



**Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Επιστημών Υγείας
Τμήμα Ιατρικής**



**Πανεπιστημιακή Νευρολογική Κλινική
Διευθυντής / Καθηγητής: κ. Παπαδημητρίου Αλέξανδρος**

**Κλινικό Εργαστήριο Τομέα Νευρολογίας & Αισθητηρίων Οργάνων
Μονάδα Νευροεπιστημών
Εργαστήριο Νευρογενετικής**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**“ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΩΝ
ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΜΕ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΚΑΣ”**

**Κωνσταντίνος Κ. Αγγελάκης
Νευρολόγος**

Λάρισα, 2011

Κατάθεση θέματος: Αριθμός Πρωτοκόλλου 4125/29-05-2002
Έγκριση 1η γενική συνέλευση ειδικής σύνθεσης: 29-05-2002
Έναρξη: 30-05-2002

“Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα”.

(Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2)

Τριμελής Επιτροπή Αξιολόγησης - Παρακολούθησης

- 1) **Παπαδημητρίου Αλέξανδρος**
Νευρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (*επιβλέπων*)
Καθηγητής
Τμήμα Ιατρικής
- 2) **Χατζηγεωργίου Γεώργιος**
Καθηγητής Νευρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Αναπληρωτής
Τμήμα Ιατρικής
- 3) **Κόλλια Παναγούλα**
Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ανθρώπου
Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών
Επίκουρος
Τμήμα Βιολογίας

Επταμελής Επιτροπή Αξιολόγησης

- 1) **Παπαδημητρίου Αλέξανδρος**
Νευρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Καθηγητής
Τμήμα Ιατρικής
- 2) **Χατζούλης Δημήτριος**
Οφθαλμολογίας
Θεσσαλίας
Ομότιμος Καθηγητής
Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου
- 3) **Σταθάκης Νικόλαος**
Καθηγητής Παθολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Ομότιμος
Τμήμα Ιατρικής
- 4) **Χατζηγεωργίου Γεώργιος**
Καθηγητής Νευρολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Αναπληρωτής
Τμήμα Ιατρικής

- 5) **Τσέζου Ασπασία** Αναπληρώτρια
Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 6) **Ζιντζαράς Ηλίας** Αναπληρωτής
Καθηγητής Βιομαθηματικών-Βιομετρίας Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 7) **Τσιρώνη Ευαγγελία** Επίκουρος
Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας-Νευροοφθαλμολογίας Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Αφιερώνεται:

Στη σύζυγό μου **Μαρία**, που είναι το χαμόγελο στη ζωή μου.

Στις πανέμορφες κόρες μου **Ζωή-Μαρία** και **Κλειώ**,
που η γέννησή τους έδωσε νόημα στη ζωή μου.

Στους γονείς μου **Κλεάνθη** και **Μαίρη**,
που είναι πάντα δίπλα μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	9
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	10
ABSTRACT	12
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
ΟΡΙΣΜΟΣ	15
ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	15
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	18
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	19
Γεωγραφικοί παράγοντες	19
Δημογραφικοί παράγοντες	23
Φύλο	23
Φυλή	24
Μετανάστευση	25
Λοιμώδεις παράγοντες	26
Κοινωνικοπολιτισμικοί παράγοντες	27
ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	28
Μελέτες οικογενειών ασθενών και διδύμων	28
Γονιδιακές μελέτες	31
ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	34
ΔΟΜΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ – ΜΥΕΛΙΝΗ	34
ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	36
ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ	38
Η δράση του μονοξειδίου του Αζώτου	46
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ – ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΕΝΑΡΞΗΣ	48
Κινητικές διαταραχές	49
Αισθητικές διαταραχές	49
Διαταραχές από τα κρανιακά νεύρα	49
Διαταραχές από το αυτόνομο νευρικό σύστημα	51
Γνωσιακές διαταραχές	51
ΔΙΑΓΝΩΣΗ	53
ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	57
ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ – ΜΟΡΦΕΣ – ΠΡΟΓΝΩΣΗ	58
ΠΟΡΕΙΑ	58
ΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ ΣΚΠ	59
Με εξάρσεις και υφέσεις	59
Πρωτοπαθώς προϊούσα	60
Δευτεροπαθώς προϊούσα	60
Προϊούσα με εξάρσεις	60
ΣΠΑΝΙΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΣΚΠ	61

Η «ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΑ» ΤΗΣ ΟΠΤΙΚΗΣ ΝΕΥΡΙΤΙΔΑΣ - ΚΛΙΝΙΚΑ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ (CIS)	62
ΠΡΟΓΝΩΣΗ	63
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ	64
ΠΡΟΣΔΟΚΙΜΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ	66
ΘΕΡΑΠΕΙΑ	68
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΩΝ ΩΣΕΩΝ	69
ΠΡΟΦΥΛΑΚΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ	70
Ιντερφερόνες-β (INF-β)	70
Glatimer acetate (Copaxone)	71
Ενδοφλέβια χορήγηση ανοσοσφαιρινών (IVIgs)	72
Ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες	73
Μονοκλωνικά αντισώματα έναντι μορίων προσκόλλησης (Tysabri)	73
Μιτοξανδρόνη	75
Αζαθειοπρίνη	76
Κυκλοφωσφαμίδη	76
Μεθοτρεξάτη	76
Δυνητικοί νέοι παράγοντες	76
Αντιμεταβολίτες	77
Cladribine	77
Teriflunomide	77
Αντι Β-λεμφοκυτταρικές θεραπείες	78
Rituximab (Mabthera, Rituxan)	78
Ataricept	78
Φάρμακα που παρεμποδίζουν την κυκλοφορία & μετανάστευση Τ-λεμφοκυττάρων	78
FTY720 (Fingolimod)	78
Φάρμακα που μειώνουν τα λευκοκύτταρα	79
Alemtuzumab (CAMPATH)	79
Daclizumab (Zenarax)	79
Θεραπίες από του στόματος με όχι ξεκάθαρο μηχανισμό	80
Φουμαρικό οξύ (BG00012)	80
Laquinimod	80
Στατίνες	80
Οιστρογόνα	80
Εμβολιασμός με Τ-κύτταρα	80
Νευροπροστατευτικοί και νευροτροφικοί παράγοντες	81
Μεταμόσχευση αιμοποιητικών προβαθμίδων (HSCT)	82
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ	82
Αντιμετώπιση του αισθήματος κόπωσης	83
Αντιμετώπιση της σπαστικότητας	83
Αντιμετώπιση της μυϊκής αδυναμίας	84
Αντιμετώπιση του χρόνιου και παροξυσμικού άλγους	84
Αντιμετώπιση των διαταραχών ούρησης	85

Αντιμετώπιση του τρόμου	85
Αντιμετώπιση των σεξουαλικών δυσλειτουργιών	85
Αντιμετώπιση άλλων συμπτωμάτων	86
ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ	86
ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ	86
ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ	88
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΕΣ (IL)	88
Ιντερλευκίνη-1 (IL-1)	91
Κύτταρα παραγωγής της IL-1	92
Παράγοντες που επηρεάζουν την σύνθεση και δράση της IL-1	92
Υποδοχείς της IL-1	94
Αναστολείς υποδοχέων της IL-1	94
Βιολογικές και καταβολικές επιδράσεις της IL-1	95
Κυτταρικές δράσεις της IL-1	97
B και T λεμφοκύτταρα	97
Ηπατοκύτταρα	97
Ενδοθηλιακά κύτταρα	98
Αγγειακές λείες μυϊκές ίνες	98
Λιποκύτταρα	98
Κύτταρα αρθρικής κοιλότητας, οστεοκύτταρα και χονδροκύτταρα	98
Ινοβλάστες	99
Κύτταρα σπειράματος (μακροφάγα, μεσαγγειακά κύτταρα, πολυμορφοπύρρηνα)	99
IL-1 και ΚΝΣ	99
IL-1 και ΣΚΠ	100
IL-2	101
Υποδοχείς της IL-2	101
Κύτταρα παραγωγής της IL-2	102
Κυτταρικές δράσεις της IL-2	102
Ρόλος της IL-2 στην ανοσία και την παθογένεση	103
IL-2 και ΚΝΣ	104
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	105
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	106
ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΑΡΤΥΡΙΕΣ	106
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	107
ΤΕΧΝΙΚΕΣ	108
ΒΑΣΙΚΕΣ (ΚΟΙΝΕΣ) ΓΙΑ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥΣ	108
Απομόνωση (extraction) DNA με εξαλάτωση από λευκοκύτταρα ολικού αίματος	108
Προσδιορισμός ποιότητας και συγκέντρωσης DNA	110
Μέτρηση συγκέντρωσης	110
Έλεγχος της ποιότητας του DNA σε πηκτή αγαρόζης	111
Πολλαπλασιασμός του DNA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)	111
Ηλεκτροφόρηση	115
Πέψη με ένζυμα περιορισμού	116

ΕΙΔΙΚΕΣ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ	117
IL-1B (+3953)	117
PCR	117
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR	118
Πέψη με περιοριστικό ένζυμο	119
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης	120
IL-1B (-511)	121
PCR	121
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR	122
Πέψη με περιοριστικό ένζυμο	123
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης	124
IL-1RN	125
PCR	125
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR	126
IL-2 (+114)	127
PCR	127
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR	128
Πέψη με περιοριστικό ένζυμο	129
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης	130
IL-2 (-384)	131
PCR	131
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR	132
Πέψη με περιοριστικό ένζυμο	133
Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης	134
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	135
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	135
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ IL-1RN (VNTR), IL-1B (-511) ΚΑΙ IL-1B (+3953)	136
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ IL-2 (-384) ΚΑΙ IL-2 (+114)	139
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	142
IL-1	147
Πολυμορφισμοί της IL-1 σε άλλα νοσήματα	147
Πολυμορφισμοί της IL-1 και ΣΚΠ	148
IL-2	153
Πολυμορφισμοί της IL-2 και ΣΚΠ	153
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	154
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	155

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής Αξιολόγησης και Παρακολούθησης για την αμέριστη βοήθεια που μου προσέφεραν κατά την διάρκεια της εκτέλεσης αυτής της διδακτορικής διατριβής.

Είμαι ιδιαίτερα ευγνώμων στον Καθηγητή Νευρολογίας κ. Παπαδημητρίου Αλέξανδρο, για την ευκαιρία που μου έδωσε αναθέτοντας μου αυτή τη διδακτορική διατριβή, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε. Επίσης, για την καθοδήγηση και τη μεθοδολογία που μου παρείχε κατά το σχεδιασμό και την εκτέλεση της μελέτης. Η συνεισφορά του στην εκπόνηση της παρούσας μελέτης ήταν ανεκτίμητη.

Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Αναπληρωτή Καθηγητή Νευρολογίας κ. Χατζηγεωργίου Γεώργιο, στον οποίο ανήκει η ιδέα αυτής της διατριβής και ο οποίος υπήρξε ουσιαστικά ο άνθρωπος που με ενέπνευσε και με μύησε στα μυστικά της νευρογενετικής. Οι ερευνητικές του ανησυχίες και η επιστημονική του επάρκεια, αποτέλεσαν καταλύτη στην προσπάθειά μου. Επίσης, για την αμέριστη συμπαράσταση του, κατανόηση και εμπύχωση κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Ευχαριστώ θερμά την Επίκουρο Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ανθρώπου κ. Κόλλια Παναγούλα, για τις εύστοχες παρατηρήσεις της κατά τη διάρκεια της μελέτης και την ουσιαστική καθοδήγηση της στις τεχνικές της γενετικής και μοριακής βιολογίας.

Ευχαριστώ επίσης, τον συνάδερφο ιατρό της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και Λέκτορα Νευρολογίας του Π.Θ. κ. Δαρδιώτη Ευθύμιο, για την βοήθεια που μου προσέφερε στη συλλογή των ασθενών και κατά την διενέργεια μέρους του γενετικού ελέγχου.

Ευχαριστώ θερμά την Επιμελήτρια της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κ. Τσιμούρτου Βάια καθώς και όλο το ιατρικό προσωπικό της Κλινικής για την βοήθεια του στην συλλογή των κλινικών δεδομένων της μελέτης.

Θα ήταν παράλειψη μου αν δεν ευχαριστούσα την συνάδερφο ιατρό της Οφθαλμολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, κ. Ζαχαράκη Φανή, καθώς η βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διενέργεια μέρους του γενετικού ελέγχου υπήρξε αποφασιστική.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Σκλήρυνση κατά Πλάκας (ΣΚΠ) είναι μία, άγνωστης αιτιολογίας, φλεγμονώδης και απομυελινωτική, χρόνια νόσος του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), που προσβάλλει συνηθέστερα νέους ανθρώπους. Θεωρείται αυτοάνοσης αρχής και χαρακτηρίζεται από πολυεστιακή προσβολή του ΚΝΣ. Παθολογοανατομικά χαρακτηρίζεται από πολλαπλές περιοχές φλεγμονής, ανοσολογικώς ρυθμιζόμενης απομυελίνωσης και χαρακτηριστικών της νόσου «γλοιακών – σκληρυντικών - ουλών», που καλούνται απομυελινωτικές πλάκες, καταστροφή ολιγοδενδροκυττάρων και αξονική βλάβη. Μάλιστα, τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι η πρώιμη προσβολή των νευραξόνων, αποτελεί αδιαμφισβήτητο γεγονός.

Η νόσος φαίνεται ότι καθορίζεται από συνδυασμό γενετικών και επίκτητων παραγόντων, αφενός μέσω γονιδίων επιρρέπειας και αφετέρου μέσω έκθεσης του οργανισμού, κατά την πρώιμη ηλικία του ασθενή, σε άγνωστο έως σήμερα λοιμώδη περιβαλλοντικό παράγοντα, πιθανώς ιό. Αρκετά γονίδια έχουν μελετηθεί ως προς την πιθανή αιτιοπαθογενετική τους σχέση με τη ΣΚΠ, με αρνητικά ή αντιφατικά αποτελέσματα.

Η ιντερλευκίνη (IL) 1β (IL-1β) ανήκει στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες με πλειοτροπική δραστηριότητα, που περιλαμβάνει την επαγωγή της κυτταρικής αύξησης και διαφοροποίησης των T- και B- λεμφοκυττάρων, καθώς και τη διέγερση άλλων κυτταροκινών, μορίων συγκόλλησης, ισταμίνης και θρομβοξάνης και σχετίζεται θετικά με την εμφάνιση αρκετών χρόνιων φλεγμονωδών νοσημάτων. Στη ΣΚΠ η δράση της εκφράζεται μέσω των μακροφάγων και των κυττάρων της μικρογλοίας εντός των απομυελινωτικών πλακών και συμμετέχει ενεργά στην εμφάνιση τους στο ΚΝΣ.

Την παθολογική δράση της IL-1β ανταγωνίζεται ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1 (IL-1Rα), με αποτέλεσμα, η βιολογική δράση της IL-1 να μην εμφανίζεται τόσο στη φυσιολογική, όσο και στην παθοφυσιολογική ανοσιακή και φλεγμονώδη απάντηση.

Η IL-2 είναι μία από τις πιο σημαντικές ανοσορυθμιστικές κυτταροκίνες με προφλεγμονώδη και αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα, προάγοντας τον πολλαπλασιασμό των T- λεμφοκυττάρων κατά τη διάρκεια όλων των διαμεσολαβητικών αντιδράσεων.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να διερευνηθεί, για πρώτη φορά, σε Έλληνες ασθενείς με ΣΚΠ, η πιθανή συσχέτιση των κάτωθι γενετικών πολυμορφισμών: 1) TaqI +3953 C/T, του 5^{ου} εξονίου του γονιδίου της IL-1B, 2) Aval - 511 C/T, του υποκινητή του γονιδίου της IL-1B, 3) 86bp VNTR πεντ-αλληλικού, του 2^{ου} ιντρονίου του γονιδίου του IL-RN, 4) MwoI +114 G/T, του 1^{ου} εξονίου του γονιδίου της IL-2 και 5) BfaI -384 G/T, του υποκινητή του γονιδίου της IL-2, τόσο με

την επιρρέπεια προς εκδήλωση ΣΚΠ, όσο και με επιμέρους κλινικές παραμέτρους της νόσου (βαρύτητα, τρόπος και ηλικία έναρξης, μορφή και εξέλιξη της νόσου).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Μελετήθηκαν 397 ασθενείς με ΣΚΠ και 375 υγιείς μάρτυρες με ίδια περίπου κατανομή φύλου και ηλικίας από την ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλίας. Η διάγνωση των ασθενών πραγματοποιήθηκε στη Νευρολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, σύμφωνα με διεθνή κριτήρια και οδηγίες. Η ανικανότητα τους υπολογίσθηκε με βάση την κλίμακα EDSS του Kurtzke, ενώ για την εκτίμηση του δείκτη της αναπηρίας σε σχέση με το χρόνο (όχι μόνο πόσο ανίκανος ένας ασθενής είναι, αλλά επίσης πόσο γρήγορα αυτό συμβαίνει), χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα MSSS (The Multiple Sclerosis Severity Score), μια δυναμική μέθοδος για τη σύγκριση της προοδευτικότητας της νόσου.

Οι ασθενείς με τη μορφή της νόσου που χαρακτηρίζεται από εξάρσεις και υφέσεις (RR) και αυτοί με τη δευτεροπαθώς προϊούσα (SP) μορφή, ταξινομήθηκαν μαζί ως «παροξυσμικής έναρξης», καθώς τελικά η πλειονότητα των ασθενών με τη RR μορφή μεταπίπτουν στην SP μορφή, ενώ οι ασθενείς με την πρωτοπαθώς προϊούσα (PP) μορφή και την προϊούσα με εξάρσεις (PR) μορφή της νόσου, αναφέρονται ως «προοδευτικής έναρξης», καθώς η συμπεριφορά τους είναι παρόμοια. Επειδή οι δύο αυτές μορφές της ΣΚΠ, «παροξυσμικής έναρξης» και «προοδευτικής έναρξης» πιθανόν να έχουν διαφορετικό ανοσογενετικό υπόβαθρο, αποφασίσαμε να μελετήσουμε στη συγκεκριμένη εργασία μόνο με αυτούς με την «παροξυσμικής έναρξης» μορφή της νόσου, που αποτελούσαν άλλωστε και την μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών (n=351).

Η ανίχνευση των πολυμορφισμών που μελετήθηκαν πραγματοποιήθηκε με τις μεθόδους της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), του πολυμορφισμού μήκους περιοριστικού θραύσματος (RFLP) και της ηλεκτροφόρησης σε πηκτική αгарόζης.

Από όλους τους συμμετέχοντες (ασθενείς και μάρτυρες) στην έρευνα ζητήθηκε συγκατάθεση, ενώ όλη η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρά τις μικρές διαφορές στη συχνότητα ορισμένων αλληλόμορφων και γονοτύπων, μεταξύ ασθενών και υγιών μαρτύρων, καθώς και κάποιες μικρο-διαφορές σε επιμέρους κλινικές παραμέτρους, συνολικά δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στα όρια της στατιστικής σημαντικότητας, στις δύο ομάδες πληθυσμού.

Συμπερασματικά, τα ευρήματά μας δείχνουν ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν την IL-1B, τον IL-1RN και την IL-2 δεν σχετίζονται με την πιθανότητα εκδήλωσης της ΣΚΠ, ούτε με επιμέρους κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου, σε Έλληνες ασθενείς της Κεντρικής Ελλάδας.

ABSTRACT

INTRODUCTION

Multiple Sclerosis (MS) is a major, inflammatory and demyelinating, chronic disorder of the Central Nervous System (CNS), affecting most commonly young adults. It is generally considered to be an autoimmune disease and is characterized by multifocal damage of the CNS. Pathologically, it is characterized by multiple areas of inflammation, immunological regulated demyelination and characteristics of the disease “glial – sclerotic – scarring” that is called demyelinating lesions, destruction of oligodendrocytes and axonal injury. Recently, it has been proved that primary axonal loss constitutes an uncontradictable fact.

The cause of MS is unknown, however, it is thought to be an interplay between genetic and environmental factors, through susceptibility genes and exposure during childhood to a yet unidentified infectious agent, probable a virus, respectively. Investigation of many putative pathogenetic genes provided negative or conflicting results.

Interleukin (IL) 1 β (IL-1 β) is a pro-inflammatory cytokine with pleiotropic activities including growth and differentiation of T- and B-cells, as well as induction of other interleukins, adhesion molecules, histamine and thromboxane and is related positively with several chronic inflammatory diseases. In MS, it is expressed by many cell types including macrophages and microglia within MS lesions and is considered to participate actively in the appearance of demyelinating lesions in CNS.

Its activity is inhibited by the IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra), which blocks the biological activity of IL-1 β , not only in normal, but also in pathophysiological immune and inflammatory response, by preventing the activation of the target cells.

IL-2 is one of the crucial immunoregulatory cytokines, and has both pro-inflammatory and anti-inflammatory actions, promoting T-cell proliferation during all mediated responses.

OBJECTIVE

The aim of the present study was to investigate, for the first time in Greek patients with MS, the possible association of specific polymorphisms of the IL-1B (TaqI +3953 C/T, within the fifth exon and Aval -511 C/T, in the promoter region), IL-1RN (a variable number of tandem repeats, VNTR, within the second intron) and IL-2 (MwoI +114 G/T, within the first exon and Bfal -384 G/T, in the promoter region) genes with both the susceptibility to and the clinical characteristics of the disease (severity, mode and age at onset, type and course of MS).

MATERIALS AND METHODS

Genotypes were determined from 397 patients with clinically definite MS and 375 matched to age and sex healthy controls of Greek origin from the Larissa region.

All patients were diagnosed, as suffering from MS, at the Department of Neurology, at University Hospital of Larissa (a tertiary hospital in central Greece) according to the latest international guidelines. Disability was assessed using the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS). To evaluate the disability indexed to time (not only how disabled a patient is, but also how rapidly this occurs), we used the “Multiple Sclerosis Severity Score (MSSS)” that is a powerful method for comparing disease progression.

Patients with relapsing-remitting (RR) and secondary progressive (SP) type of MS were classified together as “bout-onset”, as eventually the majority of patients with RR MS develop an SP course, while them with primary progressive (PP) and progressive relapsing (PR) MS type, referred as “progressive-onset”, as their behavior appears to be similar. Because “bout-onset” and “progressive-onset” MS may have a distinct immunogenetic background, we a priori decided to genotype only patients with bout-onset (n=351).

Polymerase chain reaction (PCR), restriction fragment length polymorphism (RFLP) and agarose gel electrophoresis techniques were used to determine the above polymorphisms.

Informed consent has been obtained from all patients and controls and study was approved by the Scientific Committee of the University of Thessalia, that is, responsible for ethics.

RESULTS AND CONCLUSIONS

Despite the small differences in the frequency of certain alleles and genotypes, between MS patients and controls, as well as some discrepancies, concerning clinical characteristics, there were in total, no statistical significant differences in the two teams of populations.

In conclusion, our present findings suggest that genes encoding IL-1B, IL-1RN and IL-2 make no major contribution to susceptibility or disease severity of MS patients in central Greece.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΟΡΙΣΜΟΣ

Η Σκλήρυνση κατά Πλάκας (ΣΚΠ) είναι μία, άγνωστης αιτιολογίας, φλεγμονώδης και απομυελινωτική, χρόνια νόσος του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) (Lucchinetti CF, 1996), που προσβάλλει συνηθέστερα νεαρούς ενήλικες. Θεωρείται αυτοάνοσης αρχής (Brosnan and Raine, 1996, Lassmann H, 2007) και χαρακτηρίζεται από πολυεστιακή προσβολή του ΚΝΣ. Παθολογοανατομικά χαρακτηρίζεται από πολλαπλές περιοχές φλεγμονής, ανοσολογικώς ρυθμιζόμενης απομυελίνωσης και χαρακτηριστικών της νόσου «γλοιακών – σκληρυντικών - ουλών», που καλούνται απομυελινωτικές πλάκες, καταστροφή ολιγοδενδροκυττάρων και αξονική βλάβη (Adams CW, 1989, Trapp BD, 1998 & 1999). Μάλιστα, τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι η πρώιμη προσβολή των νευραξόνων, αποτελεί αδιαμφισβήτητο γεγονός (Ferguson B, 1997, Trapp BD, 1998 & 1999).

Τα προσβεβλημένα άτομα εμφανίζουν τις χαρακτηριστικές της νόσου απομυελινωτικές πλάκες σε πολλά σημεία του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού (NM) (**διασπορά στο χώρο**) (Kurtzke JF, 1970). Οι απομυελινωτικές πλάκες εντός του ΚΝΣ, προσβάλλουν τους νευράξονες και κατά συνέπεια καθυστερούν την αγωγή των νευρικών ώσεων κατά μήκος των νευραξόνων, που φυσιολογικά εκτελείται με άλματα μέσω των κόμβων του Ranvier.

Η κλινική πορεία ποικίλει από μία ήπια χωρίς συμπτώματα μορφή της νόσου, έως μία μορφή ταχέως εξελισσόμενη που καταλήγει σε βαριά αναπηρία. Στους περισσότερους ασθενείς εισβάλλει υπό μορφή εξάρσεων και υφέσεων, όπου αρχικά η ανάρρωση από τις εξάρσεις είναι σχεδόν πλήρης, αργότερα όμως οι νευρολογικές διαταραχές αθροίζονται σταδιακά (**διασπορά στο χρόνο**) (Kurtzke JF, 1970).

