M, STEWART GJ, BENNETTS BH, HEARD R, SIMMONS R, MARANIAN M ET AL. A genome screen for linkage in Australian sibling-pairs with multiple sclerosis. *Genes Immun* 2002, 3:464–469
 69. ERAKSOY M, KURTUNCU M, AKMAN-DEMIR G, KILINC M, GEDIZLIOGLU M, MIRZA M ET AL. A whole genome screen for linkage in Turkish multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:17–24
 70. HENSIEK AE, ROXBURGH R, SMILIE B, CORADDU F, AKESSON E, HOLMANS P ET AL. Updated results of the United Kingdom linkage-based genome screen in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:25–30
 71. GAMES AND THE TRANSATLANTIC MULTIPLE SCLEROSIS GENETICS COOPERATIVE. A meta-analysis of whole genome linkage screens in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:39–46
 72. KENEALY SJ, BABRON MC, BRADFORD Y, SCHNETZ-BOUTAUD N, HAINES JL, RIMMLER JB ET AL. A second-generation genomic screen for multiple sclerosis. *Am J Hum Genet* 2004, 75:1070–1078
 73. DAWN TEARE M, BARRETT JH. Genetic linkage studies. *Lancet* 2005, 366:1036–1044
 74. GERHOLD D, RUSHMORE T, CASKEY CT. DNA chips: Promising toys have become powerful tools. *Trends Biochem Sci* 1999, 24:168–173
 75. SAWCER S, BAN M, MARANIAN M, YEO TW, COMPSTON A, KIRBY A ET AL. A high-density screen for linkage in multiple sclerosis. *Am J Hum Genet* 2005, 77:454–467
 76. ERAKSOY M, HENSIEK A, KURTUNCU M, AKMAN-DEMIR G, KILINC M, GEDIZLIOGLU M ET AL. A genome screen for linkage disequilibrium in Turkish multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:129–132
 77. ALIZADEH M, GENIN E, BABRON MC, BIREBENT B, COURNU-REBEIX I, YAOUANQ J ET AL. Genetic analysis of multiple sclerosis in Europeans: French data. *J Neuroimmunol* 2003, 143:74–78
 78. GORIS A, SAWCER S, VANDENBROECK K, CARTON H, BILLIAU A, SE-TAKIS E ET AL. New candidate loci for multiple sclerosis susceptibility revealed by a whole genome association screen in a Belgian population. *J Neuroimmunol* 2003, 143:65–69
 79. BAN M, SAWCER SJ, HEARD RN, BENNETTS BH, ADAMS S, BOOTH D ET AL. A genome-wide screen for linkage disequilibrium in Australian HLA-DRB1*1501 positive multiple sclerosis pa-

- tients. *J Neuroimmunol* 2003, 143:60–64
80. SANTOS M, PINTO-BASTO J, RIO ME, SA MJ, VALENCA A, SA A ET AL. A whole genome screen for association with multiple sclerosis in Portuguese patients. *J Neuroimmunol* 2003, 143:112–115
 81. BIELECKI B, MYCKO MP, TRONCZYNSKA E, BIENIEK M, SAWCER S, SETAKIS E ET AL. A whole genome screen for association in Polish multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2003, 143:107–111
 82. LIGUORI M, SAWCER S, SETAKIS E, COMPSTON A, GIORDANO M, D'ALFONSO S ET AL. A whole genome screen for linkage disequilibrium in multiple sclerosis performed in a continental Italian population. *J Neuroimmunol* 2003, 143:97–100
 83. MARTINS SILVA B, THORLACIUS T, BENEDIKTSSON K, PEREIRA C, FOSSDAL R, JONSSON HH ET AL. A whole genome association study in multiple sclerosis patients from north Portugal. *J Neuroimmunol* 2003, 143:116–119
 84. JONASDOTTIR A, THORLACIUS T, FOSSDAL R, JONASDOTTIR A, BENEDIKTSSON K, BENEDIKZ J ET AL. A whole genome association study in Icelandic multiple sclerosis patients with 4804 markers. *J Neuroimmunol* 2003, 143:88–92
 85. LAAKSONEN M, JONASDOTTIR A, FOSSDAL R, RUUTIAINEN J, SAWCER S, COMPSTON A ET AL. A whole genome association study in Finnish multiple sclerosis patients with 3669 markers. *J Neuroimmunol* 2003, 143:70–73
 86. CORADDU F, LAI M, MANCOSU C, COCCO E, SAWCER S, SETAKIS E ET AL. A genome-wide screen for linkage disequilibrium in Sardinian multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:120–123
 87. GOERTSCHES R, VILLOSLADA P, COMABELLA M, MONTALBAN X, NAVARRO A, DE LA CONCHA EG ET AL. A genomic screen of Spanish multiple sclerosis patients reveals multiple loci associated with the disease. *J Neuroimmunol* 2003, 143:124–128