Η νόσος φαίνεται ότι καθορίζεται από συνδυασμό γενετικών και επίκτητων παραγόντων (Dyment DA, 2004, Marrie RA, 2004, Poser CM, 2006), αφενός μέσω γονιδίων επιρρέπειας και αφετέρου μέσω έκθεσης του οργανισμού, κατά την πρώιμη ηλικία του ασθενή, σε άγνωστο έως σήμερα λοιμώδη περιβαλλοντικό παράγοντα, πιθανώς ιό.

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Προκαλεί εντύπωση το γεγονός ότι μια από τις πιο συχνές νευρολογικές παθήσεις έχει ιστορία λίγων μόνο αιώνων, όπως επίσης και η έλλειψη αναφορών σε ιατρικά κείμενα πριν από τον 19^ο αιώνα. Η πιο παλιά αναφορά (Medaer R, 1979) για ασθενή με συμπτωματολογία που ίσως παραπέμπει σε ΣΚΠ χρονολογείται στο 14ο αιώνα, όπου μία Ολλανδή μοναχή, κατόπιν μικρο-ατυχήματος και ενώ ήταν απολύτως υγιής έως την ηλικία των 16 ετών, εμφάνισε σταδιακά προσωπαλγίες (στην περιοχή κατανομής του β' κλάδου του τριδύμου), δυσκολία βάδισης και διαταραχές όρασης, με φθίνουσα πορεία της υγείας της και σταδιακή εγκατάσταση παραπάρεσης, έως τελικά το θάνατό της, 34 περίπου χρόνια αργότερα.

Έπειτα, έχουμε αναφορές από τον 19ο πλέον αιώνα, όπου μέσω του προσωπικού ημερολογίου που διατηρούσε ο Augustus Frederick d' Este (Firth D, 1948, Fredrikson S, 1989), διαπιστώνεται ότι ο ίδιος εμφάνισε το 1822, ύστερα από

ιλαρά, διαταραχές όρασης που υποχώρησαν αυτόματα μετά από λίγες ημέρες (πιθανόν αμφοτερόπλευρη οπτική νευρίτιδα). Τα επόμενα χρόνια όμως εκδηλώθηκαν, υπό τη μορφή εξάρσεων, νέα επεισόδια θάμβους όρασης, αλλά και διπλωπία, αιμωδία στο περίνεο με ταυτόχρονη αδυναμία κάτω άκρων, ακράτεια ούρων και άλλα χαρακτηριστικά συμπτώματα της ΣΚΠ, έως την προσδευτική παράλυση και το θάνατό του, ύστερα από 26 χρόνια διαρκώς επιδεινούμενης πορείας της άγνωστης τότε ασθένειας του.

Οι παθολογοανατόμοι, πρώτη φορά το 19ο αιώνα, περιλαμβάνουν περιγραφές ή και εικόνες από παθολογοανατομικό υλικό που παραπέμπει σε ΣΚΠ, αρχικά σε έργα από την Ευρώπη, κυρίως γαλλικά και αγγλικά και στη συνέχεια και από τις ΗΠΑ (Hooper R, 1828, Carswell R, 1838, Cruveilhier J, 1842, Rokitansky C, 1846, Frerichs FT, 1849, Valentiner W, 1856, Anonymous Guy's Hospital, 1875, Moxon W, 1875, Seguin EC, 1878). Όσον αφορά στην ονοματολογία, προτού αναγνωρισθεί και καθιερωθεί ως ξεχωριστή κλινική οντότητα η ΣΚΠ, αναφέρεται στα πρώτα παθολογοανατομικά έργα ως «the French Disease» (η νόσος των Γάλλων). Πάντως, για το ποιος την περιέγραψε πρώτος ερίζουν Άγγλοι και Γάλλοι ...

Ο Jean Cruveilhier, καθηγητής της ανατομικής και αργότερα της παθολογικής ανατομίας στο πανεπιστήμιο των Παρισίων, θεωρείται (από τους Γάλλους) ο πρώτος που περιέγραψε, σε έναν άτλαντα που κυκλοφόρησε κατά την περίοδο 1829-1842 (Cruveilhier J, 1842), τέσσερις περιπτώσεις των οποίων η παθολογοανατομική εικόνα παρουσιάζει ευρήματα ταυτόσημα με τις αλλοιώσεις που παρατηρούνται στη ΣΚΠ, αν και λίγο νωρίτερα, ο Hooper σε ένα βιβλίο του γεμάτο λιθογραφίες βασισμένες σε νεκροτομικό υλικό (Hooper R, 1828), είχε περιγράψει μια περίπτωση που μοιάζει, τουλάχιστον παθολογοανατομικά, αρκετά με τη ΣΚΠ.

Αναμφίβολα όμως, η πρώτη ολοκληρωμένη περιγραφή της νόσου έγινε από τον Jean Marie Charcot, καθηγητή παθολογικής ανατομικής στο Πανεπιστήμιο των Παρισίων και νευρολόγο στο Hôpital de la Salpêtrière, το 1868. Ήταν ο πρώτος που σε παθολογοανατομικά παρασκευάσματα εγκεφάλου και ΝΜ, ασθενών με διαλείπουσα νευρολογική σημειολογία, παρατήρησε περιαγγειακές συναθροίσεις φλεγμονωδών κυττάρων στη λευκή ουσία και χρησιμοποίησε τον όρο “Sclérose en Plaques Disseminées”, κοινώς ΣΚΠ (Charcot JM, 1868, 1875 & 1877, Hafner DA, 2004).

Στην πορεία, αρκετοί σημαντικοί άνθρωποι του χώρου, μεταξύ των οποίων ο Russell Brain και ο James Walker Dawson, παρήγαγαν έργο ερευνητικό, κλινικό και συγγραφικό και συνέβαλαν στο να γίνει η νόσος περισσότερο κατανοητή. Το 1930 η εισαγωγή του πειραματικού μοντέλου της «αλλεργικής εγκεφαλομυελίτιδας» (ΕΑΕ) στη μελέτη της νόσου (Rivers TM, 1935), αποτέλεσε σημαντικό σταθμό στην περαιτέρω έρευνα.

Σημαντικά χρονολογικά ορόσημα της ιστορίας της ΣΚΠ, ως προς τη νοσολογική της αναγνώριση όπως περιγράφηκε πιο πάνω, αλλά και τη διαγνωστική της προσέγγιση και την τροποποιητική θεραπεία της, όπως περιγράφονται σε επόμενα κεφάλαια, παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα 1.

Πίνακας 1

Σημαντικά χρονολογικά ορόσημα της ιστορίας, της
διαγνωστικής προσέγγισης και της θεραπείας της ΣΚΠ

14ος–18ος αιώνας	Περιγραφές, σε προσωπικά κυρίως αρχεία και λιγότερο σε ιατρικά, ορισμένων περιπτώσεων που μοιάζουν με ΣΚΠ.
19ος αιώνας	
1828-1829	Περιγραφές, σε γαλλικά και αγγλικά έργα, παθολογοανατομικού υλικού που παραπέμπει σε ΣΚΠ.
1838	Σε έργο του Robert Carswell υπάρχει η πρώτη, πιθανώς, απεικόνιση παθολογικών βλαβών από ΣΚΠ, προερχόμενων από ανώνυμο Γάλλο ασθενή.
1849	Ο Γερμανός ιατρός Friedrich Theodor von Frerichs κάνει την πρώτη κλινική περιγραφή της νόσου σε ασθενή και την πρώτη αναφορά για την ύπαρξη υφέσεων στην πορεία της.
1868	Ο Γάλλος νευρολόγος Jean-Marie Charcot εκδίδει μία περιγραφή ορόσημο της κλασικής νόσου, δίνοντας της για πρώτη φορά την ονομασία «Σκλήρυνση κατά Πλάκας». Πριν τον Charcot η ΣΚΠ επανειλημμένα συγγέονταν με την νόσο του Parkinson.
1875	Ανώνυμες δημοσιεύσεις στο περιοδικό Lancet από το Guy's Hospital περιπτώσεων με το όνομα «σκλήρυνση κατά νησίδες».
1878	Ο Louis Ranvier ανακαλύπτει τη μυελίνη. Άλλοι ερευνητές αργότερα, αναγνωρίζουν μία ειδική κατηγορία κυττάρων που παράγουν μυελίνη, τα ολιγοδενδροκύτταρα και διαπιστώνουν τη σημασία της μυελίνης στην αγωγή των νευρικών ώσεων.
1898	Ο Πολωνός νευρολόγος Josef Francois Felix Babinski παρουσιάζει το εκτατικό πελματιαίο αντανακλαστικό (Babinski JFF, 1898), που έκτοτε φέρει το όνομα «σημείο Babinski», το οποίο συναντάται σε βλάβες της πυραμιδικής οδού, ενώ απουσιάζει όταν αυτή είναι άθικτη.
20ος αιώνας	
1916	Ο James Dawson αναγνωρίζει σε νέες βλάβες διήθηση από λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και πλασματοκύτταρα στον εγκέφαλο, τα οποία οδηγούν σε απομυελίνωση.
1922	Ανακάλυψη της διαταραχής της σύνθεσης του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY) σε ασθενείς με ΣΚΠ και παρατήρηση της ανομοιογενούς κατανομής της νόσου ανά τον κόσμο.
1935	Ο Αμερικανός νευρολόγος Thomas Rivers αναπτύσσει ζωικό πειραματικό μοντέλο νόσου παρόμοιας με τη ΣΚΠ, ονομαζόμενης «πειραματική αλλεργική εγκεφαλομυελίτιδα» (Experimental Allergic Encephalomyelitis, EAE), που χρησιμοποιείται έκτοτε για τη μελέτη της αιτιοπαθογένειας και της θεραπείας της νόσου. Προτείνει μία αυτοάνοση βάση της ασθένειας, όπου η μυελίνη του ΚΝΣ γίνεται στόχος της ανοσιακής απάντησης. Ένα ζωικό μοντέλο αναπτύσσεται επίσης από το Pasteur.
1948	Ο ερευνητής Elvin Kabat ανακαλύπτει διαφορές του ηλεκτροφορητικού προφίλ των πρωτεϊνών του ENY ασθενών με ΣΚΠ, διαπιστώνοντας αυξημένη γ-σφαιρίνη (Kabat EA, 1948), συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη εργαστηριακής διαγνωστικής δομικής.
1955	Ο Αμερικανός John Kurtzke αναπτύσσει την Κλίμακα Κατάστασης Αναπηρίας (Disability Status Scale, DSS) για την εκτίμηση της σοβαρότητας της ΣΚΠ. Η βελτιωμένη μορφή της κλίμακας αυτής (Expanded DSS, 1983) είναι μέχρι σήμερα η πρότυπη κλίμακα εκτίμησης της αναπηρίας. Πραγματοποιείται η πρώτη συνολική νευροψυχολογική μελέτη ενός μικρού αριθμού ασθενών με ΣΚΠ. Οι ερευνητές Ross και Reitan διαπιστώνουν ότι οι ασθενείς έχουν σοβαρές δυσκολίες στην εκτέλεση δοκιμασιών που απαιτούν μυϊκή ταχύτητα, δύναμη και προσανατολισμό,

	μέτριου βαθμού δυσκολίες στο σχηματισμό περίληψης και στη σύλληψη εννοιών, αλλά διατηρούν την ικανότητα ομιλίας.
1970	Η ομάδα του Augustus Rose αποδεικνύει ότι η κορτικοτροπίνη (ACTH) μπορεί να επιταχύνει την ανάρρωση από τη φάση έξαρσης της νόσου. Η αναγνώριση των χαρακτηριστικών της λοίμωξης από αργό λανθάνοντα ιό στα ζώα και στους ανθρώπους, οδηγεί τους ερευνητές να επανεξετάσουν το ενδεχόμενο της λοιμώδους βάσης της νόσου. Έτσι στα τέλη του 1970 οι επιστήμονες πιστεύουν ότι η ΣΚΠ είναι αποτέλεσμα αυτοάνοσης διαταραχής, πιθανώς προκληθείσας από ιϊκή λοίμωξη.
1978	Η ομάδα του Lawrence Jacobs ξεκινά πιλοτική μελέτη θεραπείας ασθενών με ΣΚΠ, με χρήση φυσικής μορφής της ιντερφερόνης-β (IFN-β).
1981	Παράγονται οι πρώτες εικόνες μαγνητικής τομογραφίας (MRI) από εγκέφαλο ασθενούς, φέρνοντας επανάσταση στον τρόπο διάγνωσης.
1993	Το φάρμακο Betaseron (IFN-β 1b) εγκρίνεται στις ΗΠΑ για τη μείωση της ταχύτητας επιδείνωσης σε περιπατητικούς ασθενείς με ΣΚΠ. Στην Ευρώπη θα κυκλοφορήσει αργότερα (1995) με το όνομα Betaferon.
1996	Το φάρμακο Avonex (IFN-β 1a) εγκρίνεται για τη θεραπεία της ΣΚΠ με εξάρσεις, στις ΗΠΑ (το 1997 κυκλοφορεί και στην Ευρώπη). Φαίνεται να επιβραδύνει την εγκατάσταση της αναπηρίας και να μειώνει τη συχνότητα των εξάρσεων.
1996	Το φάρμακο Copaxone (glatiramer acetate) εγκρίνεται στις ΗΠΑ για την μείωση της συχνότητας των εξάρσεων της νόσου σε ασθενείς με τη μορφή της ΣΚΠ με εξάρσεις και υφέσεις (RR).
1998	Το φάρμακο Rebif (IFN-β 1a) εισάγεται στη θεραπεία των μορφών της ΣΚΠ με εξάρσεις. Φαίνεται να μειώνει τη συχνότητα των εξάρσεων και να επιβραδύνει την εγκατάσταση αναπηρίας.
21ος αιώνας	
2000	Το φάρμακο Novantrone (μιτοξανδρόνη) εγκρίνεται στις ΗΠΑ για χρήση στη ΣΚΠ, ενδεικνυόμενο για τη μείωση της νευρολογικής αναπηρίας και/ή της συχνότητας των εξάρσεων σε ασθενείς με δευτεροπαθώς προϊούσα (SP) μορφή, ή προϊούσα με εξάρσεις (PR) μορφή της ΣΚΠ.
2007	Το φάρμακο Tysabri εισάγεται στη θεραπεία των μορφών της ΣΚΠ με εξάρσεις και υφέσεις (RR) – απαραίτητη προϋπόθεση η ύπαρξη φλεγμονής – για τη μείωση της συχνότητας των εξάρσεων, μείωση της πιθανότητας εμφάνισης νέων «βλαβών» και επιβράδυνση της εγκατάστασης αναπηρίας.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

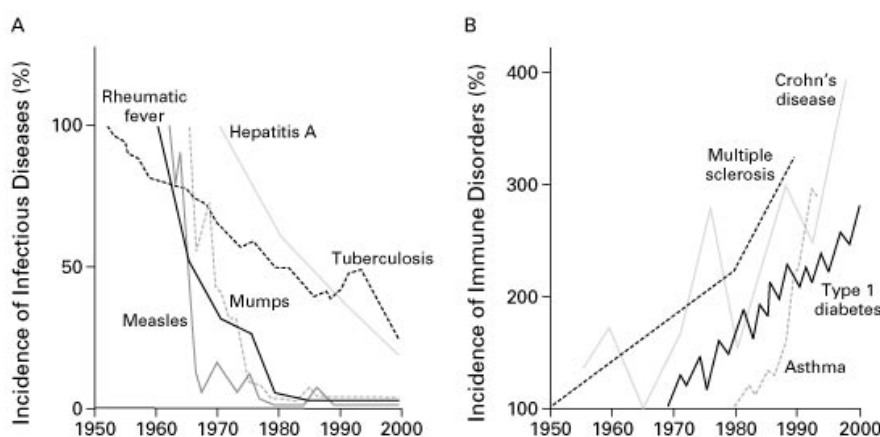
Η επιδημιολογία και ιδιαίτερα η περιγραφική, ως επιστημονικός κλάδος συμβάλλει στη διερεύνηση της αιτιοπαθογένειας των νόσων ανιχνεύοντας, μέσα από μελέτες, διαφορές της επίπτωσης των νόσων ως προς γεωγραφικούς παράγοντες (γεωγραφικό πλάτος, επιδημική εισβολή σε απομονωμένες περιοχές κ.α.), δημογραφικούς παράγοντες (φύλο, φυλή, ηλικία, μετανάστευση), αλλά και γενετικούς και άλλους παράγοντες.

Στη ΣΚΠ ειδικά, οι μελέτες αυτές δυσχεραίνονται σημαντικά εξαιτίας διαφορών στις μεθόδους διάγνωσης, όπου πολλές φορές η διάγνωση βασίζεται σε υποκειμενικά κλινικά κριτήρια, αλλά και εξαιτίας της κλινικής ποικιλομορφίας της ίδιας της ΣΚΠ, τόσο μεταξύ των ασθενών όσο και μεταξύ των διαφορετικών περιόδων της νόσου.

Αυτό που είναι βέβαιο είναι ότι η ΣΚΠ είναι η πιο συχνή αιτία νευρολογικής διαταραχής στην νεαρή και μέση ενήλικη ζωή και προσβάλλει περισσότερο από ένα εκατομμύριο ανθρώπους παγκοσμίως (Hauser S & Goodin D, 2001). Η νόσος έχει μέση **επίπτωση** (ο αριθμός των πρόσφατα διαγνωσμένων περιπτώσεων ανά έτος) περίπου 7/100.000 πληθυσμού, μέσο **επιπολασμό** (ο αριθμός των ασθενών σε μια δεδομένη χρονική στιγμή) περίπου 120/100.000 πληθυσμού και **κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή της ζωής ενός ανθρώπου**, 1/400 ανθρώπους (Compston A & Coles A, 2002).

Παρά την ανομοιότητα που υπάρχει σε επιδημιολογικές μελέτες που αφορούν σε ασθενείς με ΣΚΠ, όσον αφορά στον επιπολασμό της νόσου (οι τιμές ποικίλουν από 0,88 έως 224 ανά 100.000 πληθυσμού), υπάρχει μια γενική παραδοχή που στηρίζεται σε μερικές παρατηρήσεις (Yu YL, 1989, Cook SD, 1998). Μία εξ' αυτών δείχνει πως η επίπτωση και ο επιπολασμός της ΣΚΠ σε κάποιες περιοχές αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου, όπως άλλωστε συμβαίνει και με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα – σε αντίθεση με τις λοιμώδεις παθήσεις (εικόνα 1) – χωρίς αυτό να μπορεί βέβαια να αποδοθεί μόνο σε μεταβολή των διαγνωστικών μεθόδων (Sadovnick AD, 1993).

Εικόνα 1



Bach JF, N Engl J Med, 2002

1) ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

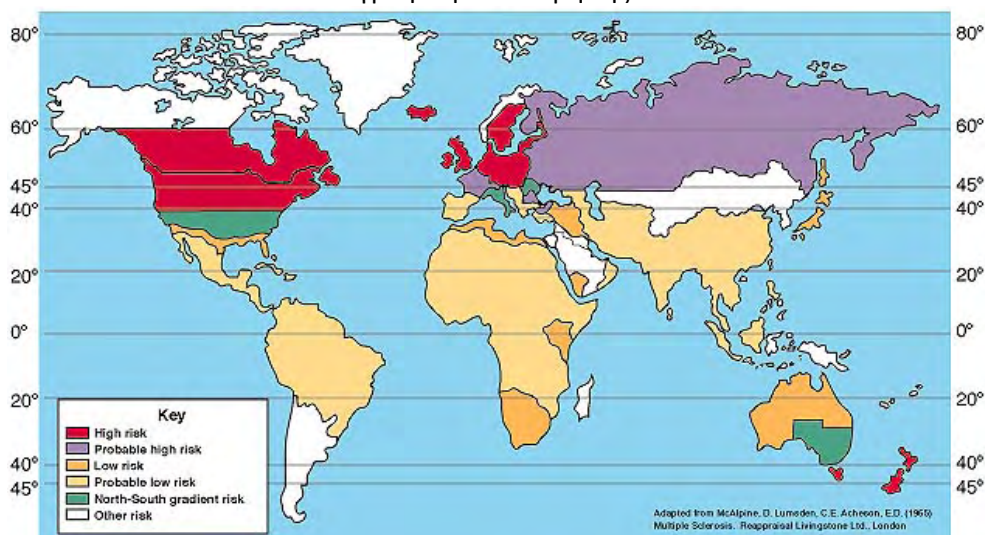
I. Γεωγραφικοί παράγοντες

Η γεωγραφική κατανομή της νόσου είναι ανομοιογενής. Φαίνεται ότι η διαφορετική αυτή κατανομή συσχετίζεται θετικά με το γεωγραφικό πλάτος. Οι τιμές του επιπολασμού τείνουν να γίνονται υψηλότερες σε περιοχές οικονομικά αναπτυγμένες, με εύκρατο κλίμα, ενώ η εξάρτηση από το γεωγραφικό πλάτος είναι τόσο στενότερη, όσο φυλετικά πιο ομοιογενής είναι ο πληθυσμός που εξετάζεται.

Η συχνότητα της γενικά αυξάνεται αναλογικώς προς το γεωγραφικό πλάτος, τόσο στο βόρειο όσο και στο νότιο ημισφαίριο, παρόλο που τα ποσοστά τείνουν να μειώνονται πέραν των 65 μοιρών βορείως και νοτίως (Compston A, 1998). Είναι

λοιπόν η ΣΚΠ μια νόσος των εύκρατων κλιμάτων, αφού ο επιπολασμός της αυξάνεται όσο αυξάνεται η απόσταση από τον ισημερινό, μέχρι ενός σημείου (εικόνα 2).

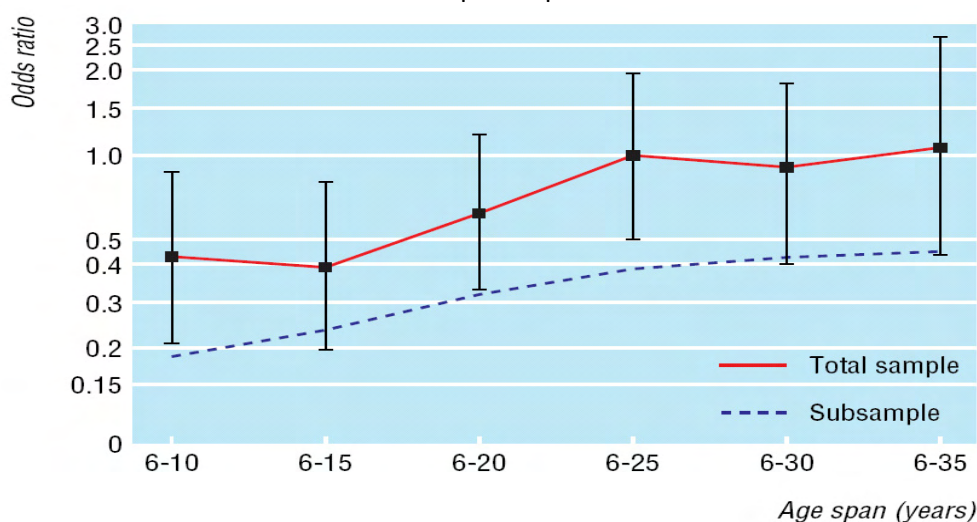
Εικόνα 2
Γεωγραφική κατανομή της ΣΚΠ



Adapted from Compston A. Distribution of Multiple Sclerosis in Mc Alpine's Multiple Sclerosis. 3rd ed. London: Churchill Livingstone 1998

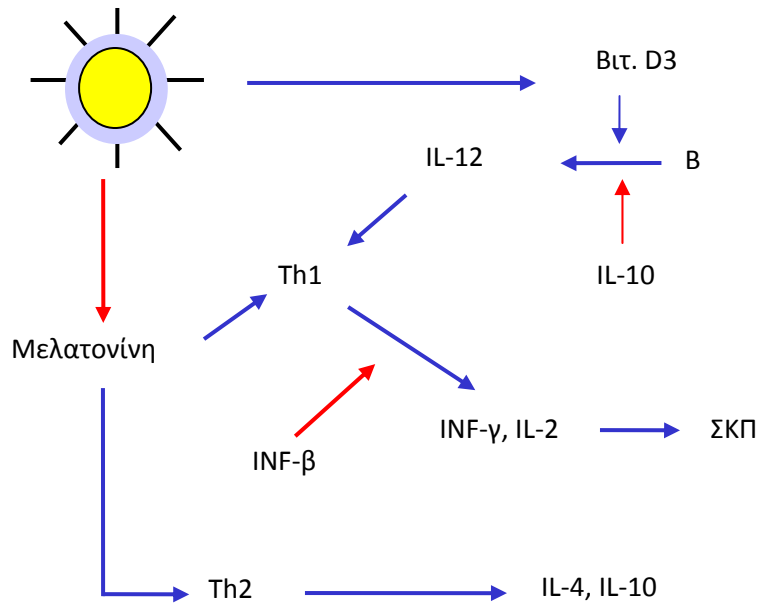
Ενδεχομένως, η ηλιοφάνεια (εικόνα 3) μέσω της αύξησης της μελατονίνης και της επίδρασής της στην βιταμίνη D3, να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σ' αυτό, μέσω μηχανισμού ενεργοποίησης κυτταροκινών (εικόνα 4).