 88. HARBO HF, DATTA P, OTURAI A, RYDER LP, SAWCER S, SETAKIS E ET AL. Two genome-wide linkage disequilibrium screens in Scandinavian multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2003, 143:101–106
 89. HEGGARTY S, SAWCER S, HAWKINS S, McDONNELL G, DROOGAN A, VANDENBROECK K ET AL. A genome wide scan for association with multiple sclerosis in a N. Irish case control population. *J Neuroimmunol* 2003, 143:93–96
 90. RAJDA C, BENCSEK K, SERES E, JONASDOTTIR A, FOLTYNIET, SAWCER S ET AL. A genome-wide screen for association in Hungarian multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:84–87
 91. WEBER A, INFANTE-DUARTE C, SAWCER S, SETAKIS E, BELLMANN-STROBL J, HENSIEK A ET AL. A genome-wide German screen for linkage disequilibrium in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003, 143:79–83
 92. SAWCER S, MARANIAN M, SETAKIS E, CURWEN V, AKESSON E, HENSIEK A ET AL. A whole genome screen for linkage disequilibrium in multiple sclerosis confirms disease associations with regions previously linked to susceptibility. *Brain* 2002, 125:1337–1347
 93. BARCELLOS LF, KLITZ W, FIELD LL, TOBIAS R, BOWCOCK AM, WILSON R ET AL. Association mapping of disease loci, by use of a pooled DNA genomic screen. *Am J Hum Genet* 1997, 61:734–747
 94. SAWCER S, COMPSTON A. The genetic analysis of multiple sclerosis in Europeans: Concepts and design. *J Neuroimmunol* 2003, 143:13–16
 95. YEO TW, ROXBURGH R, MARANIAN M, SINGLEHURST S, GRAY J, HENSIEK A ET AL. Refining the analysis of a whole genome linkage disequilibrium association map: The United Kingdom results. *J Neuroimmunol* 2003, 143:53–59
 96. BAN M. Whole genome screening in MS. Teaching course 6.3,ECTRIMS, 2006
 97. MASTERMANT, HILLERT J. Genetics: Susceptibility and expressivity. In: Cook SD (ed) *Handbook of multiple sclerosis*. Taylor & Francis, New York, 2006:41–63
 98. CHAPMAN J, VINOKUROV S, ACHIRON A, KARUSSIS DM, MITOSEK-SZEWCZYK K, BIRNBAUM M ET AL. APOE genotype is a major predictor of long-term progression of disability in MS. *Neurology* 2001, 56:312–316
 99. WEINSHENKER BG. The natural history of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 1995, 13:119–146
 100. ROXBURGH RH, SEAMAN SR, MASTERMANT T, HENSIEK AE, SAWCER SJ, VUKUSIC S ET AL. Multiple sclerosis severity score: Using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology* 2005, 64:1144–1151
 101. EBERS GC, KOOPMAN WJ, HADER W, SADOVNICK AD, KREMENCHUTZKY M, MANDALFINO P ET AL. The natural history of multiple sclerosis: A geographically based study: 8 familial multiple sclerosis. *Brain* 2000, 123:641–649
 102. WEINSHENKER BG, BULMAN D, CARRIERE W, BASKERVILLE J, EBERS GC. A comparison of sporadic and familial multiple sclerosis. *Neurology* 1990, 40:1354–1358
 103. BRASSAT D, AZAIS-VUILLEMIN C, YAOUANQ J, SEMANA G, REBOUL J, COURNU I ET AL. Familial factors influence disability in MS multiplex families. French Multiple Sclerosis Genetics Group. *Neurology* 1999, 52:1632–1636
 104. SADOVNICK AD, HASHIMOTO LL, HASHIMOTO SA. Heterogeneity in multiple sclerosis: Comparison of clinical manifestations in relatives. *Can J Neurol Sci* 1990, 17:387–390
 105. SADOVNICK AD, YEE IM, EBERS GC, RISCH NJ. Effect of age at onset and parental disease status on sibling risks for MS. *Neurology* 1998, 50:719–723
 106. BARCELLOS LF, OKSENBERG JR, GREEN AJ, BUCHER P, RIMMLER JB, SCHMIDT S ET AL. Genetic basis for clinical expression in multiple sclerosis. *Brain* 2002, 125:150–158
 107. MASTERMANT T, LIGERS A, OLSSON T, ANDERSSON M, OLERUP O, HILLERT J. HLA-DR15 is associated with lower age at onset in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2000, 48:211–219
 108. HAUSER SL, OKSENBERG JR, LINCOLN R, GAROVOY J, BECK RW, COLE SR ET AL. Interaction between HLA-DR2 and abnormal brain MRI in optic neuritis and early MS. Optic Neuritis Study Group. *Neurology* 2000, 54:1859–1861