Εικόνα 3
Έκθεση στον ήλιο και ΣΚΠ



van der Mei IA, BMJ, 2003

Εικόνα 4
Επίδραση της ηλιοφάνειας στη ΣΚΠ

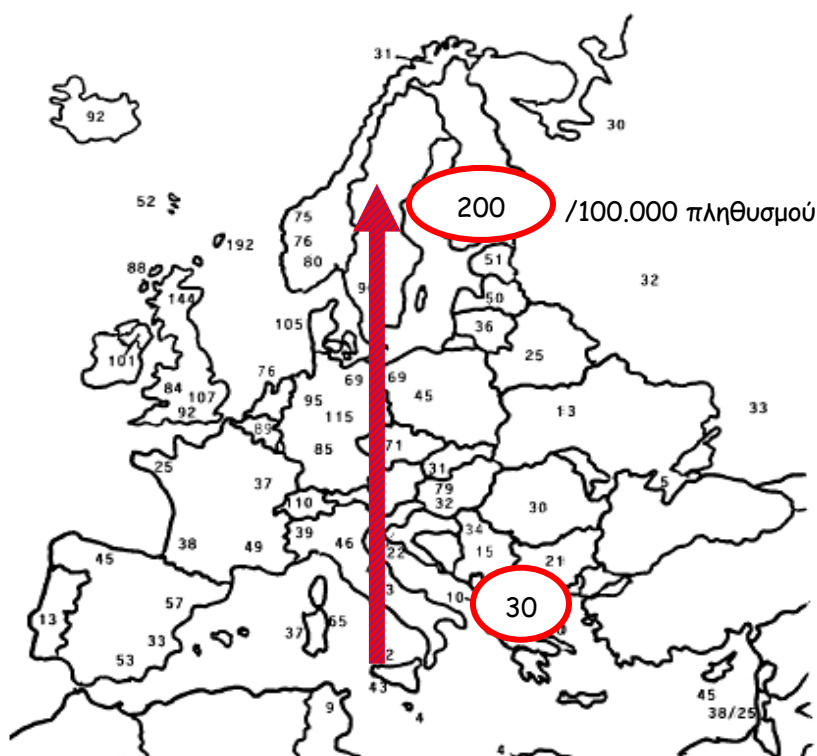


Σε γενικές γραμμές (εικόνα 2), η ΣΚΠ απαντάται περισσότερο συχνά στη Βόρεια Ευρώπη (Kurtzke JF, 1975 & 1985, Kinnunen E, 1984, Rosati G, 1994) (εικόνα 5), ηπειρωτική Βόρεια Αμερική και ειδικότερα Βόρειες ΗΠΑ, Νότιο Καναδά, Αυστραλία, στα νότια κυρίως και Νέα Ζηλανδία, με τιμές επιπολασμού μεγαλύτερες από 50/100.000 πληθυσμού (Kurtzke JF, 1975 & 1985, Noseworthy JH, 2000). Δεν είναι συνήθης η εμφάνισή της στην Άπω Ανατολή, όπως Ιαπωνία και Κίνα (Kuroiwa Y, 1983), στην ηπειρωτική Νότια Αμερική (Callegaro D, 1992), στην αραβική χερσόνησο και την Ινδία, με τιμές επιπολασμού μικρότερες από 5/100.000 πληθυσμού. Είναι πρακτικώς άγνωστη μεταξύ των γηγενών ανθρώπων της Ισημερινής Αφρικής (Radhakrishnan K, 1985) και μεταξύ των μελών της φυλής των Inuits στην Αλάσκα.

Με αφετηρία τις διαφορετικές τιμές επιπολασμού (Kurtzke JF, 1991) διαμορφώθηκαν τρεις ζώνες: 1) η **ζώνη υψηλού κινδύνου** με τιμές επιπολασμού >30 ανά 100.000, όπου περιλαμβάνονται η Βόρεια Ευρώπη, οι Βόρειες ΗΠΑ, οι νότιες περιοχές του Καναδά, η Νότια Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία, 2) η **ζώνη μέσου κινδύνου** με τιμές επιπολασμού από 5 μέχρι 29 ανά 100.000 όπου περιλαμβάνεται η Νότια Ευρώπη, οι Νότιες ΗΠΑ και η Κεντρική και Βόρεια Αυστραλία και 3) η **ζώνη χαμηλού κινδύνου** με τιμές επιπολασμού <5 ανά 100.000, όπου βρίσκεται η Ασία, η Λατινική Αμερική και το μεγαλύτερο μέρος της Αφρικής και της Μέσης Ανατολής.

Εικόνα 5

Επιπολασμός της ΣΚΠ στην Ευρώπη

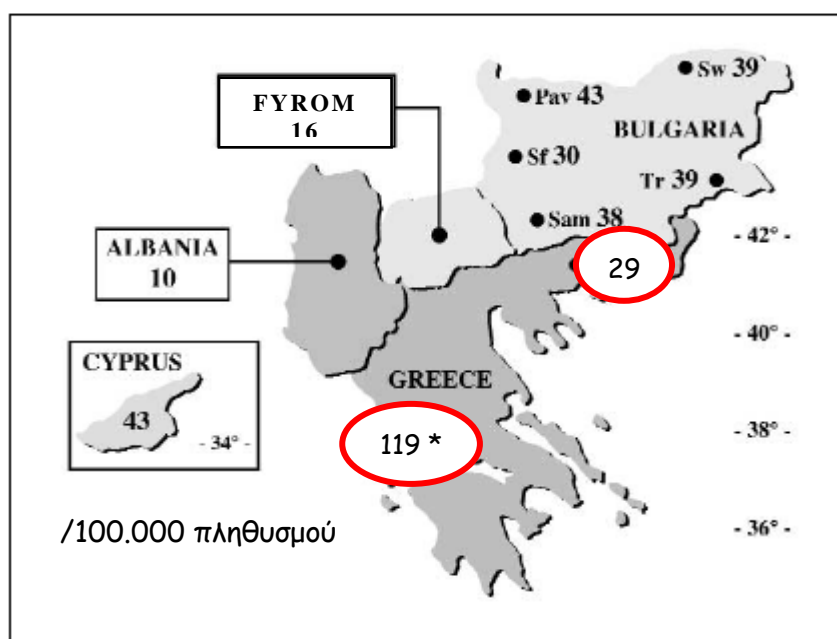


Kurtzke JF, Neurol Sci, 2000

Επιδημιολογικές μελέτες στη χώρας μας δίνουν διαφορετικές τιμές επιπολασμού. Στη Βόρεια Ελλάδα (εικόνα 6), σε μελέτη (Μυλωνάς Ι, 1988, Μίλωνας Ι, 1990) που αφορά στη χρονική περίοδο μεταξύ 1970-1984 αναφέρθηκαν 638 νέες περιπτώσεις ΣΚΠ στα διαμερίσματα Μακεδονίας και Θράκης. Η μέση επίπτωση ήταν 1,79/100.000 πληθυσμού αυξανόμενη όμως μεταξύ 1980-1984. Στα τέλη του 1984 ο επιπολασμός ήταν 29,5/100.000 πληθυσμού, αρκετά υψηλός παρόλο που η Βόρεια Ελλάδα βρίσκεται στην ενδιάμεση ζώνη κινδύνου. Σε νεότερη μελέτη (Ριπερίδου ΗΝ, 2003) που πραγματοποιήθηκε όχι σε ολόκληρη τη Βόρεια Ελλάδα αλλά μόνο στο νομό Έβρου και αφορά στη χρονική περίοδο μεταξύ 1974-1999, ο επιπολασμός εκτιμήθηκε σε 38,9/100.000 πληθυσμού, γεγονός που τοποθετεί την περιοχή αυτή, στη ζώνη υψηλού κινδύνου, σε συμφωνία με τα ποσοστά από τη γειτονική Βουλγαρία (Μιλανον Ι, 1997). Άλλοι ερευνητές (Vassilopoulos D, 1984) εκτιμούν τη συχνότητα στη χώρας μας από μέση έως χαμηλή (10,2/100.000 πληθυσμού στην Κεντρική και Νότια Ελλάδα), με εξαίρεση ορισμένες περιοχές που μελέτησαν (Ικαρία, Κεφαλλονιά, Χανιά) που αναφέρουν ότι είναι υψηλή (Τσακανίκας Κ, 1981, Κυλιντηρέας Κ, 1987). Η μέση ετήσια επίπτωση μετρημένη σε διαστήματα 5ετίας, αυξήθηκε σημαντικά, από 0,66/100.000 πληθυσμού κατά την 5ετία 1974-1978, σε 2,36/100.000 πληθυσμού κατά την 5ετία 1994-1999. Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη μελέτη (Parathanasopoulos P, 2008) σε Ελληνικό πληθυσμό, που διενεργήθηκε στην περιοχή της Δυτικής Ελλάδας (Αιτωλοακαρνανία, Ηλεία και Αχαΐα) και διήρκησε 23 έτη, η τιμή του επιπολασμού στα τέλη του 2006 εκτιμάται σε 119,61/100.000 πληθυσμού (εικόνα 6), πολύ πιο υψηλή απ' ότι στην αρχή της

μελέτης – Ιανουάριος 1984 (10,1/100.000 πληθυσμού). Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής ξεκάθαρα τοποθετούν τη συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή της χώρας μας, στη ζώνη υψηλού κινδύνου και αν και οι τιμές του επιπολασμού είναι αρκετά υψηλότερες απ’ τις αναμενόμενες (με βάση προηγούμενες μελέτες στην Ελλάδα), βρίσκονται σε συμφωνία με τις αντίστοιχες τιμές στη Νότια Ιταλία (Σικελία) (Pugliatti M, 2002) και την Κωνσταντινούπολη. Σύμφωνα με την ίδια μελέτη, η μέση ετήσια επίπτωση μετρημένη σε διαστήματα 5ετίας, αυξήθηκε σημαντικά, από 2,71/100.000 πληθυσμού κατά την 5ετία 1984-1989, σε 10,73/100.000 πληθυσμού κατά την 5ετία 2002-2006. Η αύξηση του επιπολασμού θα μπορούσε ίσως να αποδοθεί σε άλλες κι όχι σε αιτιολογικές αλλαγές, αλλά η αύξηση στην ετήσια επίπτωση καταδεικνύει την πιθανότητα να υπάρχει διακύμανση των παραγόντων κινδύνου της νόσου.

Εικόνα 6
Κατανομή της ΣΚΠ στα Βαλκάνια



Rosati G, Neurol Sci, 2001

*: From Papathanasopoulos P, Neuroepidemiology, 2008

II. Δημογραφικοί παράγοντες

A) Φύλο

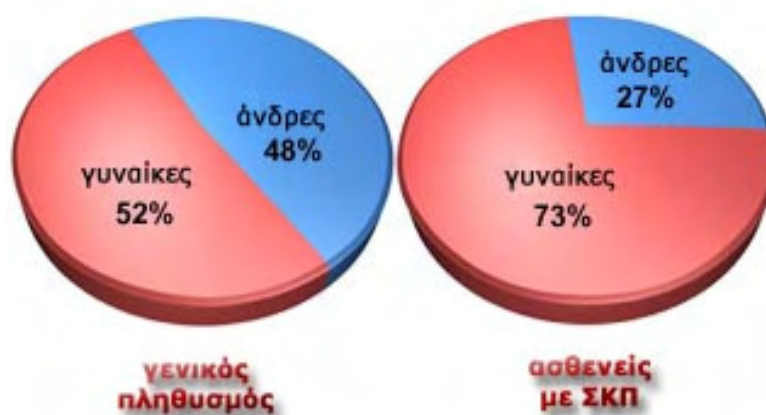
Στις γυναίκες, η επίπτωση της ΣΚΠ είναι 1,4 έως 3,1 φορές υψηλότερη σε σχέση με την επίπτωση στους άνδρες (Lowis GW, 1990, Duquette P, 1992). Οι λόγοι για αυτή τη διαφορά συχνότητας στα δύο φύλα δεν είναι γνωστοί, συμβαδίζει όμως με τη γνωστή αυξημένη συχνότητα όλων των ανοσολογικών νοσημάτων στο γυναικείο φύλο. Εντούτοις, στην ομάδα των ασθενών στους οποίους η νόσος εγκαθίσταται σε μεγάλη σχετικώς ηλικία, τα ποσοστά επίπτωσης στα δύο φύλα είναι περίπου ίσα. Το αίτιο αυτής της διαφοράς δεν έχει διευκρινισθεί,

ενδεχομένως όμως σχετίζεται με την αυξημένη ευαισθητοποίηση των γυναικών στις περιόδους της εφηβείας και της εμμηνόπαυσης, απόρροια ενδοκρινολογικής επίδρασης στο ανοσολογικό σύστημα (Duquette P, 1992).

Και στις ΗΠΑ, η ΣΚΠ είναι πιο συχνή μεταξύ των γυναικών, οι οποίες αποτελούν το 73% των περιστατικών. Στην εικόνα 7 παρουσιάζεται η αναλογία ανδρών-γυναικών στον γενικό πληθυσμό και στον πληθυσμό με ΣΚΠ, στις ΗΠΑ, από όπου υπάρχουν και τα περισσότερα στοιχεία και οι πιο εκτενείς μελέτες.

Εικόνα 7

Αναλογία ανδρών-γυναικών στο γενικό πληθυσμό και στη ΣΚΠ, στις ΗΠΑ



Β) Φυλή

Η διαφορετική γεωγραφική κατανομή της ΣΚΠ ανάγκασε τους ερευνητές να στραφούν στην αναζήτηση τυχόν φυλετικών χαρακτηριστικών, που είναι δυνατόν να την προκαλέσουν. Για το σκοπό αυτό συγκεντρώθηκαν στοιχεία από ομάδες της ίδιας φυλής, που ζουν σε διαφορετικές χώρες και συγκρίθηκαν με αυτά της χώρας προέλευσης. Βρέθηκε, με τον τρόπο αυτό, ότι οι τιμές επιπολασμού είναι υψηλότερες στις χώρες της Βόρειας Ευρώπης και στις χώρες εκείνες που κατοικούνται από Ευρωπαίους μετανάστες (Βόρεια Αμερική, Αυστραλία, Νέα Ζηλανδία). Το γεγονός αυτό όμως, έρχεται σε σύγκρουση με τις χαμηλές τιμές και επομένως τη σπανιότητα της νόσου στους λευκούς της Νότιας Αφρικής και της Αυστραλίας (Martyn C, 1991).

Η νόσος είναι σπάνια στους μαύρους της Ζιμπάμπουε και της Νότιας Αφρικής, αν και είναι πολύ λίγες οι έρευνες που έχουν γίνει εκεί (Dean G, 1994). Στις ΗΠΑ οι τιμές του επιπολασμού μεταξύ των μαύρων, είναι μεγαλύτερες από αυτές που φαίνεται ότι είναι στην Αφρική, αλλά μικρότερες των λευκών (Kurtzke JF, 1979). Το συμπέρασμα αυτό προέκυψε από σημαντικές μελέτες μεταξύ των βετεράνων του 2^{ου} παγκοσμίου πολέμου και του πολέμου της Κορέας. Στις ίδιες μελέτες φαίνεται επίσης ότι ο κίνδυνος να νοσήσει ένας μαύρος Αμερικανός από ΣΚΠ, όπως επίσης και ένας Αμερικανός άλλης εθνικής προέλευσης (Κίνας, Ιαπωνίας, Ισπανίας,

Φιλιππίνων) είναι πολύ χαμηλότερος από εκείνον του λευκού Αμερικανού. Πάντως, ανεξάρτητα από φυλετική προέλευση και οι τρεις πληθυσμιακές ομάδες εμφανίζουν την ίδια μεταβολή στις τιμές επιπολασμού από βορρά προς νότο (Kurtzke JF, 1979).

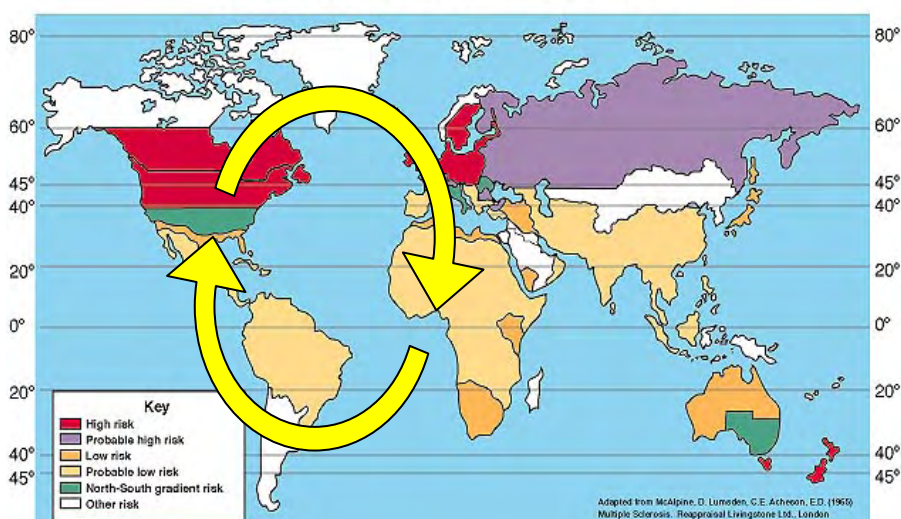
Καταλήγοντας την αναφορά αυτή, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η ευαισθητοποίηση που οφείλεται σε φυλετικά αίτια, δεν θα μπορούσε να είναι ο μόνος παράγοντας καθορισμού της συχνότητας της νόσου.

Γ) Μετανάστευση

Οι ισχυρότερες ενδείξεις ότι κάποιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες υπεισέρχονται στην αιτιοπαθογένεια της ΣΚΠ προέρχονται από μελέτες που στηρίχθηκαν στη μετανάστευση (εικόνα 8).

Εικόνα 8

Επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων σε μετανάστες πριν την ηλικία των 15 ετών



Βασίζονται στη λογική ότι η εμφάνιση μιας καθαρά γενετικής νόσου δεν θα επηρεασθεί από τη μετανάστευση, πράγμα που θα συμβεί όταν ένας περιβαλλοντικός παράγοντας διαμορφώσει συνθήκες νόσησης στη χώρα υποδοχής. Παράλληλα, εάν καταμετρηθεί ο επιπολασμός στους μετανάστες, κατά ομάδα ηλικιών, είναι δυνατόν να προσδιορισθεί σε ποια ηλικία αποκτήθηκε η νόσος, ή η προδιάθεση για αυτήν.

Πολλές μελέτες δεικνύουν ότι άτομα που μεταναστεύουν από ζώνη υψηλού κινδύνου, σε ζώνη χαμηλού κινδύνου κουβαλούν μαζί τους μέρος του κινδύνου της περιοχής προέλευσής τους (Adams RD, 2001). Βρέθηκε ότι άτομα που μετανάστευσαν σε μικρή ηλικία από χώρες με υψηλή συχνότητα της νόσου σε χώρες με χαμηλή συχνότητα, εμφάνισαν τη συχνότητα της χώρας προορισμού τους, ενώ αν μετανάστευσαν σε ηλικία μεγαλύτερη των 15 ετών εμφάνισαν συχνότητα ανάλογη με της χώρας από όπου ξεκίνησαν (Dean G & Kurtzke JF, 1971, Alter M, 1978). Αυτό επιβεβαιώθηκε με μελέτες (Dean G, 1967) μεταναστών από τη Βόρεια Ευρώπη, περιοχή υψηλού κινδύνου, στη Νότια Αφρική, περιοχή χαμηλού κινδύνου.

Αλλά και η χαμηλή συχνότητα των Αφρικανών αυξήθηκε στην δεύτερη γενιά μεταναστών που μεγάλωσε στη Μεγάλη Βρετανία (Elian M, 1987). Το γεγονός αυτό, είναι ενδεικτικό της δράσης κάποιου περιβαλλοντικού παράγοντα στα πρώτα χρόνια της ζωής του πάσχοντα (Alter M, 1966, Dean G, 1967).

Όλα τα παραπάνω οδηγούν στην εξαγωγή του συμπεράσματος ότι η ΣΚΠ δεν είναι μια αμιγώς γενετική νόσος, αλλά οι τιμές του επιπολασμού είναι δυνατόν να μεταβάλλονται με την αλλαγή του περιβάλλοντος και το ενδεχόμενο γεγονός που μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη της νόσου πρέπει να αναζητηθεί στα πρώτα χρόνια της ζωής.

III. Λοιμώδεις Παράγοντες

Εφόσον τα επιδημιολογικά δεδομένα συγκλίνουν στην πιθανότητα ύπαρξης περιβαλλοντικής συνιστώσας στην εμφάνιση της νόσου, πιθανότερος υποψήφιος είναι κάποιος λοιμογόνος παράγων (Kurtzke JF, 1993) όπως κάποιος ιός.

Σημαντικές ενδείξεις προς αυτή την κατεύθυνση προκύπτουν από την μελέτη επιδημικών εμφανίσεων της ΣΚΠ σε απομονωμένες περιοχές. Χαρακτηριστικές περιπτώσεις αποτελούν τα νησιά Orkney και Shetlands (Kurtzke JF, 1982, Cook SD, 1985, Cook SD, 1988) που βρίσκονται βορείως της Σκωτίας και στην Ισλανδία αντίστοιχα, αλλά και τα νησιά Faeroe (Kurtzke JF & Hyllested K, 1975, Kurtzke JF & Hyllested K, 1979). Στα τελευταία, η ΣΚΠ εμφανίσθηκε επιδημικά κατά τη διάρκεια κατοχής τους από ξένα στρατεύματα χωρών με μεγάλο επιπολασμό.

Εξάλλου, έχει παρατηρηθεί ότι η ιϊκή εγκεφαλίτιδα στα παιδιά μπορεί να ακολουθείται από απομυελίνωση. Ένα άλλο στοιχείο ενισχυτικό της άποψης ότι η απομυελίνωση στη ΣΚΠ μπορεί να προκύπτει από ιϊκή λοίμωξη, αποτελεί το πιο μελετημένο ζωϊκό μοντέλο επαγόμενης από ιό απομυελίνωσης. Πρόκειται για τον πικορναϊό Theiler των ποντικών. Λοίμωξη από στελέχη του ιού καταλήγει σε προσβολή των ολιγοδενδροκυττάρων με πολυεστιακή περιαγγειακή λεμφοκυτταρική διήθηση και απομυελίνωση.

Ιοί που έχουν ανευρεθεί σε ασθενείς με ΣΚΠ είναι οι ιοί της ιλαράς, ερυθράς, παρωτίτιδας, κορωναϊοί, παραϊνφλουένζας, απλού έρπητα, Epstein-Barr (EBV) και τύπου I λεμφοτροπικού ιού των T-κυττάρων του ανθρώπου, χωρίς όμως κανένας από αυτούς να έχει ανιχνευθεί επαναλήψιμα.

Λοιμώδεις παράγοντες όπως ο ιός του έρπητα-6 (HHV-6), ο ιός της Influenza, ο ιός της ιλαράς, ο ιός του θηλώματος (papilloma virus), ο EBV και τα χλαμύδια της πνευμονίας (Chlamydia pneumoniae), έχουν γονίδια που κωδικοποιούν αλληλουχίες παρόμοιες με αυτές στις βασικές δομικές πρωτεΐνες της μυελίνης. Και πραγματικά, αντισώματα σε συστατικά του μυελινικού ελύτρου κάνουν διασταυρούμενες αντιδράσεις και συνδέονται με αλληλουχίες από τις πρωτεΐνες αυτών των ιών (Warren KG, 1995, Wucherpfennig KW, 1997). Τα T-λεμφοκύτταρα επίσης, αναγνωρίζουν αλληλουχίες από το έλυτρο της μυελίνης, κοινές με αυτές σε παθογόνους μικροοργανισμούς (Wucherpfennig KW & Strominger JL, 1995).

Πιο αναλυτικά, ο EBV είναι ένας λεμφοτρόπος ιός. Προηγούμενη έκθεση στον EBV, όπως επιβεβαιώνεται από την θετική παρουσία IgG αντισωμάτων έναντι αυτού, αναφέρεται σχεδόν στο 100% των ασθενών με ΣΚΠ, συγκριτικά με μόνο 90% IgG και 4% IgM οροθετικότητας σε φυσιολογικούς μάρτυρες (Wandinger K, 2000). Οι ερευνητές διαφωνούν ως προς το ότι είναι απαραίτητη η προηγούμενη έκθεση στον

ιό για την εκδήλωση της ΣΚΠ. Σε μία αναφορά, η επανενεργοποίηση του ιού, όπως τεκμηριώθηκε από την εύρεση του DNA του EBV στο αίμα ασθενών, φαινόταν να αντιστοιχεί σε οξείες υποτροπές της νόσου (Wandinger K, 2000).

Ο ιός του απλού έρπητα τύπου 6 (HHV-6) είναι λεμφοτρόπος και νευροτρόπος και ενδεχομένως εμπλέκεται στην εξέλιξη της ΣΚΠ, αν και τα αποτελέσματα είναι αντιφατικά. Είναι ένας παράγοντας που προκαλεί roseola subitum στα παιδιά. Πάνω από το 90% των ενηλίκων φέρουν αντισώματα, ενώ η λοίμωξη, κυρίως ασυμπτωματική, πιθανώς προκύπτει στην παιδική ηλικία. Μερικοί ερευνητές βρήκαν DNA του ιού μέσα σε ενεργείς απομυελινωτικές πλάκες (Challoner PB, 1995) αλλά και περιφερικά των πλακών. Το DNA του HHV-6, καθώς και υψηλά επίπεδα IgM αντισωμάτων έναντι του ιού έχουν βρεθεί σε ασθενείς με RR μορφή της νόσου (Soldan SS, 1997). Ωστόσο υπάρχουν ερευνητές που δεν έχουν βρει παρόμοια συσχέτιση ανάμεσα στον HHV-6 και στην ΣΚΠ (Mayne M, 1998).

Τα χλαμύδια της πνευμονίας (*Chlamydia pneumoniae*) είναι gram (-) ενδοκυττάριοι οργανισμοί που αποτελούν κοινά παθογόνα του αναπνευστικού συστήματος. Υπάρχει μία μελέτη στην οποία καλλιεργήθηκε το *C. pneumoniae* από το ENY σε 64% ασθενών με ΣΚΠ σε σχέση με 11% φυσιολογικών μαρτύρων (Sriram S, 1999). Ωστόσο τα αποτελέσματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν από άλλα εργαστήρια. Δεν είναι ξεκάθαρο αν οι παραπάνω μικροοργανισμοί είναι παθογόνοι για τη συγκεκριμένη νόσο, ή απλά αποκαλύπτονται επειδή οι ασθενείς έχουν προσβεβλημένο ΚΝΣ και μία αυτοάνοση διαδικασία σε εξέλιξη.

Μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη προκειμένου να διαπιστωθεί η δυνατότητα μείωσης της συχνότητας των επεισοδίων της ΣΚΠ μέσω προφυλακτικής αγωγής με αντι-ιικούς παράγοντες. Τελικά, είναι πιθανόν να μην υφίσταται ένας μοναδικός ιός που να πυροδοτεί την απομυελίνωση σε όλους τους ασθενείς, αλλά να εμπλέκονται πολλοί διαφορετικοί ιοί.

IV. Κοινωνικοπολιτισμικοί παράγοντες

Ο τρόπος ζωής των διαφόρων κοινωνικών ομάδων μπορεί να επηρεάσει τις επιδημιολογικές συνιστώσες μίας νόσου. Επομένως, διαφορές στη διατροφή, στην υγιεινή, στις αστικές ή αγροτικές συνθήκες διαβίωσης έγιναν και γίνονται αντικείμενο διερεύνησης, παρ' ότι οι συσχετίσεις που προκύπτουν μεταξύ των κοινωνικοπολιτισμικών παραγόντων και του κινδύνου ανάπτυξης της ΣΚΠ δεν είναι εύκολο να αξιολογηθούν.

Τα λίπη στη δίαιτα έχουν απασχολήσει πολλούς ερευνητές (Swank & Dugan, 1990, Lauer K, 1997, Payne A, 2001). Αναφέρεται ότι δίαιτες πλούσιες σε κορεσμένα λίπη μπορεί να προκαλέσουν σχετική έλλειψη σε απαραίτητα λιπαρά οξέα (EFAs) και αυτό μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία της μυελίνης (Ben-Shlomo Y, 1992). Μαζί τα omega-6 (n-6) και τα omega-3 (n-3) EFAs είναι δομικής σημασίας για το ΚΝΣ ως συστατικά των εγκεφαλικών ιστών και του ελύτρου της μυελίνης. Περίπου 70% του ελύτρου της μυελίνης αποτελείται από λιπίδια, από τα οποία το 1/3 είναι πολυακόρεστα, με αναλογία n-6:n-3=1:1 (Crawford MA, 1979, Hutter CD & Laing P, 1996). Χαμηλά επίπεδα n-6 και n-3 EFAs έχουν διαπιστωθεί στα ερυθροκύτταρα ασθενών με ΣΚΠ, αλλά αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στην ίδια την πορεία της νόσου, είτε στην επίδρασή της στην διαιτητική πρόσληψη EFAs (Crawford MA, 1979). Ο Fitzgerald και οι συνεργάτες του (Fitzgerald G, 1987) έχουν δείξει ότι η

σύνθεση της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων σε λιπαρά οξέα και η κατάσταση, όσον αφορά στα EFAs, του πλάσματος ασθενών με ΣΚΠ σχετίζονται σοβαρά με τη διαιτητική πρόσληψη EFAs.

Δίαιτα χαμηλή σε λιπαρά (<20 g/24ωρο) αναφέρεται, μετά από παρατηρήσεις αρκετών ετών, ότι μπορεί να δράσει ευνοϊκά, μειώνοντας τον αριθμό των υποτροπών και την αναπηρία (Swank & Dugan, 1990). Αντίθετα, αναφέρονται θετικές επιπτώσεις σε αρρώστους που διατρέφονται με δίαιτα υψηλή σε λιπαρά. Ενδεχομένως, το γεγονός ότι η ΣΚΠ είναι σχεδόν άγνωστη στους λευκούς της Νότιας Αφρικής, να σχετίζεται με τις διατροφικές τους συνήθειες, καθώς οι τροφές τους περιέχουν υψηλά λιπαρά.

Εκτός από τα λίπη αναφέρονται και άλλοι διαιτητικοί παράγοντες που επηρεάζουν την επιδημιολογία της νόσου, όπως τα δημητριακά, το ασβέστιο και οι βιταμίνες A, D (εικόνα 4) και E.

Αρκετές δημοσιεύσεις καταδεικνύουν ότι υψηλές τιμές επιπολασμού βρίσκονται σε πληθυσμιακές ομάδες που ζουν σε περιβάλλον με πολύ καλές συνθήκες υγιεινής, καλύτερο επίπεδο μόρφωσης και γενικότερα υψηλότερης κοινωνικοοικονομικής κατάστασης.

Τέλος, επικρατεί η άποψη ότι οι αστικές συνθήκες διαβίωσης δίνουν μεγαλύτερες τιμές επιπολασμού από ότι οι αγροτικές.

2) ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως περιγράφηκε, ασκούν επίδραση στην εμφάνιση της νόσου, χωρίς όμως να αρκούν για να εξηγήσουν την αιτιοπαθογένεια της ΣΚΠ. Έτσι, οι επιδημιολογικές μελέτες, στρέφονται στη διερεύνηση της πιθανής ύπαρξης γενετικής συνιστώσας στην αιτιοπαθογένεια της νόσου, καθώς φαίνεται ότι γενετικοί παράγοντες μπορεί να επηρεάσουν την προδιάθεση προς απομυελίνωση και την κλινική εικόνα της νόσου.

Οι δύο βασικοί τύποι μελετών που αποπειρώνται να εξηγήσουν την συμμετοχή του γενετικού παράγοντα στην αιτιοπαθογένεια της νόσου είναι οι μελέτες οικογενειών ασθενών και διδύμων και οι γονιδιακές μελέτες.

I. Μελέτες οικογενειών ασθενών και διδύμων

Για πρώτη φορά στα τέλη του 19^{ου} αιώνα τέθηκε το ζήτημα της γενετικής προδιάθεσης στη ΣΚΠ με την αναγνώριση της οικογενειακής προδιάθεσης (familial aggregation) (Eichhorst H, 1896, Mackay RP, 1950). Στην πορεία του χρόνου, κατά τη μελέτη των οικογενειών των ασθενών με ΣΚΠ, έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία περιπτώσεις οικογενειών με περισσότερα του ενός προσβεβλημένα μέλη, συνήθως αδέρφια, όπου είχε προταθεί ο οικογενής χαρακτήρας της νόσου, ενώ σε κάποιες μελέτες προτείνεται μάλιστα η μεταβίβαση της νόσου σύμφωνα με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα (Mackay RP & Myriantboroylos NC, 1966).

Εντούτοις, μόλις το 1988 δημοσιεύθηκαν οι πρώτες μελέτες που παρουσίασαν τον διορθωμένο, ανάλογα με την ηλικία, κίνδυνο επανεμφάνισης της νόσου στους συγγενείς ασθενών με ΣΚΠ (Sadovnick AD, 1988 & 1991, Sadovnick AD & Baird PA, 1988). Βρέθηκε λοιπόν ότι οι πρώτου, δευτέρου και τρίτου βαθμού

συγγενείς των ασθενών με ΣΚΠ είναι πιο πιθανό να εμφανίσουν τη νόσο σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό και ότι ο κίνδυνος αυτός σχετίζεται με τον βαθμό συγγένειας (Sadovnick AD, 1988, Compston DA, 1990 & 1991). Έκτοτε, η συμμετοχή των γενετικών παραγόντων στη ΣΚΠ επιβεβαιώθηκε μέσω πολλών εργασιών που μελετούν τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου μεταξύ αδελφών, είτε απλών, είτε διδύμων (διζυγωτικών, ΔΖ και μονοζυγωτικών, ΜΖ), καθώς και μεταξύ γονέων και παιδιών, είτε φυσικών, είτε υιοθετημένων. Μία κοινή μέτρηση στις μελέτες αυτές είναι ο σχετικός κίνδυνος επανεμφάνισης (recurrence risk ratio) (λ), μία τιμή η οποία προκύπτει συγκρίνοντας τους ρυθμούς επανεμφάνισης της νόσου σε συγγενείς ασθενών, με τον επιπολασμό της νόσου στον γενικό πληθυσμό (Kenealy SJ, 2003). Έτσι έχει βρεθεί ότι υπάρχει αυξημένος σχετικός κίνδυνος (λ) 100-190 μεταξύ ΜΖ διδύμων, 20-40 μεταξύ αδελφών, 7-13 μεταξύ ετεροθαλών αδελφών και 5,5 σε παιδιά των οποίων ο ένας γονέας πάσχει από ΣΚΠ (συνολικά αναφέρεται οικογενής επανεμφάνιση της νόσου σε ποσοστό περίπου 15%) (Sadovnick AD, 1993 & 1996, Mumford CJ, 1994, Robertson NP, 1996). Σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό αυτοί οι αυξημένοι κίνδυνοι υποδηλώνουν ότι υπάρχει μια ισχυρή κληρονομικότητα της προδιάθεσης για τη νόσο που δεν ακολουθεί τους κλασικούς νόμους του Mendel, τείνοντας να αποκλείσουν τη μεταβίβαση της νόσου με μονογονιδιακή επικρατητική ή υπολειπόμενη κληρονομικότητα (Sadovnick AD, 1988, Sadovnick AD & Baird PA, 1988, Sadovnick AD, 1991).

Τα αποτελέσματα του Ebers και των συνεργατών του σε μία μελέτη με υιοθετημένα άτομα (adoption study) (Ebers GC, 1995), δείχνουν καθαρά ότι τα υιοθετημένα άτομα παρόλο που έχουν ανατραφεί από νεογνικής ηλικίας σε οικογένειες πασχόντων από ΣΚΠ, έχουν την ίδια πιθανότητα να εμφανίσουν τη νόσο όσο και ο γενικός πληθυσμός. Ο κίνδυνος δεν αυξάνεται επίσης, ούτε για μη-βιολογικούς συγγενείς υιοθετημένων που αναπτύσσουν ΣΚΠ (Compston A, 1999 & 2002). Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι η οικογενής συσσώρευση περιστατικών με ΣΚΠ σχετίζεται μάλλον με γενετικούς παράγοντες παρά με κοινό οικογενειακό περιβάλλον ή μεταδοτικό παράγοντα.

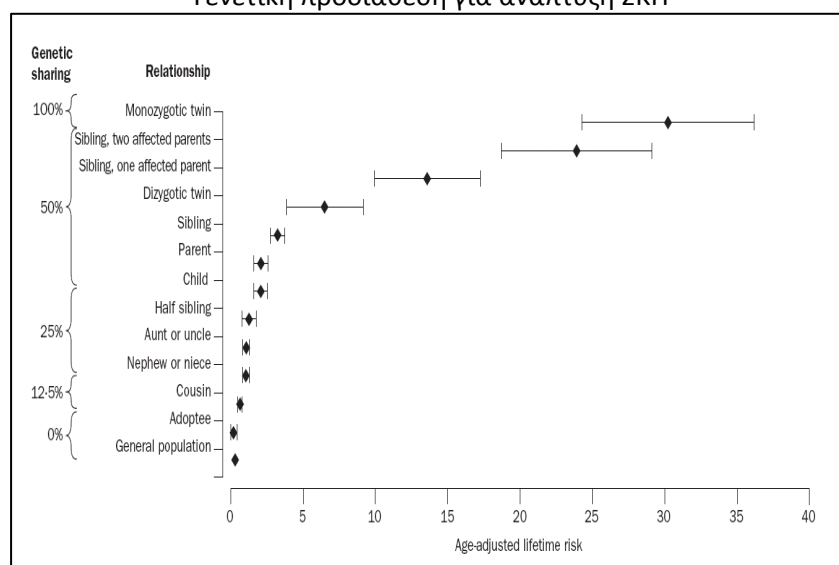
Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξε και η εργασία του Sadovnick και των συνεργατών του (Sadovnick AD, 1996) με ετεροθαλή αδέρφια ατόμων με ΣΚΠ (half-sibling study). Βρέθηκε επιπλέον ότι ο κίνδυνος επανεμφάνισης της νόσου σε ετεροθαλή αδέρφια ασθενών με ΣΚΠ, είναι 1,32% και είναι σημαντικά μικρότερος απ' ό,τι των κανονικών αδερφών (3,46%) μέσα στην ίδια οικογένεια.

Σημαντικά αποτελέσματα προκύπτουν και από μελέτες που αφορούν σε παιδιά οικογενειών όπου και οι δύο γονείς πάσχουν από ΣΚΠ. Σε δύο πολύ σημαντικές εργασίες (Robertson NP, 1997, Ebers GC, 2000), προκύπτει ότι ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου στα παιδιά αυτά είναι σημαντικά υψηλότερος σε σχέση με τα παιδιά οικογενειών που πάσχει μόνο ένας από τους δύο γονείς (30,5% σε σχέση με 2,49% αντίστοιχα σύμφωνα με τον Ebers).

Όσον αφορά στις μελέτες σε διδύμους, αυτές αποτελούν την κλασική μέθοδο διερεύνησης της βαρύτητας της συμμετοχής του γενετικού και του περιβαλλοντικού παράγοντα στα νοσήματα. Στις μελέτες αυτές γίνεται σύγκριση της εμφάνισης της νόσου και στα δύο αδέρφια στις περιπτώσεις ΜΖ, ΔΖ και μη-διδύμων αδελφών. Η σύγκριση της συμφωνίας (προσβολής και των δύο διδύμων) μεταξύ ΜΖ και ΔΖ διδύμων αποτελεί μέτρο της επίδρασης του γενετικού παράγοντα, βασιζόμενο στο γεγονός ότι οι ΜΖ δίδυμοι είναι γενετικά πανομοιότυποι, ενώ οι ΔΖ

ομοιάζουν γενετικά όσο τα μη-δίδυμα αδέρφια. Η σύγκριση μεταξύ ΔΖ και μη-διδύμων αδελφών αποτελεί τρόπο αξιολόγησης της επίδρασης μη-γενετικών παραγόντων, βασιζόμενο στο γεγονός ότι οι ΔΖ δίδυμοι μοιράζονται ένα περιβάλλον περισσότερο όμοιο από ότι τα μη-δίδυμα αδέρφια. Έτσι λοιπόν σε διάφορες μελέτες (Bobowick AR, 1978, Ebers GC, 1986, Sadonnick AD, 1993, Mumford CJ, 1994, Sadonnick AD & Ebers GC, 1995) το ποσοστό επανεμφάνισης σε ΜΖ δίδυμους είναι περίπου 30% (εικόνες 9 και 10) έναντι μόλις 2%-5% σε ΔΖ διδύμους.

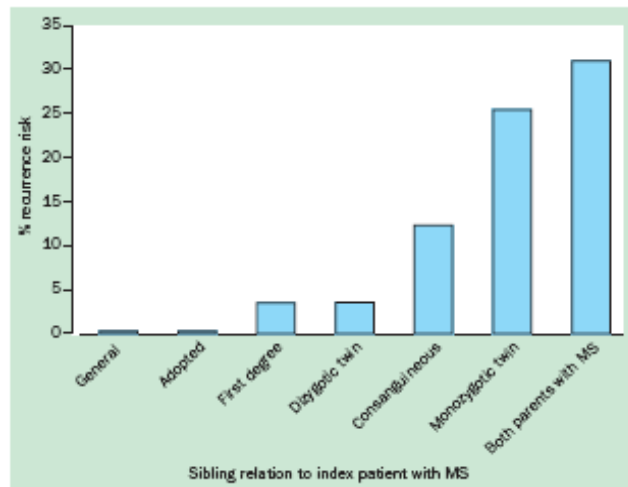
Εικόνα 9
Γενετική προδιάθεση για ανάπτυξη ΣΚΠ



Compston A, Lancet, 2002

Τα προηγούμενα, ιδιαίτερα η μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης ΣΚΠ στους ΜΖ διδύμους σε σχέση με τους ΔΖ, συνδυαζόμενα με την διαφορετική συχνότητα της νόσου στις διάφορες φυλές, όπως αναφέρθηκε ανωτέρω, προτείνουν την ύπαρξη γενετικής συνιστώσας στην εμφάνιση της ΣΚΠ, η οποία συνιστώσα πάντως είναι μάλλον αυθεντικά πολυγονιδιακή (Compston A, 2002) παρά μονογονιδιακή. Λαμβανομένης υπόψιν και της περιβαλλοντικής συνιστώσας στην αιτιοπαθογένεια της νόσου, προτείνεται η απόδοση στη ΣΚΠ του χαρακτηρισμού του πολυπαραγοντικού νοσήματος (complex trait).

Εικόνα 10
Κίνδυνος επανεμφάνισης της ΣΚΠ



Dyment DA, Lancet, 2004

II. Γονιδιακές μελέτες

Τα γονίδια που ευθύνονται για τα πολυπαραγοντικά νοσήματα δεν προκαλούν παθήσεις μέσω κάποιων μεταλλάξεών τους που κωδικοποιούν δομικώς τροποποιημένα γονιδιακά προϊόντα, παρά μέσω φυσιολογικών πολυμορφισμών. Δρουν είτε ανεξάρτητα ή μέσω επίστασης και κάθε πολυμορφισμός μπορεί να συμμετέχει με μικρή συμβολή σε ένα συλλογικό αποτέλεσμα πάνω σε μια, αδιευκρίνιστη ακόμη, δομική ή φυσιολογική λειτουργία. Αυτά τα γονίδια ονομάζονται γονίδια επιρρέπειας (susceptibility genes) και μπορούν να αναγνωρισθούν με μεθόδους ανάλυσης συσχετισμού ή ανάλυσης σύνδεσης, ή και τα δύο, οι οποίες είτε στοχεύουν σε υποψήφιες περιοχές του γονιδιώματος, είτε εφαρμόζονται συστηματικά κατά μήκος ολόκληρου του γονιδιώματος. Τα γονίδια, των οποίων οι πολυμορφισμοί θα εξετασθούν ως προς την παρουσία τους σε ασθενείς με ΣΚΠ στην παρούσα εργασία, θεωρούνται υποψήφια γονίδια επιρρέπειας γι' αυτή τη νόσο.

Η συνεισφορά υποψήφιων γονιδιακών τόπων στην επιρρέπεια προς ΣΚΠ εκτιμάται με δύο συμπληρωματικές μεθόδους. Πρώτον, **την προσέγγιση του συσχετισμού**, όπου ανιχνεύονται συσχετισμοί μεταξύ συγκεκριμένων γενετικών δεικτών και ΣΚΠ, σε μελέτες πληθυσμού. Συνηθέστερα, αυτό γίνεται με τη μέθοδο περίπτωσης-μάρτυρα (case-control). Συγκρίνεται η συχνότητα ενός αλληλόμορφου γονιδίου μεταξύ μιας ομάδας πασχόντων και μιας ομάδας φυσιολογικών ατόμων ελέγχου. Όταν υπάρχει διαφορά σημαίνει ότι υπάρχει γενετική σύνδεση ανάμεσα στην ασθένεια και το γενετικό δείκτη (αλληλόμορφο), που εμφανίζεται ως ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium). Μικρές εθνολογικές και τοπικές γενετικές διαφορές μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τα πειραματικά αποτελέσματα. Μια εναλλακτική λύση ώστε να παρακαμφθεί αυτό το πρόβλημα είναι η χρήση γονικών απλοτύπων που δεν μεταβιβάζονται στους ασθενείς ως απλότυποι μάρτυρες. Δεύτερον, **την προσέγγιση της ανάλυσης σύνδεσης**, όπου

αναγνωρίζεται η σύνδεση μεταξύ κάποιου συγκεκριμένου γενετικού τόπου και της ΣΚΠ. Η καθιερωμένη μέθοδος ανάλυσης σύνδεσης στη ΣΚΠ είναι η αναζήτηση απλοτύπων, μέσω ανάλυσης της μετάδοσής τους, που είναι κοινοί σε ζεύγη προσβεβλημένων αδελφών. Εντούτοις, όταν ένας γονιδιακός τόπος έχει ελάσσονα συμβολή στην επιρρέπεια της νόσου, αυτή η τακτική μπορεί να μην ανιχνεύσει τη σύνδεση και να πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα πιο ισχυρό τεστ ανάλυσης σύνδεσης, όπως η εξέταση ανισορροπίας μετάδοσης (Transmission Disequilibrium Test, TDT).

Λόγω της φλεγμονώδους φύσεως του παθογενετικού μηχανισμού που φαίνεται να διαμεσολαβεί στη βλάβη του ΚΝΣ στη ΣΚΠ, οι μελέτες συσχέτισμού και ανάλυσης σύνδεσης εστιάστηκαν σε υποψήφια γονίδια που κωδικοποιούν ανοσοσχετιζόμενα μόρια.

Στα γονίδια που εξετάστηκαν περιλαμβάνονται τα γονίδια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC), γνωστό και ως σύστημα αντιγόνων ανθρωπίνων λευκοκυττάρων (Human Leukocyte Antigen System, HLA), τα γονίδια που ελέγχουν την α και β αλυσίδα του υποδοχέα των Τ-λεμφοκυττάρων (T-cell receptor, TCR), τα γονίδια για τις βαρείες αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών (immunoglobulins, Ig), τα γονίδια της βασικής πρωτεΐνης της μυελίνης (Myelin Basic Protein, MBP) (Martin R, 1991, Valli A, 1993), δεδομένου ότι κωδικοποιούν τα μόρια στόχους της αυτοάνοσης διαδικασίας στη ΣΚΠ, το γονίδιο του παράγοντα νέκρωσης όγκων- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α), λόγω της ανεύρεσής του στις απομυελινωτικές βλάβες και των ενδείξεων συμμετοχής του στην παθογένεση της βλάβης, αλλά και λόγω των αυξημένων επιπέδων του στο ΕΝΥ, που σχετίζονται με την πρόοδο και τη σοβαρότητα της νόσου, γονίδια κυτταροκινών, που θα μελετηθούν στην παρούσα εργασία και για λόγους που αναπτύσσονται παρακάτω και αρκετά άλλα γονίδια.

Μέχρι σήμερα, το μόνο επιβεβαιωμένο γενετικό χαρακτηριστικό που προκύπτει από τις μελέτες αυτές είναι η συσχέτιση της νόσου με αλληλόμορφα και απλότυπους από το MHC που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6p21 (Olerup O, 1991, Haegert DG, 1993, Hillert J, 1994, Allen M, 1994, Kellar-Wood HF, 1995, Erpelen C, 1997, Dymont DA, 1997, Coraddu F, 1998, Noseworthy JH, 1999), αν και υπάρχουν αναφορές και για πολλούς άλλους γενετικούς τόπους (πίνακας 2), μεταξύ των οποίων και η περιοχή 2q14, όπου έχει χαρτογραφηθεί η οικογένεια των γονιδίων της IL-1 (Mann CL, 2002, Heggarty S, 2003, Kenealy SJ, 2004). Το MHC είναι μία περιοχή του γονιδίου μεγέθους τεσσάρων μεγαβάσεων που περιέχει τα κλασσικά HLA γονίδια καθώς και τουλάχιστον 128 άλλα γονίδια, το 40% των οποίων είναι ανοσολογικώς σχετικά (Beck S, 2000).

Πίνακας 2

Γονιδιακοί τόποι με (+) συσχέτιση με τη ΣΚΠ

Table 3. Positive linkage regions in eight genome scans⁸⁹⁻⁹⁶

Chr1	p35 ^C , p21 ^U , q11-24 ^N , q31 ^S , q42-44 ^A
Chr2	p23 ^{Am} , p21 ^C , p13 ^A , q24-33 ^{F,N,C} , 2q36 ^C
Chr3	p26 ^N , p25 ^C , p14 ^C , q21-24 ^{Am,G,NA,F} , 3q26 ^C
Chr4	p16 ^C , q12 ^{N,F} , q24 ^A , q26-28 ^{A,C} , q31-35 ^{A,Am}
Chr5	p14-16 ^F , p14-12 ^F , q11-13 ^{A,U} , q13-23 ^{Am,C} , q33 ^I
Chr6	p25 ^N , p21 ^{N,F,Am} , q14 ^C , q21 ^N , q22 ^I , q26 ^A , q27 ^A
Chr7	p21 ^C , p15 ^C , p14 ^C , q11 ^{Am} , q21-22 ^{Am,C} , q32-35 ^{A,Am}
Chr8	8p23-21 ^A
Chr9	q21 ^A , p24-22 ^{Am} , q34 ^{N,Am}
Chr10	p15 ^N , p12-13 ^N , cen ^I , q21-22 ^{Am,F} , q24 ^B , q26 ^C
Chr11	p15 ^{N,S,Am} , q25 ^F , q22 ^C
Chr12	12p13 ^U , q21 ^N , q23 ^{Am} , q24 ^{Am}
Chr13	q31-32 ^A , q33-34 ^{Am}
Chr14	q32 ^C
Chr15	q21 ^{I,C}
Chr16	p13 ^{N,A,Am} , p11 ^A , q23-24 ^A , q12 ^C
Chr17	p13 ^A , q22-24 ^{F,U} , q25 ^N
Chr18	p11 ^{A,F,C,Am} , q21 ^C
Chr19	q13 ^{F,Am,C}
Chr20	p12 ^A
Chr21	--
Chr22	q12-13 ^{N,U}
ChrX	p21 ^{A,C} , p11 ^{A,C} , p22 ^{N,C} , q23-28 ^A , q26 ^C

S=Sardinian, maximum lod score (MLS)>1.8, three regions; A=Australian, MLS>0.7, 22 regions; N=Nordic, lod>0.7, 17 regions; I=Italian, lod>0.7, eight regions; C=Canadian, 56% sharing, 28 regions; Am=American/French, positive in at least 2/3 tests, 19 regions; U=United Kingdom, MLS>1.8, six regions; F=Finnish, NPL>1.0, ten regions.