 109. WEINSHENKER BG, SANTRACH P, BISSONET AS, McDONNELL SK, SCHAID D, MOORE SB ET AL. Major histocompatibility complex class II alleles and the course and outcome of MS: A population-based study. *Neurology* 1998, 51:742–747
 110. McDONNELL GV, MAWHINNEY H, GRAHAM CA, HAWKINS SA, MIDDLTON D. A study of the HLA-DR region in clinical subgroups of multiple sclerosis and its influence on prognosis. *J Neurol Sci* 1999, 165:77–83

111. ENGELL T, RAUN NE, THOMSEN M, PLATZ P. HLA and heterogeneity of multiple sclerosis. *Neurology* 1982, 32:1043–1046
112. DUQUETTE P, DECARY F, PLEINES J, BOIVIN D, LAMOUREUX G, COSGROVE JB ET AL. Clinical sub-groups of multiple sclerosis in relation to HLA: DR alleles as possible markers of disease progression. *Can J Neurol Sci* 1985, 12:106–110
113. MADIGAND M, OGER JJ, FAUCHET R, SABOURAUD O, GENETET B. HLA profiles in multiple sclerosis suggest two forms of disease and the existence of protective haplotypes. *J Neurol Sci* 1982, 53:519–529
114. STRITTMATTER WJ, SAUNDERS AM, SCHMECHEL D, PERICAK-VANCE M, ENGHILD J, SALVESEN GS ET AL. Apolipoprotein E: High-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:1977–1981
115. BOYLES JK, NOTTERPEK LM, ANDERSON LJ. Accumulation of apolipoproteins in the regenerating and remyelinating mammalian peripheral nerve. Identification of apolipoprotein D, apolipoprotein A-IV, apolipoprotein E, and apolipoprotein A-I. *J Biol Chem* 1990, 265:17805–17815
116. SEITZ A, KRAGOL M, AGLow E, SHOWE L, HEBER-KATZ E. Apolipoprotein E expression after spinal cord injury in the mouse. *J Neurosci Res* 2003, 71:417–426
117. EVANGELOU N, JACKSON M, BEESON D, PALACE J. Association of the APOE epsilon4 allele with disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 67:203–205
118. FERRI C, SCIACCA FL, VEGLIA F, MARTINELLI F, COMI G, CANAL N ET AL. APOE epsilon2-4 and -491 polymorphisms are not associated with MS. *Neurology* 1999, 53:888–889
119. WEATHERBY SJ, MANN CL, DAVIES MB, CARTHY D, FRYER AA, BOGGILD MD ET AL. Polymorphisms of apolipoprotein E; outcome and susceptibility in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2000, 6:32–36
120. HOGH P, OTURAI A, SCHREIBER K, BLINKENBERG M, JORGENSEN OS, RYDER L ET AL. Apolipoprotein E and multiple sclerosis: Impact of the epsilon-4 allele on susceptibility, clinical type and progression rate. *Mult Scler* 2000, 6:226–230
121. BALLERINI C, CAMPANI D, ROMBOLA G, GRAN B, NACMIAS B, AMATO MP ET AL. Association of apolipoprotein E polymorphism to clinical heterogeneity of multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 2000, 296:174–176
122. FAZEKAS F, STRASSER-FUCHS S, KOLLEGGER H, BERGERT, KRISTOFERITSCH W, SCHMIDT H ET AL. Apolipoprotein E epsilon 4 is associated with rapid progression of multiple sclerosis. *Neurology* 2001, 57:853–857
123. SCHMIDT S, BARCELLOS LF, DeSOMBRE K, RIMMLER JB, LINCOLN RR, BUCHER P ET AL. Association of polymorphisms in the apolipoprotein E region with susceptibility to and progression of multiple sclerosis. *Am J Hum Genet* 2002, 70:708–717
124. MASTERMANT, ZHANG Z, HELLGREN D, SALTER H, ANVRET M, LILIUS L ET AL. APOE genotypes and disease severity in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2002, 8:98–103
125. SCHREIBER K, OTURA AB, RYDER LP, MADSEN HO, JORGENSEN OS, SVEJGAARD A ET AL. Disease severity in Danish multiple sclerosis patients evaluated by MRI and three genetic markers (HLA-DRB1*1501, CCR5 deletion mutation, apolipoprotein E). *Mult Scler* 2002, 8:295–298
126. SAVETTIERI G, ANDREOLI V, BONAVIDA S, CITTADELLA R, CALTAGIRONE C, FAZIO MC ET AL. Apolipoprotein E genotype does not influence the progression of multiple sclerosis. *J Neurol* 2003, 250:1094–1098