Dyment DA, Lancet, 2004

Εντούτοις, πρόσφατα, έχουν αναφερθεί πολύ καλά τεκμηριωμένες συσχετίσεις, με δύο απλούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς, έναν στην άλφα αλυσίδα του γονιδίου του υποδοχέα της IL-2 (IL2RA, rs2104286) στο χρωμόσωμα 10p15 και έναν στο γονίδιο του υποδοχέα της IL-7 (IL7R, rs6897932) στο χρωμόσωμα 5p13 (Lundmark F, 2007, Gregory SG, 2007, International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, 2007, Weber F, 2008). Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι επιπρόσθετα γονίδια που εμπλέκονται στην αιματοποίηση, ενδεχομένως παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθολογία της ΣΚΠ. Από τις πρώτες case-control μελέτες του HLA είχε προταθεί συσχετισμός με τους HLA-A3 και -B7 ορολογικούς υποτύπους της τάξης I, που αργότερα θεωρήθηκαν ως δευτερεύοντες συσχετισμοί λόγω ενός ισχυρότερου συσχετισμού με το HLA-DR2 της τάξης II (Tiwari JL, 1985). Λόγω του τελευταίου συσχετισμού και του γεγονότος ότι η ΕΑΕ και άλλες αυτοάνοσες νόσοι έχουν συσχετισθεί με το τάξης II MHC, οι περισσότερες μελέτες του HLA επικεντρώθηκαν στην περιοχή της τάξης II, που διαιρείται σε τρεις κύριες υποπεριοχές, DP, DQ και DR, καθεμία από τις οποίες περιλαμβάνει τουλάχιστον ένα ζεύγος εκφραζόμενων γονιδίων που κωδικοποιεί ένα ζεύγος λειτουργικών α και β αλύσεων, οι οποίες απαντώνται σε διάφορα κύτταρα εμπλεκόμενα στην ανοσιακή απάντηση. Ιδιαίτερα μάλιστα το ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί σε μια μικρή υποομάδα των γονιδίων αυτών τα HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1 και στον TNF-α. Οι ορολογικές μελέτες έδειξαν μη-συσχετισμό σε κάποιους πληθυσμούς, θεωρούνται όμως αβέβαιης σημασίας λόγω των αδυναμιών τους να αναγνωρίσουν προϊόντα όλων των αλληλόμορφων, όπως π.χ., των υποτύπων του DR2 και λόγω του σημαντικού βαθμού σφάλματος που έχουν. Οι βασιζόμενες σε ανάλυση DNA μελέτες πληθυσμού προτείνουν συσχετισμό της ΣΚΠ με τον συχνό στους Καυκάσιους DR2 απλότυπο DRB1 1501-DQA1 0102-DQB1 0602 στους

περισσότερους πληθυσμούς (Tiwari JL, 1985, Olerup O, 1991, Haegert DG, 1994). Αυτό σημαίνει είτε ότι ο DR2 απλότυπος περιλαμβάνει γονίδιο επιρρέπειας προς τη ΣΚΠ, ή ότι το γονίδιο επιρρέπειας είναι κάποιο μη-HLA γονίδιο συνδεδεμένο στενά με τον DR2 απλότυπο, όπως για παράδειγμα τα γονίδια TAP και LMP, αν και υπάρχουν ενδείξεις πλέον που αποδυναμώνουν την πιθανότητα τα δύο τελευταία γονίδια να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο. Την επίμονη κατάδειξη συσχετισμού της ΣΚΠ με τον DR2 απλότυπο, όπως προκύπτει από τις μελέτες πληθυσμού, στηρίζει μια μελέτη σύνδεσης σε σουηδικές οικογένειες (Hillert J, 1993). Έτσι, έχει βρεθεί σε ποικίλους πληθυσμούς βορειο-ευρωπαϊκής καταγωγής ότι ο τύπος II φαινότυπος DR15-DQ6 και τα αντίστοιχα αλληλόμορφα DRB1*1501 και DQB1*0602 παρατηρούνται πιο συχνά σε άτομα με ΣΚΠ σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό, με ένα σχετικό κίνδυνο 2,6 και 8,3 για ετεροζυγώτες και ομοζυγώτες φορείς αντίστοιχα (Yaouanq J, 1997, Hensiek AE, 2003). Επιπρόσθετα με τη DR15 φαίνεται ότι υπάρχει μια πιο αδύναμη συσχέτιση με το DR3 (DR17)-DQ2 και τον απλότυπο (DRB1*0301-DRB5*0101-DQA1*0501-DQB1*0201) (Masterman T, 2000). Μία διαφορετική συσχέτιση συναντάται σε μεσογειακούς πληθυσμούς με το DR4 και τον γονότυπο (DRB1*0405-DQA1*0301-DQB1*0302) (Compston A & Coles A, 2002).

Παρόλο που η περιοχή MHC συνεισφέρει σημαντικότητα στον κίνδυνο εμφάνισης ΣΚΠ, η γενετική βάση της νόσου δεν έχει αποκαλυφθεί μέχρι τώρα. Η ολική γενετική προδιάθεση που αποδίδεται στην HLA περιοχή στη ΣΚΠ υπολογίζεται μεταξύ 15 και 50% (Haines JL, 1998). Η βαρύτητα και η πορεία της νόσου μπορεί επίσης να επηρεαστεί από γενετικούς παράγοντες. Εδώ οι πολυμορφισμοί HLA-DR και DQ δεν εμπλέκονται.

Πρόσφατα έχουν συσχετισθεί γονίδια παραλλαγών του υποδοχέα της IL-1B, του ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1, του Fc τμήματος του υποδοχέα της ανοσοσφαιρίνης-γ και της απολιποπρωτεΐνης-E με την πορεία της νόσου, αλλά τα δεδομένα είναι σχετικά πρόσφατα και πρέπει να επιβεβαιωθούν (Noseworthy JH, 2000).

Εν κατακλείδι, όσον αφορά στη γενετική της ΣΚΠ, δεν πρέπει να λησμονούμε τη γνωστή θεωρία της επίστασης, όρος εισαγόμενος ήδη από το 1909 (Bateson W, 1909), σύμφωνα με την οποία δεν πρέπει να κοιτάμε απλώς ούτε τις μεταλλάξεις, ούτε τη γονιδιακή έκφραση, καθώς υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί που αφορούν στο πώς επηρεάζει το ένα γονίδιο το άλλο, στον ίδιο οργανισμό και μπορεί να επηρεάζει την έκφρασή του. Άρα από μόνη της η υπερέκφραση ενδεχομένως να μην σημαίνει πάρα πολλά.

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

1) ΔΟΜΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ - ΜΥΕΛΙΝΗ

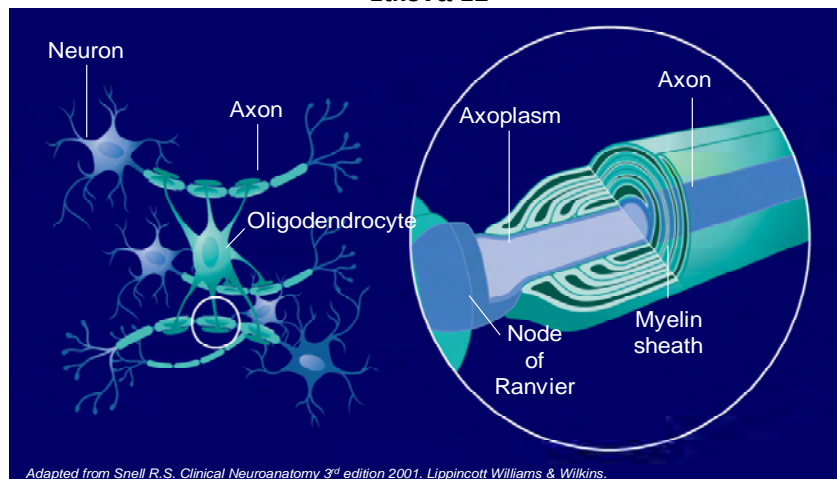
Οι αποφυάδες των αισθητικών και των κινητικών νευρώνων οι οποίες μεταφέρουν σήματα περιβάλλονται, κατά την μεγαλύτερη τους έκταση, από έλυτρο μυελίνης, το οποίο διατάσσεται σε ομόκεντρες στιβάδες αποτελούμενες από επαναλαμβανόμενες διμοριακές στιβάδες λιπιδίων, που παρεμβάλλονται μεταξύ των πρωτεϊνικών στιβάδων. Η βιοχημική ανάλυση αποδεικνύει ότι η μυελίνη έχει παρόμοια σύσταση με την κυτταρική μεμβράνη, αποτελούμενη κατά 70% από

λιπίδια και κατά 30% από πρωτεΐνες, με υψηλή συγκέντρωση χοληστερόλης και φωσφολιπιδίων (εικόνας 11 και 12).

Εικόνα 11

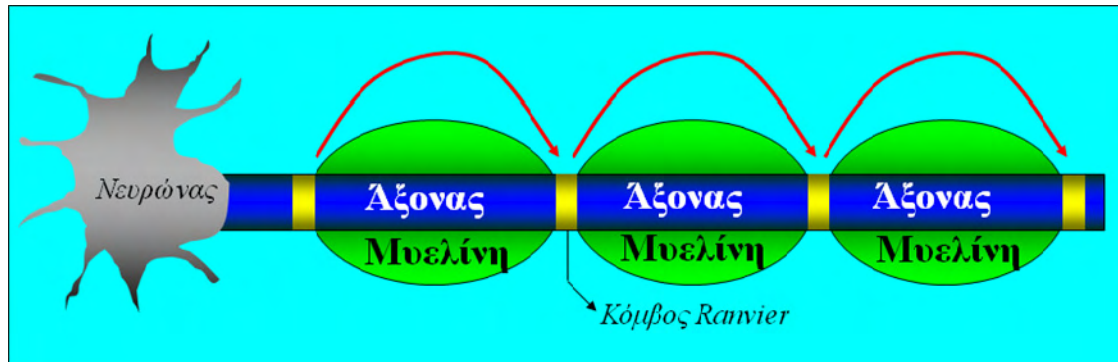


Εικόνα 12



Το μονωτικό μυελώδες έλυτρο του νευράξονα εμφανίζει κατά κανονικά διαστήματα διάκενα που ονομάζονται κόμβοι Ranvier. Ο κεντρικός κλάδος του νευράξονα των κυττάρων των νωτιαίων γαγγλίων είναι επίσης εμμύελος, όπως και ο νευράξονας των κινητικών νευρώνων (εικόνα 13).

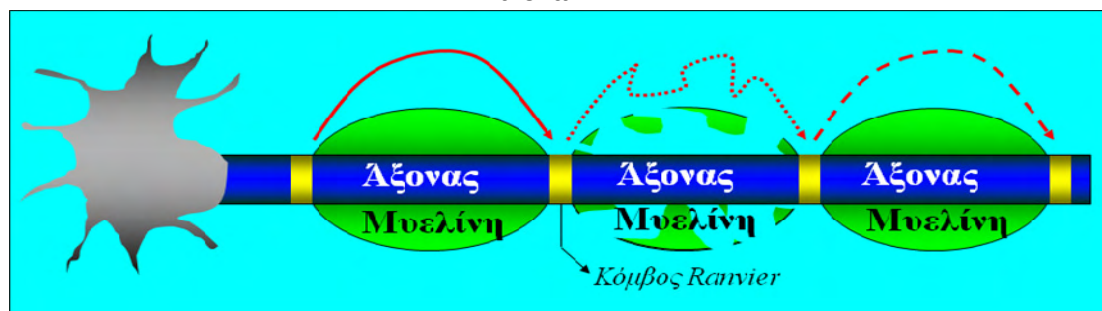
Εικόνα 13



Η μυελίνη στο ΚΝΣ όμως, διαφέρει κάπως από την αντίστοιχη περιφερική, διότι το νευρογλοιακό κύτταρο στο οποίο οφείλεται η δημιουργία της κεντρικής μυελίνης είναι το ολιγοδενδροκύτταρο, ενώ στο περιφερικό νευρικό σύστημα η μυελίνη παράγεται από τα κύτταρα Schwann. Στα τελευταία, τα γονίδια που κωδικοποιούν τη μυελίνη ενεργοποιούνται από την παρουσία νευραξόνων, ενώ στα ολιγοδενδροκύτταρα ενεργοποιούνται, κατά τα φαινόμενα, με την παρουσία αστροκυττάρων, δηλαδή του άλλου κύριου νευρογλοιακού κυτταρικού τύπου στο ΚΝΣ.

Η μυελίνη τόσο στο ΚΝΣ όσο και στο περιφερικό, περιέχει την ίδια ομάδα πρωτεϊνών, τις βασικές πρωτεΐνες της μυελίνης. Η ομάδα αυτών των πρωτεϊνών αποτελείται από επτά τουλάχιστον συγγενείς πρωτεΐνες, οι οποίες παράγονται από ένα μόνο γονίδιο με εναλλακτικό μάτισμα του RNA. Οι βασικές πρωτεΐνες της μυελίνης είναι ικανές να προκαλέσουν ισχυρή ανοσοαπόκριση. Όταν ενεθούν σε ζώα προκαλούν ΕΑΕ, η οποία χαρακτηρίζεται από τοπική φλεγμονή και απομυελίνωση στο ΚΝΣ, και όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί το ζωικό πειραματικό μοντέλο της ΣΚΠ. Στους ασθενείς με ΣΚΠ, η απομυελίνωση των νευραξόνων καθυστερεί τη μετάδοση των νευρικών σημάτων (του δυναμικού ενέργειας) και προκαλεί προβλήματα με την αισθητική αντίληψη και το σωστό κινητικό συντονισμό (εικόνα 14).

Εικόνα 14



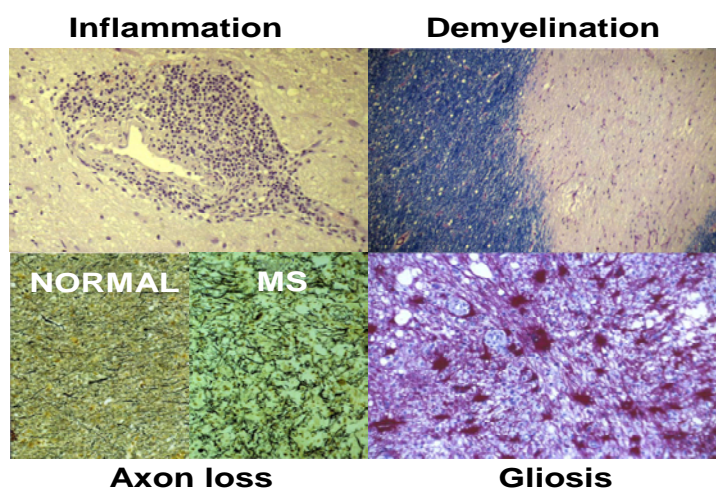
2) ΠΑΘΟΛΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το παθολογοανατομικό χαρακτηριστικό της χρόνιας ΣΚΠ είναι η απομυελινωτική πλάκα (εικόνα 15) η οποία συνίσταται από μία καλά αφοριζόμενη

περιοχή με παρουσία λίγων κυττάρων και χαρακτηρίζεται από απώλεια μυελίνης, σχετική διατήρηση των αξόνων και σχηματισμό αστροκυτταρικής ουλής (Noseworthy JH, 2000). Οι βλάβες αυτές εντοπίζονται κατά προτίμηση στα οπτικά νεύρα, στην περικοιλιακή λευκή ουσία, στο στέλεχος, στην παρεγκεφαλίδα και στη λευκή ουσία του ΝΜ. Επίσης συχνά περιβάλλουν ένα ή περισσότερα μεσαίου μεγέθους αγγεία. Στις ενεργείς βλάβες παρατηρείται περιαγγειακή διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα τα οποία είναι λεμφοκύτταρα (CD4+/CD8 α/β και γ/δ Τ κύτταρα), μονοκύτταρα, περιστασιακά μερικά Β κύτταρα και σπάνια πλασματοκύτταρα (Wucherpfennig KW, 1992, Hafler DA, 2004). Λεμφοκύτταρα μπορεί να βρεθούν ακόμα και σε φαινομενικά φυσιολογική λευκή ουσία πέρα από τα όρια της ενεργού απομυελίνωσης (Prineas J, 1975). Τα μακροφάγα προεξάρχουν στο κέντρο των πλακών και περιέχουν προϊόντα αποδόμησης μυελίνης που είναι ενδεικτικό οξείας βλάβης, ενώ ο αριθμός των ολιγοδενδροκυττάρων είναι ελαττωμένος. Στις χρόνιες-ενεργείς βλάβες η φλεγμονώδης κυτταρική διήθηση δεν είναι τόσο έντονη και περιορίζεται στην περιφέρεια της βλάβης.

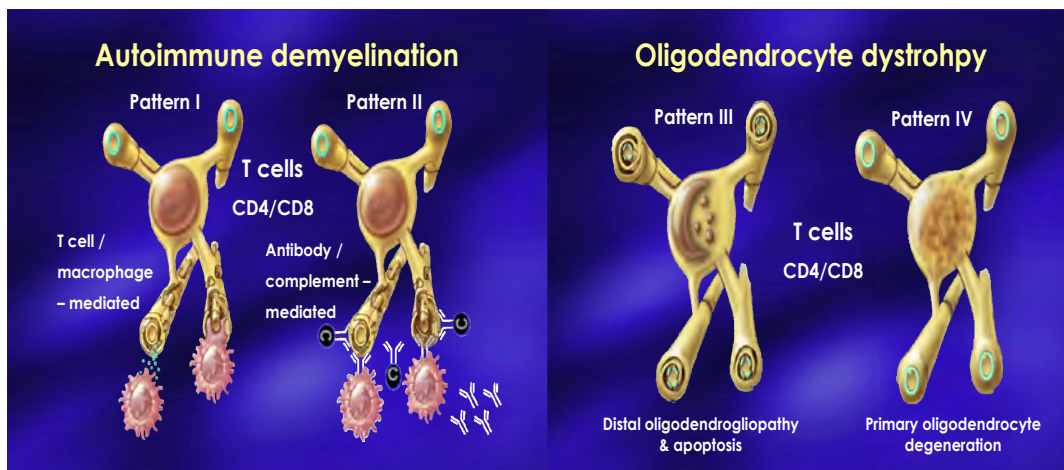
Εικόνα 15

Παθολογοανατομική εικόνα της απομυελινωτικής πλάκας



Πρόσφατες μελέτες σημαντικών ερευνητών, με πρωτοπόρο τον Lassmann και τη Lucchinetti, που βασίζονται σε βιοψίες εγκεφαλικού ιστού μεγάλου αριθμού ασθενών με ΣΚΠ, προτείνουν τέσσερις διαφορετικούς μηχανισμούς νόσου με βάση την απώλεια της μυελίνης, την εντόπιση και την έκταση των βλαβών, το μοντέλο καταστροφής των ολιγοδενδροκυττάρων και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος (Kornek B & Lassmann H, 2003). Στις βλάβες τύπου I και II το έλυτρο της μυελίνης αποτελεί τον κύριο στόχο της καταστροφικής διαδικασίας ενώ στον τύπο III και IV προσβάλλονται κυρίως τα ολιγοδενδροκύτταρα (εικόνα 16).

Εικόνα 16



Lucchinetti C, Ann Neurol, 2000

Πιο συγκεκριμένα, ο πιθανός παθογενετικός μηχανισμός στον τύπο I είναι η απομυελίνωση που προκαλείται από τοξίνες που απελευθερώνονται από τα μακροφάγα όπως ο TNF-α, η IFN-γ, το νιτρικό οξύ (NO) καθώς και οι ενεργείς ρίζες οξυγόνου. Στον τύπο II έχουμε επίσης εκτεταμένη απομυελίνωση παρουσία αντισωμάτων που προκαλούν ενεργοποίηση ολόκληρου του καταρράκτη του συμπληρώματος, συμπεριλαμβανόμενου του τελικού λυτικού συμπλέγματος της μεμβράνης C9neo (Mead RJ, 2002). Οι τύποι I και II μπορούν να αναπαραχθούν σε πειραματικά μοντέλα όπως είναι η EAE και χαρακτηριστικό τους είναι ότι οι βλάβες παρουσιάζουν επίσης επαναμυελίνωση (Compston A and Coles A, 2002). Μέχρι τώρα οι τύποι III και IV δεν έχουν αναπαραχθεί σε ζωικά μοντέλα φλεγμονώδους απομυελίνωσης. Οι βλάβες τύπου III χαρακτηρίζονται από πρόιμη απώλεια της γλυκοπρωτεΐνης που σχετίζεται με τη μυελίνη (myelin associated glycoprotein-MAG) γεγονός που αντανάκλα την καταστροφή των ολιγοδενδροκυττάρων μέσω αποπτωτικού μηχανισμού. Είναι ενδιαφέρον ότι παρόμοιες βλάβες βρίσκονται επίσης σε νοσήματα της λευκής ουσίας του εγκεφάλου που προκαλούνται από ιούς (Itoyama Y, 1982) όπως και στην penumbra σε ισχαιμικού τύπου βλάβες της λευκής ουσίας. Ο υποκείμενος μηχανισμός του σχηματισμού αυτού του τύπου βλάβης πρέπει να είναι μια αγγειίτιδα μικρών αγγείων διαμεσολαβούμενη από T-λεμφοκύτταρα με δευτερογενή ισχαιμική βλάβη της λευκής ουσίας. Στον τύπο IV, τα ολιγοδενδροκύτταρα που βρίσκονται στην λευκή ουσία πέριξ της απομυελινωτικής πλάκας εκφυλίζονται με μια διαδικασία διαφορετική της κλασσικής απόπτωσης. Πρόκειται για έναν σπάνιο υπότυπο που μέχρι τώρα έχει βρεθεί σε λίγες περιπτώσεις πρωτοπαθώς προϊούσης (PP) ΣΚΠ. Ο θάνατος των ολιγοδενδροκυττάρων πιθανώς οφείλεται σε μία ενδογενή ευαισθησία των κυττάρων αυτών σε διαμεσολαβητές της φλεγμονής (Kornek B & Lassmann H, 2003). Είναι ενδιαφέρον ότι πολλαπλές απομυελινωτικές πλάκες που προέρχονται από τον ίδιο ασθενή έχουν το ίδιο παθολογοανατομικό μοντέλο (Hafler DA, 2004).

3) ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Παρόλο που δεν έχει αποδειχθεί, η τρέχουσα άποψη σχετικά με την παθογένεση της ΣΚΠ είναι ότι αρχικά ξεκινά μία φλεγμονώδης φάση που πληρεί τα

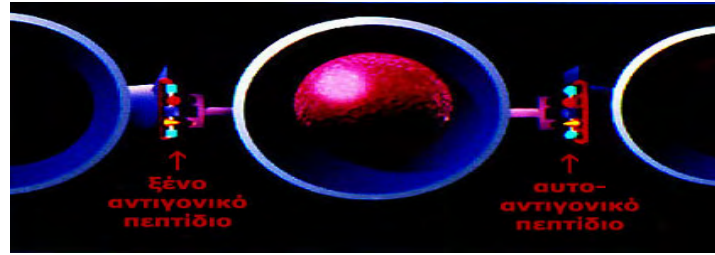
κριτήρια ενός αυτοάνοσου νοσήματος (Davidson A & Diamond B, 2001), η οποία ακολουθείται από μία φάση εκλεκτικής απομυελίνωσης και τελικά ακολουθεί μία νευροεκφυλιστική φάση (Hemmer B, 2002, Steinman L, 2001).

Πολύ πρόσφατα όμως, ο Prineas (Barnett MH & Prineas JW, 2004) από την Αυστραλία ανέτρεψε σχεδόν τα πάντα στην παθογένεια της νόσου, υποστηρίζοντας εντελώς διαφορετικά πράγματα από την κλασική γνώση, σύμφωνα με την οποία στην αρχική φάση της νόσου υπάρχει μεγάλη ένταση της φλεγμονής, με υποτροπές και με έντονη δραστηριότητα στην MRI, ενώ με την πάροδο του χρόνου αναπτύσσεται η νευροεκφύλιση, με απώλεια των νευραξόνων και ατροφία. Ήταν βέβαια γνωστό – και πριν τις ανακοινώσεις του Prineas – ότι η απώλεια των νευραξόνων αρχίζει από νωρίς. Ο Prineas λοιπόν υποστήριξε ότι αυτό που προηγείται είναι η νευροεκφύλιση και ότι η αυτοάνοση απάντηση είναι μάλλον δευτερογενής. Σε πολλές ενδιαφέρουσες φωτογραφίες μάλιστα από παρασκευάσματα του παραπάνω ερευνητή, φάνηκε να διατηρείται η μυελίνη, ενώ τα ολιγοδενδροκύτταρα είχαν ήδη πεθάνει με αποπτωτικό θάνατο, χωρίς να υπάρχει – τουλάχιστον σε εκείνη τη φάση – φλεγμονώδης διήθηση. Μένει λοιπόν, να επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες ποια από τις δύο θεωρίες είναι η σωστή. Στην παρούσα διατριβή, θα αναλύσουμε την άποψη για την παθογένεια της ΣΚΠ που επικρατεί εδώ και αρκετά χρόνια.

Φυσιολογικά στον θύμο αδένα επιτελείται μία αυστηρή επιλογή, έτσι ώστε να μην υπάρχουν αυτοαντιδρώντα T-λεμφοκύτταρα. Παρόλα αυτά φαίνεται ότι επιζούν κάποιοι αυτοαντιδρώντες κλώνοι και έτσι εξηγείται γιατί υπάρχουν T-κύτταρα που αντιδρούν με μυελινικά αντιγόνα όπως τη βασική πρωτεΐνη της μυελίνης, την μυελινική πρωτεολιπιδική πρωτεΐνη και την μυελινική γλυκοπρωτεΐνη των ολιγοδενδροκυττάρων που ανευρίσκονται εύκολα στο περιφερικό αίμα υγιών ατόμων (Trotter JL, 1998, Hellings N, 2001) και βρίσκονται υπό έλεγχο από τα ρυθμιστικά T λεμφοκύτταρα (regulatory cells). Αυτό σημαίνει ότι απαιτούνται επιπρόσθετοι παράγοντες προκειμένου να καταστεί παθολογικός ένας αυτό-αντιδραστικός κλώνος T κυττάρων.

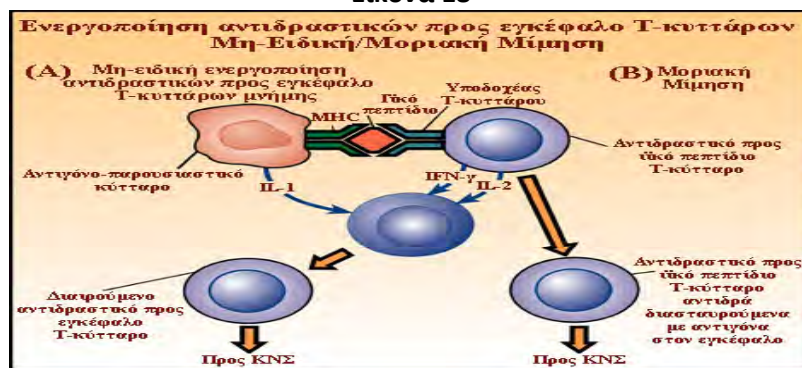
Μάθαμε πρόσφατα από την αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος και του γονιδιώματος διαφόρων μικροβίων ότι όλοι οι βιολογικοί οργανισμοί μοιράζονται κάποια κοινά γονίδια. Κατά τον τρόπο αυτό, είναι δυνατό το ανοσοποιητικό σύστημα προσβεβλημένων ατόμων – στα οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες τα αυτο-αντιδρώντα προς τη μυελίνη T-λεμφοκύτταρα βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο των T-κατασταλτικών κυττάρων – αναγνωρίζοντας, μέσω ειδικών τάξης II μορίων (MHC II), κάποιο αντιγόνο στη δομή του μικροβίου, να επιτεθεί λανθασμένα στον εαυτό του εφόσον το μικρόβιο και το άτομο μοιράζονται κοινά αντιγόνα (εικόνα 17).

Εικόνα 17



Πραγματικά πολλές μικροβιακές πρωτεΐνες έχουν πρωτεϊνικές αλληλουχίες παρόμοιες με αυτές του ελύτρου της μυελίνης και αυτό οδηγεί σε επίθεση εναντίον της μυελίνης μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται μοριακή μίμηση (molecular mimicry), (Wucherpfennig KW & Strominger JL, 1995, Benoist C & Mathis D, 2001) και η οποία προσπαθεί να εξηγήσει την κατάρρευση της ανοσορύθμισης γενικότερα στις αυτοάνοσες νόσους (εικόνα 18).

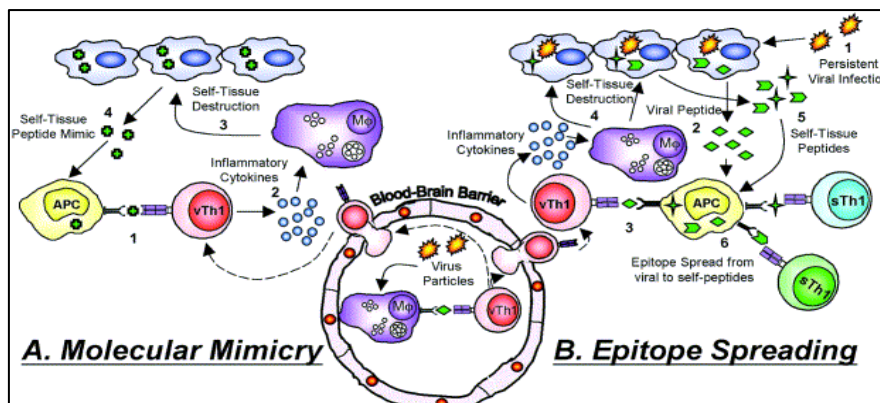
Εικόνα 18



Η βλάβη του φυσιολογικού ιστού μέσω του παραπάνω μηχανισμού, μπορεί να εκθέσει νέα αντιγόνα στο ανοσοποιητικό σύστημα, τα οποία δεν θα εκτείθονταν υπό άλλες συνθήκες και να προκαλέσει επιπρόσθετη επίθεση έναντι γειτονικών αυτοαντιγόνων (epitope spreading) (εικόνα 19).

Εικόνα 19

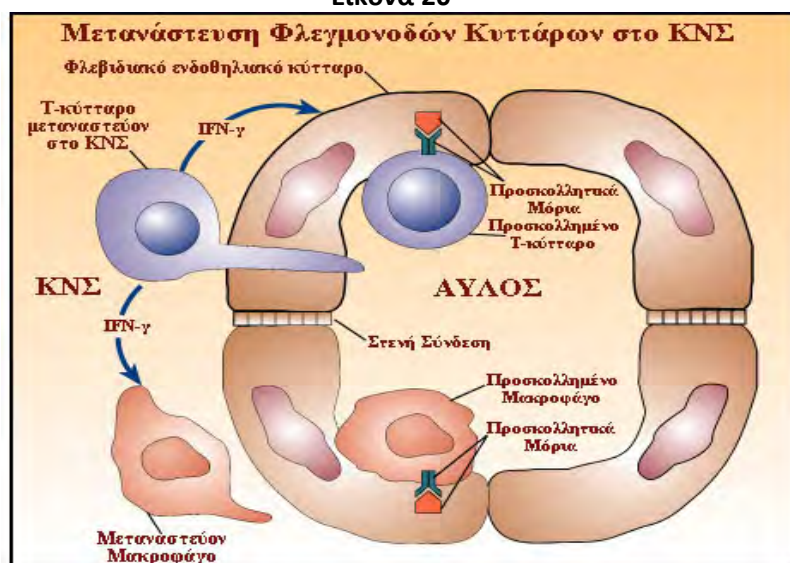
Υποθετικοί μηχανισμοί μοριακής μίμησης και διασποράς επιτόπων στην έναρξη της αυτοανοσίας στο ΚΝΣ



Η τρέχουσα θεωρία είναι, ότι τα άτομα που έχουν γενετική προδιάθεση για ΣΚΠ έχουν T-κυτταρικούς κλώνους που αντιδρούν με αυτοαντιγόνα του ΚΝΣ. Παρόλο που οι κλώνοι αυτοί μπορεί να παραμένουν αδρανείς για δεκαετίες, σε κάποια φάση ενεργοποιούνται στην περιφέρεια, πιθανώς, όπως αναφέρθηκε, μέσω του μηχανισμού της μοριακής μίμησης (δηλ. μέσω αναγνώρισης επιτόπων που είναι κοινί σε αυτοαντιγόνα και σε μικροβιακά αντιγόνα) (Benoit C & Mathis D 2001, Lang HL, 2002). Από τη στιγμή που τα T-κύτταρα ενεργοποιηθούν και πολλαπλασιαστούν, εισέρχονται στην κυκλοφορία και μέσω συγκολλητικών μορίων, προκαλούν αλλαγές στο ενδοθήλιο των αγγείων, καταφέροντας με αυτόν τον τρόπο να μεταναστεύσουν στο ΚΝΣ, διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) (Claudio L, 1994).

Η μετανάστευση των λευκοκυττάρων διαιρείται σε διάφορα στάδια. Στο πρώτο στάδιο τα λεμφοκύτταρα ρολλάρουν και προσκολλώνται ασθενώς στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τόσο ώστε αφενός να μην παρασύρονται από τη ροή του αίματος και αφετέρου να μην είναι εντελώς προσκολλημένα στο αγγειακό τοίχωμα. Στο δεύτερο στάδιο, χημειοτακτικοί παράγοντες συνδέονται σε ειδικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων, με αποτέλεσμα την έκφραση μορίων προσκόλλησης στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων, ακολούθως, σταθερή προσκόλληση αυτών στο ενδοθήλιο και έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών του στρώματος (matrix metalloproteinases-MMPs) οι οποίες είναι απαραίτητες για την διάσπαση των πρωτεϊνών της βασικής μεμβράνης. Κατά το τρίτο και τελευταίο στάδιο γίνεται η διαπήδηση των λευκοκυττάρων μέσω των ενδοθηλιακών κυττάρων και η μετανάστευσή τους στο ΚΝΣ (Sellebjerg F & Sørensen TL, 2003) (εικόνα 20).

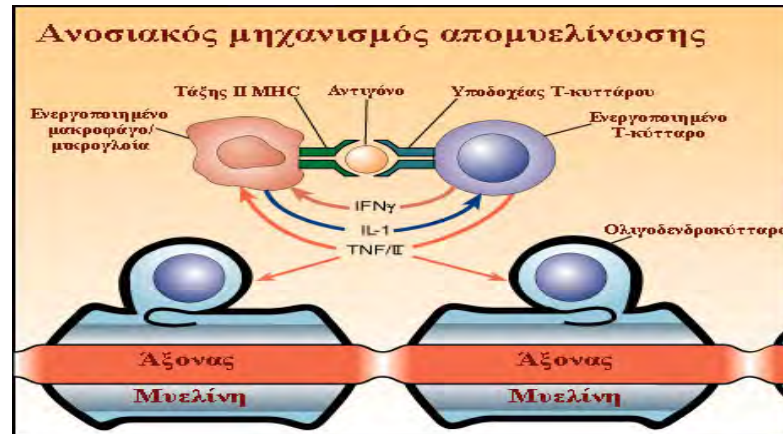
Εικόνα 20



Πιο αναλυτικά, υπάρχουν ενδείξεις ότι ειδικά έναντι μυελίνης T-λεμφοκύτταρα συμμετέχουν στην αρχική φάση της απομυελίνωσης. CD4+ T-λεμφοκύτταρα ειδικά έναντι MOG, MBP, και πρωτεολιπιδικής πρωτεΐνης (PLP), που αποτελούν τα τρία υποψήφια αυτοαντιγόνα του ΚΝΣ, μπορούν να προκαλέσουν ΕΑΕ. Προκειμένου να διεισδύσουν τα λεμφοκύτταρα μέσα στο ΚΝΣ, πρέπει αρχικά να ενεργοποιηθούν. Είναι πιθανό ότι η εισβολή κάποιου μικροβίου στον οργανισμό προκαλεί την ενεργοποίηση αυτή μέσω της σύμφυτης και της επίκτητης ανοσίας. Μικρόβια που περιέχουν CpG αλληλουχίες διεγείρουν την σύμφυτη ανοσία και οδηγούν στην έκκριση προφλεγμονωδών διαμεσολαβητών όπως την IFN- γ . Επίσης μπορεί να ενεργοποιηθεί και η επίκτητη ανοσία μέσω του T-κυτταρικού υποδοχέα των T-λεμφοκυττάρων. Τα παθογόνα μικρόβια, όπως αναφέρθηκε, μοιράζονται πολλά δομικά γονίδια και πρωτεϊνικές αλληλουχίες με τους ανθρώπους. Με τον τρόπο αυτό, μέσω του μηχανισμού της μοριακής μίμησης, όπως ειπώθηκε παραπάνω, γίνεται η ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων. Τα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα πρέπει να διαπεράσουν τον BBB, ο οποίος αποτελείται από εξειδικευμένα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών των αγγείων που συνδέονται πολύ στενά μεταξύ τους παρεμποδίζοντας οποιαδήποτε διέλευση κυττάρων ή ουσιών. Τα ενεργοποιημένα προφλεγμονώδη (Th1) λεμφοκύτταρα εκκρίνουν IFN- γ και TNF- α , που προάγουν με τη σειρά τους την έκφραση των αγγειακών μορίων προσκόλλησης (VCAM) στο ενδοθήλιο. Τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα αυξάνουν την έκφραση του very late antigen (VLA)-4, που αποτελεί τον σύνδεσμο για το VCAM-1, όπως επίσης προάγουν την έκφραση και άλλων μορίων προσκόλλησης (σελεκτίνες) που επιτρέπουν την σύνδεση και την μετανάστευσή τους μέσω του ενδοθηλίου (Greenwood J, 2002). Πριν από την είσοδό τους στο ΚΝΣ τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα πρέπει να διαπεράσουν από ένα εξωκυτταρικό στρώμα που συνίσταται από ίνες κολλαγόνου τύπου IV. Υπάρχει μία ομάδα πρωτεολυτικών ενζύμων που αποδομούν αυτή την βασική μεμβράνη και ονομάζονται MMPs (Wekerle H, 1993, Noseworthy JH, 2000).

Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα δεν προκαλούν απαραίτητα βλάβη, παρά μόνο εφόσον αναγνωρίσουν τα ειδικά αντιγόνα στόχους τους που παρουσιάζονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του ΚΝΣ, οπότε ενεργοποιούνται και πολλαπλασιάζονται (Steinman L, 1996, De Keyser J, 2003). Η αναγνώριση του αντιγόνου από τα CD4+ T-λεμφοκύτταρα απαιτεί την έκφραση των MHC τάξης II μορίων στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APC), ωστόσο το φυσιολογικό ΚΝΣ στερείται της έκφρασης μορίων τάξης II. Μέσω της έκκρισης IFN- γ , που αποτελεί έναν δυναμικό διεγέρτη της έκφρασης των μορίων αυτών στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του ΚΝΣ, συμπεριλαμβανομένων των μικρογλοιακών κυττάρων και των αστροκυττάρων, πιστεύεται ότι ξεπερνιέται αυτό το πρόβλημα της αντιγονοπαρουσίασης (Slavin AJ, 2001). Τα ακέραια μυελινικά αντιγόνα δεν αναγνωρίζονται από τα T-λεμφοκύτταρα. Πρέπει πρώτα να υποστούν πρωτεολυτική επεξεργασία σε πρωτεϊνικά κλάσματα από τα APC προτού συνδεθούν με τα μόρια MHC τάξης II και παρουσιαστούν στα CD4+ λεμφοκύτταρα. Οι MMPs καθώς και άλλα πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως οι καθεψίνες εκκρίνονται από τα κύτταρα της μικρογλοίας σαν απάντηση στην έκκριση της IFN- γ και συμμετέχουν στην αποδόμηση της μυελίνης (Zamvil SS & Steinman L, 2003) (εικόνα 21).

Εικόνα 21

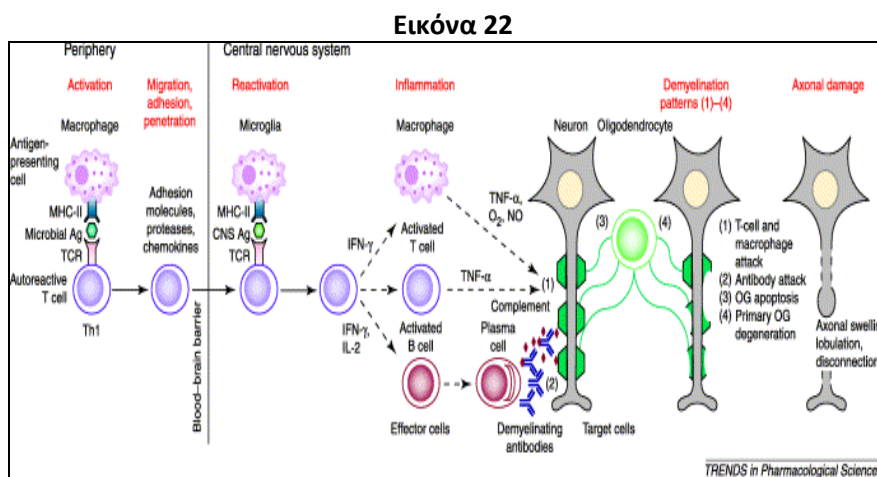


Στη συνέχεια η σύνδεση των υποθετικών μυελινικών αντιγόνων, όπως η MBP, η σχετιζόμενη με τη μυελίνη γλυκοπρωτεΐνη (myelin-associated glycoprotein), η μυελινική γλυκοπρωτεΐνη των ολιγοδενδροκυττάρων (myelin oligodendrocyte glycoprotein), η πρωτεολιπιδική πρωτεΐνη (proteolipid protein), η α B-κρυσταλλίνη (α B-crystallin), οι φωσφοδιεστεράσες και η S-100 πρωτεΐνη με το τριμοριακό σύμπλεγμα, που απαρτίζεται από τον T κυτταρικό υποδοχέα (TCR) και το τάξης II MHC πάνω στο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο, ενεργοποιεί είτε ένα ανοσολογικό καταρράκτη εναντίον των ανωτέρω αντιγόνων, είτε ανεργία, ανάλογα με τον τύπο του σήματος που προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ των συνδιεγερτικών μορίων επιφανείας (CD28 και CTLA-4) που εκφράζονται στα T κύτταρα και των συνδετών τους (B7-1 και B7-2) που εκφράζονται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (Noseworthy JH, 2000, Rucke MK, 2000). Η καταστολή της ανοσιακής απάντησης (ανεργία) μπορεί να οδηγήσει στην απελευθέρωση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, IL-4, IL-10), από τα CD4+ T κύτταρα, εκτρέποντας την ανοσία προς τον πολλαπλασιασμό των αντιφλεγμονωδών CD4+ Th2 βοηθητικών T κυττάρων που με τη σειρά τους ενεργοποιούν τα B κύτταρα είτε προς την παραγωγή παθολογικών αντισωμάτων, είτε προς την προαγωγή επαναμυελίνωσης. Αντίθετα, αν η αντιγονοπαρουσίαση οδηγηθεί προς μία ενισχυμένη ανοσολογική απάντηση, τότε εκλύονται προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως η IL-12 και η IFN- γ που οδηγούν στον πολλαπλασιασμό των CD4+ Th1 βοηθητικών T κυττάρων και στην καταστροφή της μυελίνης και των ολιγοδενδροκυττάρων. Οι περισσότερες μελέτες για τη ΣΚΠ και την ΕΑΕ έχουν εστιάσει στο ρόλο των ειδικών έναντι μυελίνης CD4+ κυττάρων. Ωστόσο, και άλλοι T λεμφοκυτταρικοί υπότυποι μπορούν να πάρουν μέρος στην απομυελίνωση του ΚΝΣ όπως είναι τα CD8+ λεμφοκύτταρα. Διάφοροι ερευνητές αναφέρουν ειδικά έναντι μυελίνης CD8+ λεμφοκύτταρα, τα οποία αναγνωρίζουν αντιγόνο παρουσία μορίων MHC τάξης I και τα οποία μπορούν να προκαλέσουν ΕΑΕ (Huseby ES, 2001, Sun D, 2001). Τα CD8+ λεμφοκύτταρα μπορεί να έχουν περισσότερους δυνητικά στόχους στο ΚΝΣ από τα CD4+ λεμφοκύτταρα. Για παράδειγμα, τα ολιγοδενδροκύτταρα μπορούν να προάγουν την έκφραση των MHC τάξης I αλλά όχι των τάξης II. Ωστόσο πρέπει να υπογραμμισθεί ότι ο πολλαπλασιασμός των CD8+ απαιτεί βοήθεια από τα CD4+ κύτταρα.

Τελευταία, γίνεται πολύ λόγος για τα Th17 T κύτταρα (Cua DJ, 2003, Langrish CL, 2005, Park H, 2005, Harrington LE, 2005) και τον πιθανό ρόλο τους στην παθογένεια της ΣΚΠ, ή αν απλώς αποτελούν ένα δείκτη επιπλέον προφλεγμονωδών κυττάρων. Αυτό που είναι βέβαιο, είναι ότι η IL-6 παίζει σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων προς Th17, τα οποία παράγουν την IL-17. Φαίνεται από τις έως τώρα μελέτες (El-behi M, 2010) ότι τα κύτταρα αυτά συμμετέχουν στην αυτοανοσία του ΚΝΣ, τόσο στη ΣΚΠ, όσο και στην ΕΑΕ, αλλά πρέπει ο ρόλος τους να αποσαφηνισθεί μέσα από εκτεταμένη έρευνα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην πρώτη μελέτη αναστολής των Th17 κυττάρων με ρολιπράμη το 2008, παρουσιάστηκε ενεργοποίηση της νόσου, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό την άποψη ότι οι νέες γνώσεις δεν μπορεί να είναι μονοσήμαντες.

Σε αντίθεση με τα Τ-λεμφοκύτταρα, τα Β-λεμφοκύτταρα δεν φαίνεται να διαπερνούν τον BBB. Από τη στιγμή όμως που αυτός διασπασθεί, περνούν μέσα στο ΚΝΣ Β-λεμφοκύτταρα, αντισώματα και παράγοντες του συμπληρώματος. Μέσα στο ΚΝΣ τα Β-λεμφοκύτταρα μπορούν να ενεργοποιηθούν από τα Τ-λεμφοκύτταρα παρουσία αντιγόνου. Μετά την ενεργοποίησή τους, διαφοροποιούνται σε πλασματοκύτταρα τα οποία παράγουν αντισώματα (Abs). Η δράση των Abs συνίσταται αφενός στην οψωνοποίηση του αυτοάνοσου στόχου που βοηθά την μετέπειτα φαγοκυττάρωσή του από τα μακροφάγα και αφετέρου στην ενεργοποίηση του συμπλέγματος του συμπληρώματος (complement membrane attack complex), που προκαλεί δημιουργία πόρων στις μυελινικές μεμβράνες (Archelos JJ, 2000).

Έχουν προταθεί ποικίλοι μηχανισμοί καταστροφής της μυελίνης και των ολιγοδενδροκυττάρων (εικόνα 22):



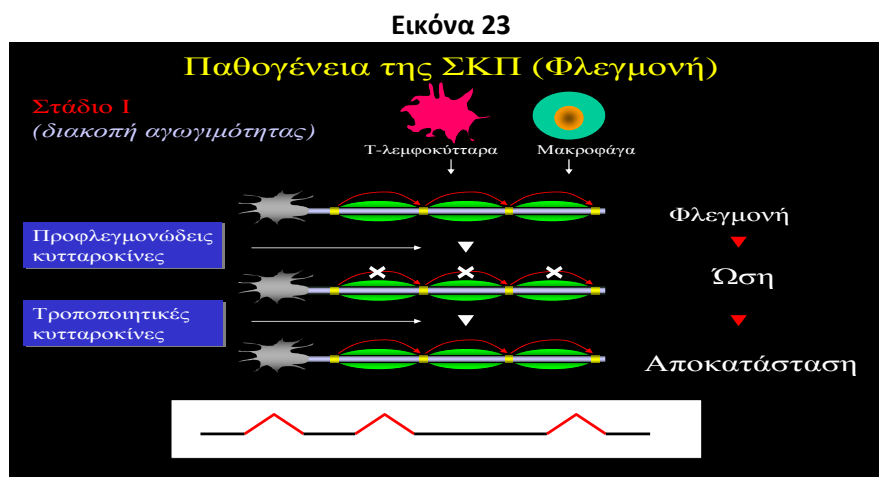
Neuhaus O, Trends Pharmacol Sci, 2003

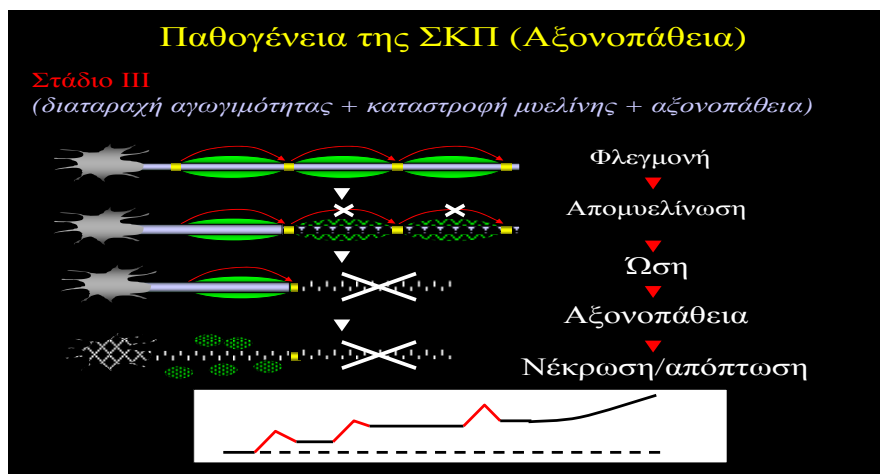
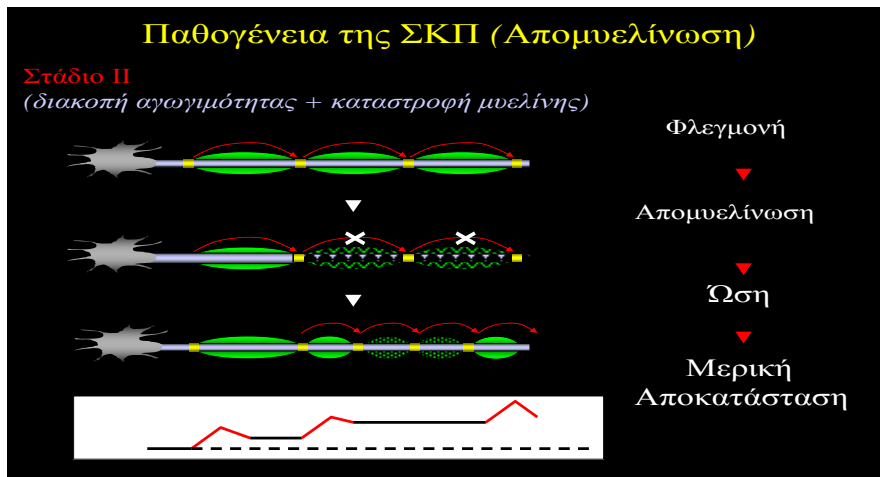
[Επεξήγηση της εικόνας: Προ-φλεγμονώδη Τ-λεμφοκύτταρα στην περιφέρεια ενεργοποιούνται όταν ξένα αντιγόνα (Ag) ή αυτό-αντιγόνα παρουσιάζονται με MHC-II από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Τα ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν και περνούν τον BBB, μια διαδικασία που διαμεσολαβείται από μόρια προσκόλλησης, πρωτεάσες και χημειοκίνες. Στο ΚΝΣ ενεργοποιούνται ξανά από Ag που παρουσιάζεται από επιτόπια APCs και εκκρίνουν IL-2 και IFN-γ. Τελικά, η παραγωγή αντισωμάτων, οξειδίων του αζώτου και TNF-α, οδηγούν στην καταστροφή του ελύτρου της μυελίνης, ενεργοποιώντας το συμπλήρωμα, και τέλος απομυελίνωση και βλάβη των νευραξόνων].