127. GUERRERO AL, BUENO V, HERNANDEZ MT, MARTIN-SERRADILLA JI, CARRASCO E, CUADRADO I. Apolipoprotein E polymorphism as a predictor of progression of multiple sclerosis. *Neurologia* 2003, 18:146–148 (Spanish)
128. NIINO M, KIKUCHI S, FUKAZAWA T, YABE I, TASHIRO K. Polymorphisms of apolipoprotein E and Japanese patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2003, 9:382–386
129. KANTARCI OH, HEBRINK DD, ACHENBACH SJ, PITTOCK SJ, ALTINTAS A, SCHAEFER-KLEIN JL ET AL. Association of APOE polymorphisms with disease severity in MS is limited to women. *Neurology* 2004, 62:811–814
130. SANTOS M, DO CARMO COSTA M, EDITE RIO M, JOSE SA M, MONTEIRO M, VALENCA A ET AL. Genotypes at the APOE and SCA2 loci do not predict the course of multiple sclerosis in patients of Portuguese origin. *Mult Scler* 2004, 10:153–157
131. ZAKRZEWSKA-PNIEWSKA B, STYCZYNSKA M, PODLECKA A, SAMOCKA R, PEPLONSKA B, BARCIKOWSKA M ET AL. Association of apolipoprotein E and myeloperoxidase genotypes to clinical course of familial and sporadic multiple sclerosis. *Mult Scler* 2004, 10:266–271
132. ZWEMMER JN, VAN VEENT, VAN WINSEN L, VAN KAMP GJ, BARKHOF F, POLMAN CH ET AL. No major association of ApoE genotype with disease characteristics and MRI findings in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2004, 10:272–277
133. COCCO E, SOTGIU A, COSTA G, MURRU MR, MANCOSU C, MURRU R ET AL. HLA-DR, DQ and APOE genotypes and gender influence in Sardinian primary progressive MS. *Neurology* 2005, 64:564–566
134. KOUTSIS G, PANAS M, KARADIMA G, MANDELLOS D, SFAGOS C, POTAGAS ET AL. APOE genotypes in Greek MS patients: No effect on the MS severity score. *J Neurol* 2007, 254:394–395
135. BURWICK RM, RAMSAY PP, HAINES JL, HAUSER SL, OKSENBERG JR, PERICAK-VANCE MA ET AL. APOE epsilon variation in multiple sclerosis susceptibility and disease severity: Some answers. *Neurology* 2006, 66:1373–1383
136. OLIVERI RL, CITTADELLA R, SIBILIA G, MANNA I, VALENTINO P, GAMBARDELLA A ET AL. APOE and risk of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1999, 100:290–295
137. SAVETTIERI G, MESSINA D, ANDREOLI V, BONAVIDA S, CALTAGIRONE C, CITTADELLA R ET AL. Gender-related effect of clinical and genetic variables on the cognitive impairment in multiple sclerosis. *J Neurol* 2004, 251:1208–1214
138. KOUTSIS G, PANAS M, GIOGKARAKI E, POTAGAS C, KARADIMA G, SFAGOS C ET AL. APOE epsilon4 is associated with impaired verbal learning in patients with MS. *Neurology* 2007, 68:546–549
139. SCHRIJVER HM, CRUSIUS JB, UITDEHAAG BM, GARCIA GONZALEZ MA, KOSTENSE PJ, POLMAN CH ET AL. Association of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist genes with disease severity in MS. *Neurology* 1999, 52:595–599
140. KANTARCI OH, ATKINSON EJ, HEBRINK DD, McMURRAY CT, WEINSHENKER BG. Association of two variants in IL-1beta and IL-1

- receptor antagonist genes with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2000, 106:220–227
141. DE LA CONCHA EG, ARROYO R, CRUSIUS JB, CAMPILLO JA, MARTIN C, VARELA DESEIJAS E ET AL. Combined effect of HLA-DRB1*1501 and interleukin-1 receptor antagonist gene allele 2 in susceptibility to relapsing/remitting multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1997, 80:172–178
142. FEAKES R, SAWCER S, BROADLEY S, CORADDU F, ROXBURGH R, GRAY J ET AL. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2000, 105:96
143. ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΣ Δ, ΠΑΝΑΣ Μ, ΚΑΡΑΔΗΜΑ Γ, ΚΛΑΔΗ Α. *Γενετική*. Εκδόσεις Ελληνικής Νευρολογικής Εταιρείας, Αθήνα, 1999
144. THOMPSON MW, McINNES, WILLARD HF. *Thompson & Thompson Ιατρική γενετική*. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2001

Corresponding author:

G. Koutsis, Department of Neurology, University of Athens, "Aeginition" Hospital, 74 Vasilissis Sophias Ave., GR-115 28 Athens, Greece
e-mail: gkoutsis2@otenet.gr