- 1) Απομυελίνωση μέσω Τ κυττάρων και μακροφάγων (μέσω της παραγωγής φλεγμονωδών κυτταροκινών, NO, ενεργών ριζών οξυγόνου, διεγερτοτοξικών αμινοξέων, λιπολυτικών και πρωτεολυτικών ενζύμων και διαλυτών Τ κυτταρικών παραγόντων όπως η περιφορίνη),
- 2) Καταστροφή μυελίνης μέσω αντισωμάτων με συμμετοχή του συμπληρώματος (Storch MK, 1998, Archelos JJ, 2000),
- 3) Ολιγοδενδρογλοιοπάθεια και απόπτωση ολιγοδενδροκυττάρων,
- 4) Πρωτοπαθής εκφύλιση των ολιγοδενδροκυττάρων (Lucchinetti C, 2000, Neuhaus O, 2003).

Επιπρόσθετα σ' αυτή τη φλεγμονώδη φάση πολύ νωρίς στην πορεία της νόσου παρουσιάζεται βλάβη των νευροαξόνων που είναι μη αναστρέψιμη (Trapp BD, 1999, Coleman MP & Perry VH, 2002). Είναι αδιευκρίνιστο αν η αξονική βλάβη είναι αποτέλεσμα μιας πρωτοπαθούς ενεργού καταστροφικής διαδικασίας που εκτελείται π.χ. από τα μακροφάγα και τις κυτταροτοξικές ουσίες που εκλύονται από τα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα ή μια διαδικασία που είναι δευτεροπαθής στην απομυελίνωση και οφείλεται σε αυξημένη διαπερατότητα (Trapp BD, 1999, Bitsch A, 2000). Φαίνεται ότι η αξονική βλάβη οφείλεται σε αυξημένη είσοδο ιόντων Ca^{++} λόγω της αυξημένης διαπερατότητας της μεμβράνης, οίδημα των κυττάρων και τελικά εκφύλιση αυτών (Bjartmar C & Trapp BD, 2001).

Σχηματικά, η παθογένεια της ΣΚΠ φαίνεται στην εικόνα 23.





I. Η δράση του μονοξειδίου του αζώτου

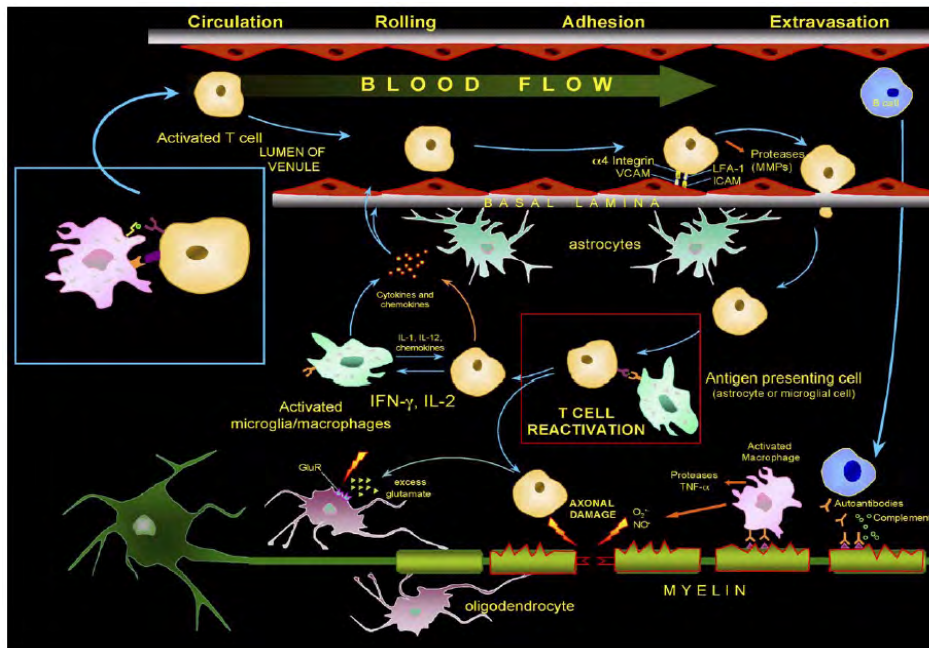
Από τη στιγμή που τα αυτοάνοσα κύτταρα έχουν διασπαρεί στην λευκή ουσία του ΚΝΣ, η αυτοάνοση διαδικασία κατευθύνεται σε όλο το σύμπλεγμα των μορίων της μυελίνης. Από τα Β-κύτταρα που έχουν περάσει στον εγκέφαλο μετά την διάσπαση του BBB, εκκρίνονται αντισώματα τόσο έναντι ποικίλων πρωτεϊνών μυελίνης και λιπιδίων του ελύτρου της μυελίνης, όσο και έναντι μορίων που εκφράζονται μέσα στο ΚΝΣ (Steinman L, 2001). Τα Τ-λεμφοκύτταρα κατευθύνονται έναντι συγκεκριμένων τμημάτων πρωτεϊνών που υπάρχουν στο έλυτρο της μυελίνης, όπως είναι η MBP, η ολιγοδενδρογλοιακή γλυκοπρωτεΐνη της μυελίνης και η πρωτεολιπιδική πρωτεΐνη, όπως και έναντι πρωτεϊνών του στρες όπως η άλφα βήτα κρυσταλλίνη, που ανευρίσκεται στο έλυτρο της μυελίνης μετά από την έναρξη της φλεγμονώδους διαδικασίας. Τα Τ-λεμφοκύτταρα παράγουν κυτταροκίνες, κυρίως λυμφοτοξίνη (LTα, που είναι γνωστή και ως TNF-β) και TNF-α, και στη

συνέχεια επιδρούν στα μακροφάγα, καθώς και στα μικρογλοιακά κύτταρα και στα αστροκύτταρα προκειμένου αυτά να παράγουν NO και οστεοπονίνη. Οι ελεύθερες ρίζες NO αποτελούν έναν βασικό μεσολαβητή στα αυτοάνοσα νοσήματα. Το NO εμπλέκεται στον θάνατο των ολιγοδενδροκυττάρων από τη μικρογλοία. Έχει βρεθεί αυξημένη έκφραση της συνθετάσης του νιτρικού οξέος (iNOS) σε απομυελινωτικές πλάκες σε ΣΚΠ. Τόσο η IFN- γ όσο και ο TNF- α προάγουν την μετάφραση της iNOS στα αστροκύτταρα, στη μικρογλοία και στα μακροφάγα. Η iNOS καταλύει την σύνθεση του NO. Το NO μπορεί να έχει άμεση επίδραση στην διαπερατότητα του BBB και στην έναρξη και ρύθμιση της φλεγμονώδους διαδικασίας. Επίσης μπορεί να συμμετέχει στην διαδικασία της απομυελίνωσης, στην καταστροφή των ολιγοδενδροκυττάρων και στην λειτουργική και δομική βλάβη των αξόνων (Smith KJ & Lassman H, 2002). Πιο συγκεκριμένα, το NO προκαλεί αγγειοδιαστολή των εγκεφαλικών αγγείων, η οποία από μόνη της ενισχύει την φλεγμονή, ελαττώνοντας την ταχύτητα της αιματικής ροής και αυξάνοντας κατά τον τρόπο αυτό την σύνδεση των λευκοκυττάρων στα αγγεία και την μετανάστευσή τους διαμέσου αυτών. Ο ακριβής μοριακός μηχανισμός μέσω του οποίου το NO προκαλεί διάσπαση του BBB είναι πολύπλοκος και μη πλήρως κατανοητός (Thiel VE & Audus KL, 2001). Το NO μπορεί να προάγει τον κυτταρικό θάνατο είτε μέσω νέκρωσης (Mitrovic B, 1995, Boullerne AI, 1999, Garthwaite G, 2002), είτε μέσω απόπτωσης (Boullerne AI, 1999, Molina-Holgado E, 2001) ανάλογα με τη συγκέντρωση του NO, την διάρκεια της έκθεσης σ' αυτό και το στάδιο της κυτταρικής διαφοροποίησης. Όσον αφορά στην εμπλοκή του NO στην βλάβη των αξόνων υπάρχει η ακόλουθη εκδοχή: Φαίνεται ότι στο μηχανισμό της αξονικής εκφύλισης σημαντικό ρόλο παίζει η είσοδος ιόντων ασβεστίου μέσα στο αξονόπλασμα. Η είσοδος αυτών των ιόντων έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των αξονικών πρωτεασών και την διάσπαση του κυτταροσκελετού του άξονα με μηχανισμό παρόμοιο με αυτόν που επισυμβαίνει σε ισχαιμία ή σε τραυματική βλάβη του εγκεφάλου (Ransom BR, 1993, Waxman SG, 1994, Stys PK & LoPachin RM, 1998, Kornek B, 2001). Δεν είναι γνωστό τι είναι αυτό που προκαλεί την αρχική είσοδο των ιόντων ασβεστίου, αλλά πρόσφατα δεδομένα πιθανολογούν ότι αυτό μπορεί να είναι αποτέλεσμα μιας παρατεταμένης ηλεκτρικής δραστηριότητας στους άξονες, που οφείλεται στην έκθεσή τους σε χαμηλές μικρομοριακές συγκεντρώσεις NO στην περιοχή της φλεγμονής.

Η συνδυασμένη δράση των αντισωμάτων, του συμπληρώματος, του NO και του TNF- α προκαλεί βλάβη στη μυελίνη και οδηγεί τα μακροφάγα στη φαγοκυττάρωση μεγάλων τμημάτων του ελύτρου της. Επιπρόσθετα, τα μακροφάγα και τα T-λεμφοκύτταρα, παράγουν οστεοπονίνη, η οποία επιπλέον προάγει την παραγωγή Th1 κυτταροκινών, συμπεριλαμβανομένης της INF- γ και της IL-12, ενώ καταστέλλει την παραγωγή Th2 κυτταροκινών όπως την IL-10. Οι Th1 κυτταροκίνες μπορούν να προκαλέσουν εξάρσεις της νόσου, ενώ οι Th2 κυτταροκίνες μπορούν να ελαττώσουν την έκταση των βλαβών στη ΣΚΠ (Bielekova B, 2000, Karpos L, 2000, Chabas D, 2001, Steinman L, 2001).

Μια σχηματική απόδοση του περίπλοκου ανοσοπαθογενετικού μηχανισμού της ΣΚΠ, φαίνεται στην εικόνα 24.

Εικόνα 24



ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ – ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΕΝΑΡΞΗΣ

Η συμπτωματολογία της ΣΚΠ είναι μεγάλη, με τυπικά συχνά σημεία αλλά και άτυπα σπάνια, χωρίς να υφίστανται για την νόσο αυτή ουσιαστικά παθολογικά συμπτώματα. Η ευρύτητα των συμπτωμάτων αποτελεί την κλινική έκφραση των διακριτών βλαβών που βρίσκονται διάσπαρτες στο ΚΝΣ και χαρακτηρίζουν τη νόσο («...διάσπαρτες στο χώρο...»). Είναι σημαντικό το ότι η συσχέτιση της συμπτωματολογίας με τον αριθμό, τη θέση και το μέγεθος των βλαβών του ΚΝΣ είναι μικρή, χωρίς αυτό να έχει, μέχρι στιγμής, εξηγηθεί επαρκώς.

Οι κλινικές εκδηλώσεις μπορεί να μην παρουσιάζονται μόνιμα και ορισμένες μπορεί να φαντάζουν κατά κάποιο τρόπο παράξενες. Ο ασθενής μπορεί να βιώνει ασυνήθιστες διαταραχές της αισθητικότητας που συχνά είναι δύσκολο να τις περιγράψει και να επιβεβαιωθούν αντικειμενικά. Αυτές οι διαταραχές της αισθητικότητας είναι και το συνηθέστερο εναρκτήριο σύμπτωμα της νόσου, υπό μορφή, κυρίως, αιμωδίας ενός άνω άκρου, με έναρξη από τα δάχτυλα, επέκταση μέσα σε λίγες μέρες προς τα άνω, σταθεροποίηση για λίγες εβδομάδες και ακολούθως υποχώρηση. Εντούτοις, κινητικές, αισθητηριακές ή άλλων τύπων διαταραχές μπορεί επίσης να αποτελούν το εναρκτήριο σύμπτωμα. Η έναρξη είναι συνήθως οξεία ή υποξεία, συχνότερα μονοσυμπτωματική και σπανιότερα πολυσυμπτωματική. Συνοπτικά στον πίνακα 3 παρουσιάζονται τα κυριότερα συμπτώματα έναρξης με τους συχνότητες που εμφανίζονται, αν και τα ποσοστά ποικίλουν στις διάφορες μελέτες (Kurtzke JF, 1970, McAlpine D, 1973, Bauer HJ, 1978, Paty DW, 1984, Ebers GC, 1986, Weinschenker BG, 1989, Brønnum-Hansen H, 1994, Rolak LA, 1996, Paty DW, 1998, McAlpine D, 1998).

Πίνακας 3

Τα κυριότερα συμπτώματα και σημεία με τα οποία εισβάλλει η ΣΚΠ και οι συχνότητες εμφάνισής τους

Κλινική εκδήλωση	% Συχνότητα
Μονοσυμπτωματική	45-79
Πολυσυμπτωματική	21-55
Μυϊκή αδυναμία	10-40
Παραισθησίες	21-40
Απώλεια αίσθησης	13-39
Οπτική νευρίτιδα	14-29
Διπλωπία	8-18
Αταξία	2-18
Κυστική δυσλειτουργία	0-13
Ίλιγγος	2-9

Πέραν των εναρκτήριων συμπτωμάτων, στη μακρόχρονη πορεία της νόσου μπορεί να εμφανισθούν πληθώρα συμπτωμάτων και σημείων, που όπως αναφέρθηκε προηγουμένως μπορεί να είναι τυπικά ή άτυπα.

Αναλυτικότερα, οι συνηθέστερες διαταραχές στη ΣΚΠ μπορεί να είναι:

1) Κινητικές διαταραχές:

- Προσβολή κεντρικού κινητικού νευρώνα, με ασύμμετρη μονοπάρεση, ημιπάρεση, σπαστική παραπάρεση ή και τετραπάρεση. Η μυϊκή αδυναμία ενός άκρου είναι το πιο κοινό σημείο και συνήθως προσβάλλονται συχνότερα τα κάτω άκρα.
- Προσβολή περιφερικού κινητικού νευρώνα, σπάνια, με νωθρότητα ή και κατάργηση των τενοντίων αντανακλαστικών ή μυϊκές ατροφίες (Pollock M, 1977, Lassmann H, 1981, Fisher M, 1983, Thomas PK, 1987, Shefner JM, 1992, Poser CM, 1993).
- Παρεγκεφαλιδικές διαταραχές, συχνά μαζί με πυραμιδικές, με χαρακτηριστικό το σπαστικοαταξικό βάδισμα, σπαστικό λόγω της πυραμιδικής βλάβης και αταξικό λόγω της παρεγκεφαλιδικής. Η αρχική αταξία μπορεί να εξελιχθεί σε βαρύτερη κατάσταση, όπου ο ασθενής δεν μπορεί να σταθεί όρθιος ή να καθίσει, αλλά ούτε να βαδίσει χωρίς υποστήριξη. Άλλο παρεγκεφαλιδικό σημείο αποτελεί ο τρόμος, σημαντική αναπηρία που εμποδίζει τους ασθενείς να γράψουν, να σιτιστούν μόνοι τους και να φροντίσουν την ατομική τους υγιεινή ή να καλλωπισθούν. Σε προχωρημένη φάση της νόσου εκδηλώνεται με χαρακτηριστική σκοντάπτουσα κολλώδη ομιλία.
- Εξωπυραμιδικές διαταραχές, σπάνια, κυρίως με υπερτονία.

2) Αισθητικές διαταραχές:

- Παραισθησίες και δυσαισθησίες (Sanders EA, 1986), που εκδηλώνονται με μορφή «μουδιάσματος» «τσιμπήματος», «βελονιάσματος», ή «μυρμηγκιάσματος», ή ως αίσθηση ψύχους, βάρους, καύσου, που συχνά εκδηλώνονται αρχικά στις ράγες των δακτύλων και παραμένουν εκεί ή εξαπλώνονται. Αποτελούν τη συνηθέστερη εκδήλωση της νόσου, ιδίως ως

αρχικό σύμπτωμα και τις περισσότερες περιπτώσεις συνδέονται με προσβολή του ΝΜ.

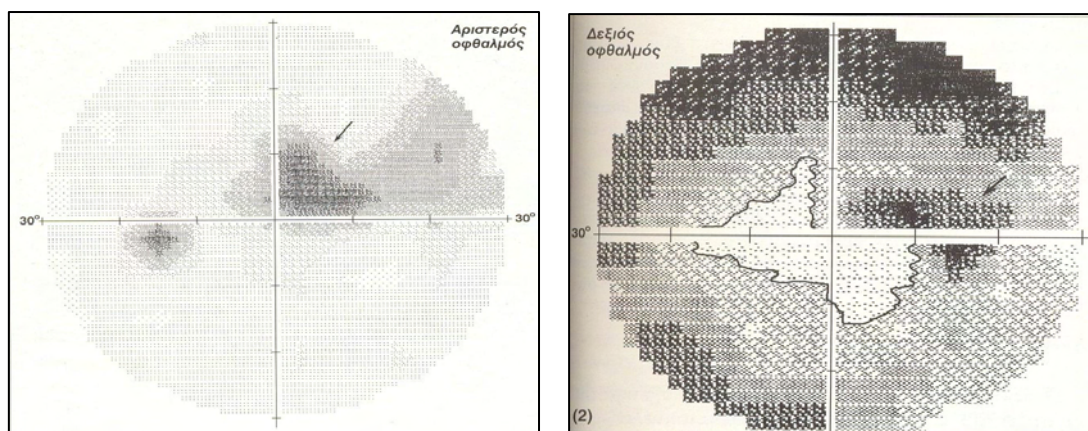
- Διαταραχή ιδιοδεκτικής αισθητικότητας. Χαρακτηριστικά οι ασθενείς περιγράφουν την εικόνα του «άχρηστου χεριού», όπου η μυϊκή ισχύς του άκρου είναι φυσιολογική (Paty DW, 1984).
- Άλγος, ποικίλης έντασης και διάρκειας (Clifford DB, 1984).

3) Διαταραχές από τα κρανιακά νεύρα:

- Οπτικό νεύρο. Εκδηλώνονται με μειωμένη, κυρίως μονόπλευρα, οπτική οξύτητα, που εκφράζεται ως θάμβος οράσεως, οφειλόμενο σε οπτική νευρίτιδα. Αρκετές φορές συνοδεύεται από άλγος, πίσω και γύρω από το βολβό, που επιτείνεται με τις κινήσεις των οφθαλμών (οπισθοβολβική νευρίτιδα). Τις περισσότερες φορές, μετά από ένα επεισόδιο οπτικής νευρίτιδας ή όραση αποκαθίσταται (McDonald WI & Barnes D, 1992), ενώ σε κάποιες άλλες η διαταραχή παρατείνεται και μετά την αποκατάστασή της καταλείπει μειωμένο βαθμό οπτικής οξύτητας, κροταφικό αποχρωματισμό της θηλής ή οπτική ατροφία και διαταραχές απ' τα οπτικά πεδία (εικόνα 25). Αξίζει να σημειωθεί ότι η οπτική νευρίτιδα αποτελεί, κατ' εξαίρεση, ίσως το πιο συχνό εναρκτήριο σύμπτωμα στους Ιάπωνες (περίπου 40%), όπου μάλιστα είναι πολύ συχνότερη από τον υπόλοιπο κόσμο και η αμφοτερόπλευρη μορφή της, δηλαδή η ταυτόχρονη προσβολή και των δύο οπτικών νεύρων. Συνήθως, στην πορεία της νόσου βλάβη των οπτικών νεύρων θα συμβεί στα 3/4 των πασχόντων (McDonald WI, 1983, McDonald WI & Barnes D, 1992), ενώ οι δύο οφθαλμοί προσβάλλονται το ίδιο συχνά (Perkin GD, 1979, Kurland LT, 1966).
- Οφθαλμοκινητικά νεύρα. Εμφανίζονται στο 1/3 περίπου των ασθενών με ΣΚΠ (Reulen JP, 1983, Barnes D & McDonald WI, 1992, McDonald WI & Barnes D, 1992). Συνηθέστερη διαταραχή είναι η διάσπαση των παρακολουθητικών κινήσεων, οι οποίες αποκαθίστανται από σακκαδικές (Mastaglia FL, 1979), χωρίς συνήθως ο ασθενής να έχει επίγνωση της κατάστασης αυτής. Επίσης, παρατηρείται νυσταγμός, διαπυρηνική οφθαλμοπληγία (Müri RM, 1985) και διπλωπία, συνεπεία μεμονωμένης προσβολής των οφθαλμοκινητικών νεύρων (Gordon FS, 1996), η οποία παρέρχεται σε σύντομο χρονικό διάστημα και σχεδόν πάντα πλήρως.
- Τρίδυμο νεύρο. Αν και η προσβολή του δεν είναι σχετικά συχνή στη ΣΚΠ, η εμφάνιση νευραλγίας τριδύμου σε νεαρό άτομο πρέπει να ελέγχεται διεξοδικά, διότι δεν αποκλείεται να αποτελεί εκδήλωση της ΣΚΠ (Jensen TS, 1982, Moulin DE, 1988 & 1989).
- Αιθουσαίο νεύρο. Οι διαταραχές του εκδηλώνονται με ίλιγγο, εκλυόμενο αυτόματα ή έπειτα από στροφή της κεφαλής και δεν αποτελεί σπάνια εκδήλωση της νόσου (Gordon FS, 1996, Bauer HJ, 1998).
- Άλλες εγκεφαλικές συζυγίες. Σπανιότερα μπορεί να προσβληθεί το προσωπικό νεύρο (Andermann F, 1961, Matthews WB, 1966, Kurtzke JF, 1968, Telischi FF, 1991), το κοχλιακό (Kurtzke JF, 1970, Daugherty WT, 1983) ή οι κατώτερες εγκεφαλικές συζυγίες (Bauer HJ, 1998).

Εικόνα 25

Ενδεικτική εικόνα οπτικών πεδίων ασθενούς με ΣΚΠ



Τυπικό κεντρικό-παρακεντρικό σκότωμα του οπτικού πεδίου του Α.Ο.

Παρακεντρικό σκότωμα και μεγάλη στένωση του οπτικού πεδίου του Δ.Ο.

4) Διαταραχές από το αυτόνομο νευρικό σύστημα (ΑΝΣ):

- Κυστικές. Εμφανίζονται περίπου στα 2/3 των ασθενών με ΣΚΠ (Blainas JG, 1979, Beck PR, 1981, Goldstein I, 1982). Συνήθως εκδηλώνονται είτε με επιτακτικές ουρήσεις ή ακράτεια ούρων, λόγω υπερλειτουργίας ή αυτόματου σπασμού του εξωστήρος μυός ή λόγω ανεπάρκειας του σφιγκτήρος, είτε με δυσκολία στην έναρξη της ούρησης, λόγω ατονίας του εξωστήρος μυός ή σπασμού του έξω σφιγκτήρος.
- Διαταραχές της λειτουργίας του εντέρου. Εμφανίζονται είτε με δυσκοιλιότητα (Hinds JP, 1990, Bakke A, 1996), είτε με περιστασιακή ή, σπάνια, μόνιμη ακράτεια κοπράνων (Hinds JP, 1990), λόγω ατονίας του σφιγκτήρος μυός.
- Μη σφιγκτηριακές διαταραχές. Εκδηλώνονται με δυσκοιλιότητα και οιδήματα των κάτω άκρων, καταστάσεις που επιτείνονται και από την περιορισμένη κινητικότητα, καθώς και με διαταραχές της αρτηριακής πίεσης, του καρδιακού ρυθμού και της έκκρισης των ιδρωτοποιών αδένων. Συνηθέστερα όμως (σε ποσοστό >50% των πασχόντων) εκδηλώνονται με σεξουαλικές διαταραχές, της σύσης ή της εκσπερμάτισης (Vas CJ, 1969).

5) Γνωσιακές διαταραχές:

- Συνήθως εκδηλώνονται με διαταραχή μνήμης (Rao SM, 1984, Grant I, 1984, Beatty WW, 1988) ή μείωσης της ταχύτητας επεξεργασίας πληροφοριών από τον εγκέφαλο (Beatty WW, 1988, Litvan I, 1988, Rao SM, 1989, Janculjak D, 1999), αφασικές διαταραχές (Achiron A, 1992, Okuda B, 1996), λόγω μαζικής απομυελινωτικής βλάβης του επικρατούστος ημισφαιρίου (Kahana E, 1971),

ή ψυχικές διαταραχές, κυρίως του συναισθήματος, όλες φλοιώδους προέλευσης. Σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών με ΣΚΠ μπορεί να εκδηλωθεί πρώιμα «υποφλοιώδης» άνοια (Young AC, 1976, Gordon FS, 1996).

Όσον αφορά στην εκτίμηση του βαθμού αναπηρίας του ασθενούς, από όσες κλίμακες έχουν προταθεί έως σήμερα, η συχνότερα χρησιμοποιούμενη είναι η «Βελτιωμένη Κλίμακα της Κατάστασης Αναπηρίας» (Expanded Disability Status Scale, EDSS) του Kurtzke (Kurtzke JF, 1983), χωρίς βέβαια να λείπουν και κάποιες αδυναμίες από αυτήν. Πρακτικά, ο ασθενής βαθμολογείται κατά λειτουργικό σύστημα και του αποδίδεται στο τέλος της εξέτασης όλων των συστημάτων ένας βαθμός αναπηρίας από 0-10, όπως φαίνεται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4
Βελτιωμένη κλίμακα της κατάστασης αναπηρίας (EDSS)

0,0 Φυσιολογική νευρολογική εξέταση	5,5 Περιπατητικός χωρίς βοήθεια για 100 μέτρα, αναπηρία σοβαρή, ώστε να αποκλείει την ολόημερη δραστηριότητα.
1,0 Χωρίς αναπηρία, ελάχιστα συμπτώματα.	6,0 Περίπατος 100 μέτρων με ή χωρίς ανάπαυση, απαιτεί περιοδική βοήθεια ή συνεχή υποστήριξη μονόπλευρα (δεκανίκια).
1,5 Χωρίς αναπηρία, ελάχιστα σημεία από περισσότερα του ενός λειτουργικά συστήματα.	6,5 Περίπατος 20 μέτρων χωρίς ανάπαυση, απαιτεί συνεχή υποστήριξη αμφοτερόπλευρα.
2,0 Ελαφρώς αυξημένη αναπηρία σε ένα λειτουργικό σύστημα.	7,0 Ανικανότητα βάδισης πέραν των 5 μέτρων ακόμη και με βοήθεια, περιορισμός σε αναπηρική πολυθρόνα με ικανότητα χειρισμού της χωρίς βοήθεια, εκτός κλίνης (στην πολυθρόνα) για 12 ώρες.
2,5 Ελαφρώς αυξημένη αναπηρία σε δύο λειτουργικά συστήματα.	7,5 Πλήρης σχεδόν αδυναμία βάδισης, περιορισμός σε αναπηρική πολυθρόνα με μειωμένη ικανότητα χειρισμού της, πιθανώς απαιτείται αυτοκινούμενη πολυθρόνα.
3,0 Μέτρια αναπηρία σε ένα λειτουργικό σύστημα, πλήρως περιπατητικός.	8,0 Περιορισμός σε κλίνη ή πολυθρόνα, εκτός κλίνης (σε πολυθρόνα) για αρκετό

	διάστημα της ημέρας, διατήρηση σχετικής ικανότητας αυτοεξυπηρέτησης, αποτελεσματική χρήση των χεριών.
3,5 Πλήρως περιπατητικός, αλλά με μέτρια αναπηρία σε ένα σύστημα και περισσότερο από ελαφρά αναπηρία σε αρκετά άλλα.	8,5 Περιορισμός σε κλίνη για αρκετό διάστημα της ημέρας, ελάχιστη ικανότητα αυτοεξυπηρέτησης και χρήσης χεριών.
4,0 Πλήρως περιπατητικός χωρίς βοήθεια, αυτό-εξυπηρετούμενος, εκτός κλίνης για 12 ώρες την ημέρα, παρά τη σχετικώς σοβαρή αναπηρία, ικανότητα περιπάτου χωρίς βοήθεια ή ανάπαυση για 500 μέτρα.	9,0 Πλήρης περιορισμός σε κλίνη, ικανότητα επικοινωνίας και λήψης τροφής.
4,5 Πλήρως περιπατητικός χωρίς βοήθεια, εκτός κλίνης για αρκετό διάστημα της ημέρας, ικανότητα εργασίας ή ελαφρός περιορισμός της πλήρους δραστηριότητας, σχετικά σοβαρή αναπηρία, ικανότητα περιπάτου χωρίς βοήθεια για 300 μέτρα.	9,5 Πλήρης περιορισμός σε κλίνη, αδυναμία αποτελεσματικής επικοινωνίας και απώλεια ικανότητας λήψης τροφής και κατάποσης.
5,0 Περιπατητικός χωρίς βοήθεια για 200 μέτρα, αναπηρία σοβαρή, ώστε να επηρεάζει αρκετά την ημερήσια δραστηριότητα.	10 Θάνατος εξαιτίας της ΣΚΠ

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Ειδικό τεστ για τη διάγνωση της ΣΚΠ δεν υφίσταται. Έτσι λοιπόν και δεδομένου ότι η νόσος εμφανίζει μια μεγάλη ποικιλία συμπτωμάτων, η πιθανότητα διαγνωστικού λάθους είναι υπαρκτή. Το είδος των συμπτωμάτων και η χρονική τους διασπορά, προσανατολίζει τους περισσότερους ιατρούς προς τη διάγνωση, χωρίς όμως να την εξασφαλίζει επαρκώς. Για το λόγο αυτό και με στόχο τον τερματισμό της διαγνωστικής αυθαιρεσίας, έχουν προταθεί διαγνωστικά κριτήρια που περιλαμβάνουν ένα συνδυασμό κλινικών και παρακλινικών χαρακτηριστικών. Ως τώρα, έχουν συσταθεί αρκετές επιτροπές επιστημόνων, εκ των οποίων τρεις υπήρξαν οι βασικές, που καθόρισαν, η κάθε μία στον καιρό της, διαγνωστικά κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν τόσο στην κλινική πράξη, όσο και στην έρευνα. Τα πρώτα κριτήρια συντάχθηκαν από τον Schumacher και τους συνεργάτες του (Schumacher GA, 1965), τα οποία ήταν αμιγώς κλινικά και καθόριζαν μόνο την κλινικώς βέβαιη ΣΚΠ (πίνακας 5).

Πίνακας 5

Τα κριτήρια των Schumacher και συνεργατών

Κλινικώς βέβαιη ΣΚΠ	
1	Αντικειμενικά σημεία προσβολής του ΚΝΣ. Συμπτώματα δεν γίνονται αποδεκτά.

2	Αποδείξεις προσβολής σε ≥ 2 σημεία.
3	Κυρίως προσβολή της λευκής ουσίας.
4	(α) ≥ 2 υποτροπές διάρκειας τουλάχιστον 24 ωρών που να απέχουν χρονικά τουλάχιστον 1 μήνα, (β) Αργή πορεία ή με ώσεις κατά τη διάρκεια 6 μηνών.
5	Ηλικία έναρξης 10-50 έτη.
6	Διάγνωση νόσου από νευρολόγο. Σημεία που δεν μπορούν να ερμηνευθούν από άλλο νόσημα.

Η αυξανόμενη χρησιμοποίηση των προκλητών δυναμικών και των νευροαπεικονιστικών εξετάσεων κατά το τέλος της δεκαετίας του '70 οδήγησε στη χρησιμοποίησή τους στα διαγνωστικά κριτήρια προκειμένου να συμπληρωθούν τα διαγνωστικά κενά. Τον Απρίλιο του 1982 συντάχθηκε μία επιτροπή από Αμερικανούς, Καναδούς και Βρετανούς ειδικούς στη ΣΚΠ που καθόρισαν δύο κατηγορίες νόσου, τη βέβαιη (Definite MS) και την πιθανή (Probable MS). Τα κριτήρια δημοσιεύθηκαν το 1983 και είναι γνωστά ως κριτήρια του Poser (Poser C, 1983) (πίνακας 6).

Πίνακας 6
Τα κριτήρια του Poser

Κλινικώς βέβαιη ΣΚΠ	
1	2 υποτροπές και κλινικές ενδείξεις 2 ξεχωριστών βλαβών.
2	2 υποτροπές, κλινικές ενδείξεις μιας βλάβης και παρακλινικές ενδείξεις μιας άλλης ξεχωριστής βλάβης.
Εργαστηριακώς υποστηριζόμενη βέβαιη ΣΚΠ	
1	2 υποτροπές και είτε κλινική, είτε παρακλινική απόδειξη μιας βλάβης, καθώς και παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY ή αυξημένης IgG.
2	1 υποτροπή και κλινική ένδειξη 2 ξεχωριστών βλαβών σε συνδυασμό με παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY ή αυξημένης IgG.
3	1 υποτροπή, κλινική ένδειξη μιας βλάβης και παρακλινική απόδειξη μιας άλλης ξεχωριστής βλάβης, σε συνδυασμό με παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY ή αυξημένης IgG.
Κλινικώς πιθανή ΣΚΠ	
1	2 υποτροπές και κλινική ένδειξη μιας βλάβης.
2	1 υποτροπή και κλινική ένδειξη 2 ξεχωριστών βλαβών.
3	1 υποτροπή, κλινική ένδειξη μιας βλάβης και παρακλινική απόδειξη μιας άλλης ξεχωριστής βλάβης.
Εργαστηριακώς υποστηριζόμενη πιθανή ΣΚΠ	
1	2 υποτροπές και παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY ή αυξημένης IgG.

Ήταν αναπόφευκτο ότι με την αυξανόμενη σημασία της MRI εγκεφάλου και τη συμβολή της στην διάγνωση της νόσου, θα έπρεπε να καθιερωθούν εκ νέου διαγνωστικά κριτήρια που να λαμβάνουν υπόψη τα καινούργια απεικονιστικά δεδομένα (Barkhof F, 2003). Αυτό έγινε από μία επιτροπή ειδικών νευρολόγων με επικεφαλής τον Ian McDonald και δημοσιεύθηκαν το 2001 (McDonald WI, 2001). Ένα σημαντικό στοιχείο των κριτηρίων αυτών είναι ο διαχωρισμός των ασθενών σε τρεις κατηγορίες: σ' αυτούς που έχουν βέβαιη νόσο, σ' αυτούς που έχουν πιθανή και σ' εκείνους που δεν έχουν τη νόσο. Επίσης, καθορίζονται οδηγίες για τη διάγνωση της PP μορφής της ΣΚΠ (πίνακας 7).

Πίνακας 7
Τα κριτήρια του McDonald

Κλινική Παρουσίαση	Πρόσθετα απαιτούμενα στοιχεία για τη διάγνωση της ΣΚΠ
≥ 2 υποτροπές, αντικειμενική κλινική ένδειξη ≥ 2 βλαβών.	Ουδέν.
≥ 2 υποτροπές, αντικειμενική κλινική ένδειξη 1 βλάβης.	Διασπορά στο χώρο όπως επιδεικνύεται στην MRI ή ≥ 2 βλάβες στην MRI συμβατές με ΣΚΠ & (+) θετικό ENY ή αναμονή επόμενης υποτροπής με διαφορετική εντόπιση.
1 υποτροπή, αντικειμενική κλινική ένδειξη ≥ 2 βλαβών.	Διασπορά στο χρόνο, όπως επιδεικνύεται στην MRI ή δεύτερη κλινική υποτροπή.
1 υποτροπή, αντικειμενική κλινική ένδειξη μιας βλάβης (μονοσυμπτωματική έναρξη: κλινικά μεμονωμένο σύνδρομο).	Διασπορά στο χώρο όπως επιδεικνύεται στην MRI ή ≥ 2 βλάβες στην MRI συμβατές με ΣΚΠ & (+) ENY και διασπορά στο χρόνο όπως επιδεικνύεται στην MRI ή δεύτερη κλινική υποτροπή.
Υποξεία νευρολογική εξελικτική πορεία που συνηγορεί για ΣΚΠ.	(+) ENY και διασπορά στο χώρο όπως επιδεικνύεται στην MRI, με 1) ≥ 9 T2 βλάβες στον εγκέφαλο, ή 2) ≥ 2 βλάβες στο NM, ή 3) 4-8 βλάβες εγκεφάλου + 1 βλάβη NM ή παθολογικά οπτικά προκλητά δυναμικά (VEP) μαζί με 4-8 βλάβες εγκεφάλου, ή με < 4 βλάβες εγκεφάλου & 1 βλάβη NM και διασπορά στο χρόνο όπως επιδεικνύεται στην MRI ή προοδευτική επιδείνωση για 1 έτος.

Η **διασπορά στο χώρο** όπως προκύπτει από την MRI πρέπει να πληρεί 3 από τα ακόλουθα:

- 1) 1 Gd (+) βλάβη ή ≥ 9 T2 MRI βλάβες,
- 2) ≥1 υποσκληρίδια βλάβη,

- 3) ≥ 1 υποφλοιώδη βλάβη,
 4) ≥ 3 περικοιλιακές βλάβες.

Οι βλάβες πρέπει να είναι μεγαλύτερες από 3 mm (1 εστία στο NM ισοδυναμεί με 1 εστία στον εγκέφαλο).

Η **διασπορά στο χρόνο** όπως προκύπτει από την MRI απαιτεί: Μια Gd (+) βλάβη σε θέση που δεν σχετίζεται με το κλινικό σύμπτωμα σε MRI που έγινε για πρώτη φορά >3 μήνες μετά την έναρξη μίας κλινικής υποτροπής, ή 1 Gd (+) ή νέα T2 βλάβη σε μία δεύτερη MRI που επαναλήφθηκε 3 μήνες μετά την πρώτη.

Τον Μάρτιο του 2005, η διεθνής επιτροπή για τη ΣΚΠ συνεδρίασε στο Άμστερνταμ και αναθεώρησε μερικώς τα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου (Polman CH, 2005) (πίνακας 8).

Πίνακας 8

Τα αναθεωρημένα διαγνωστικά κριτήρια McDonald του 2005

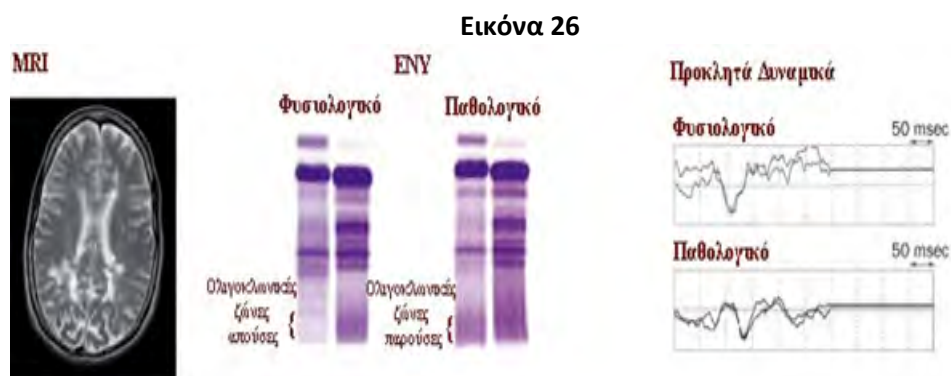
Κλινική Παρουσίαση	Πρόσθετα απαιτούμενα στοιχεία για τη διάγνωση της ΣΚΠ
≥ 2 υποτροπές, αντικειμενική κλινική ένδειξη ≥ 2 βλαβών.	Ουδέν.
≥ 2 υποτροπές, αντικειμενική κλινική ένδειξη 1 βλάβης.	Διασπορά στο χώρο όπως επιδεικνύεται στην MRI ή ≥ 2 βλάβες στην MRI συμβατές με ΣΚΠ & (+) ENY ή αναμονή επόμενης υποτροπής με διαφορετική εντόπιση.
1 υποτροπή, αντικειμενική κλινική ένδειξη ≥ 2 βλαβών.	Διασπορά στο χρόνο, όπως επιδεικνύεται στην MRI ή δεύτερη κλινική υποτροπή.
1 υποτροπή, αντικειμενική κλινική ένδειξη 1 βλάβης (μονοσυμπτωματική έναρξη: κλινικά μεμονωμένο σύνδρομο).	Διασπορά στο χώρο όπως επιδεικνύεται στην MRI ή ≥ 2 βλάβες στην MRI συμβατές με ΣΚΠ & (+) ENY και διασπορά στο χρόνο όπως επιδεικνύεται στην MRI ή δεύτερη κλινική υποτροπή.
Υποξεία νευρολογική εξελικτική πορεία που συνηγορεί για ΣΚΠ.	Προϊούσα πορεία νόσου για 1 έτος (αναδρομικώς είτε προοπτικώς καθοριζόμενη) και δύο από τα ακόλουθα: <ul style="list-style-type: none"> (+) MRI εγκεφάλου (9 T2 βλάβες είτε ≥ 4 βλάβες με παθολογικά VEP) (+) MRI NM (2 εστιακές T2 βλάβες) (+) ENY (παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών ανιχνεύσιμες με ισοηλεκτρική εστίαση, ή αυξημένου IgG Index)

Η **διασπορά στο χώρο** όπως προκύπτει από την MRI πρέπει να πληρεί 3 από τα ακόλουθα: 1) ≥ 1 Gd (+) βλάβη ή 9 T2 MRI βλάβες αν δεν υπάρχει βλάβη που προσλαμβάνει παραμαγνητική ουσία, 2) ≥ 1 υποσκηνίδια βλάβη, 3) ≥ 1 υποφλοιώδη βλάβη, 4) ≥ 3 περικοιλιακές βλάβες.

Μία βλάβη στο NM θεωρείται ισοδύναμη με μία υποσκηνίδια εγκεφαλική βλάβη: μία Gd (+) βλάβη στο NM θεωρείται ισοδύναμη με μία Gd (+) εγκεφαλική βλάβη και μία μεμονωμένη βλάβη στο NM μπορεί να προσμετρηθεί στις εγκεφαλικές βλάβες προκειμένου να καλυφθεί ο απαιτούμενος αριθμός των T2 βλαβών.

Η **διασπορά στο χρόνο** όπως προκύπτει από την MRI απαιτεί: παρουσία Gd (+) βλάβης τουλάχιστον 3 μήνες μετά την έναρξη της αρχικής κλινικής προσβολής (εφόσον αυτή δεν αφορά σε θέση που να εμπλέκεται με την αρχική προσβολή), ή ανίχνευση μιας νέας T2 βλάβης, εφόσον αυτή εμφανίζεται σε οποιοδήποτε χρονικό διάστημα ≥ 30 ημέρες μετά το αρχικό κλινικό επεισόδιο.

Η διάγνωση λοιπόν βασίζεται στην τεκμηρίωση της ύπαρξης χαρακτηριστικών βλαβών σε διαφορετικά σημεία του ΚΝΣ, μέσω του ιστορικού (έναρξη στη νεαρή ηλικία, χαρακτηριστικό ιστορικό εξάρσεων και υφέσεων), της νευρολογικής εξέτασης (πολυεστιακή σημειολογία) και της εργαστηριακής διερεύνησης (MRI, ανάλυση ENY, VEP) (εικόνα 26).



Compston A, Lancet, 2002

Παρόμοια κλινική εικόνα με τη ΣΚΠ έχουμε και σε άλλα νοσήματα. Για το λόγο αυτό καθορίστηκαν κάποια κλινικά και παρακλινικά χαρακτηριστικά που θέτουν την υπόνοια κάποιου άλλου νοσήματος εκτός της ΣΚΠ, τα οποία είναι τα ακόλουθα (Rudick RA, 1986):

- όχι υποτροπές,
- όχι συμμετοχή του οπτικού νεύρου ή της οπτικής κινητικότητας στην πορεία του χρόνου,
- όχι αισθητικά συμπτώματα ή ευρήματα,
- όχι κυστικές διαταραχές,
- επαναλαμβανόμενες υποτροπές πάντα στο ίδιο σημείο του ΚΝΣ,

- ασθενής <16 ή >50 ετών,
- συνακόλουθη ψυχιατρική νόσος,
- φυσιολογικό ENY,
- πρωτεΐνη > 100 mg/dl,
- αριθμός κυττάρων >50/μL,
- φυσιολογική ή άτυπη MRI.

Η παρουσία κάποιων σημείων από τα παραπάνω δεν αποκλείει την πιθανότητα της νόσου, απλώς επισημαίνει την αναγκαιότητα περισσότερων εκτιμήσεων προκειμένου να καθορισθεί η τελική διάγνωση.

ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διαφορική διάγνωση θα στηριχθεί σε μια σειρά δεδομένων που προέρχονται πρωτίστως από την κλινική εικόνα και δευτερευόντως από τον εργαστηριακό-παρακλινικό έλεγχο που περιλαμβάνει την MRI εγκεφάλου και NM, την ανάλυση του ENY, τα VEP και τις αιματολογικές εξετάσεις (κάποιες εκ των οποίων αρκετά εξειδικευμένες).

Τα πιο συχνά νοσήματα από τα οποία θα πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί η ΣΚΠ περιλαμβάνονται στον πίνακα 9.

Πίνακας 9

Παθήσεις από τις οποίες θα πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί η ΣΚΠ

Μεταβολικές διαταραχές Διαταραχές του μεταβολισμού της βιταμίνης B12, Λευκοδυστροφίες.
Αυτόνοσα νοσήματα Σύνδρομο Sjögren, συστηματικός ερυθματώδης λύκος (ΣΕΛ), νόσος Behcet, σαρκοείδωση, χρόνια φλεγμονώδης απομυελινωτική πολυνευροπάθεια σχετιζόμενη με απομυελίνωση του ΚΝΣ, αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.
Λοιμώξεις Μυελοπάθεια που σχετίζεται με HIV (human immunodeficiency virus), μυελοπάθεια που σχετίζεται με HTLV-1 (human T-cell lymphotropic virus type1), νόσος του Lyme, σύφιλη ΚΝΣ, νόσος του Eales, ιογενής εγκεφαλίτιδα, χρόνια μηνιγγίτιδα από μύκητες, υποξεία σκληρυντική πανεγκεφαλίτιδα, προϊούσα πανεγκεφαλίτιδα της ερυθράς, φυματιώδη εγκεφαλίτιδα, προϊούσα πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (PML).
Αγγειακές διαταραχές Αρτηριοφλεβώδεις δυσπλασίες (NM, εγκεφάλου, ημισφαιρίων, προμήκους), οικογενή σπηλαιώδη αιμαγγειώματα, αγγειίτιδα του ΚΝΣ, αυτοσωματική κυρίαρχη εγκεφαλική αρτηριοπάθεια με υποφλοιώδη έμφρακτα και λευκοεγκεφαλοπάθεια, νόσος Moya-Moya, κενотоπιώδης κατάσταση, θρομβοεμβολικά έμφρακτα, ημικρανική ισχαιμία.
Γενετικά σύνδρομα Κληρονομικές αταξίες και κληρονομικές παραπληγίες, οπτική ατροφία του Leber και άλλες μιτοχονδριακές παθήσεις.
Βλάβες του οπισθίου βόθρου και του NM Δυσπλασία Arnold-Chiari, μη κληρονομικές αταξίες, αυχενική μυελοπάθεια και άλλες μυελοπάθειες.
Ψυχιατρικές διαταραχές Αντιδράσεις μετατροπής, προσποίηση ασθένειας.
Νεοπλασματικά νοσήματα Όγκοι του NM, λεμφώματα του ΚΝΣ, παρανεοπλασματικές διαταραχές.
Παραλλαγές της ΣΚΠ Οπτική νευρίτιδα, μεμονωμένα σύνδρομα του στελέχους, εγκάρσια μυελίτιδα, οξεία διάσπαρτη εγκεφαλομυελίτιδα (ADEM), νόσος του Marburg, οπτική νευρομυελίτιδα.

Noseworthy JH, N Engl J Med, 2000

ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ – ΜΟΡΦΕΣ - ΠΡΟΓΝΩΣΗ

1) ΠΟΡΕΙΑ

Η κλινική πορεία της ΣΚΠ ποικίλει, καθώς η φυσική ιστορία της, δηλαδή η εξέλιξη της χωρίς φαρμακευτική ή άλλη παρέμβαση, είναι απρόβλεπτη. Σε εξαιρετικές περιπτώσεις, η ΣΚΠ παραμένει κλινικά σιωπηλή καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ατόμου και μόνον κατά την νεκροψία ανακαλύπτονται τα τυπικά παθολογοανατομικά ευρήματά της ή εκδηλώνεται μεν στη διάρκεια της ζωής του ατόμου, αλλά καταλείπει ελάχιστο βαθμό αναπηρίας μετά την πάροδο πολλών ετών (**καλοήθης μορφή**). Η μορφή αυτή απαντάται σε ένα ποσοστό 10-20% (McAlpine D, 1961, Thompson AJ, 1986, Phadke JG, 1990) και σύμφωνα με τον τελευταίο ορισμό της (Pittock SJ, 2008) θεωρείται ότι ανήκουν σε αυτή, ασθενείς που μετά από 10 χρόνια νόσησης ή περισσότερο έχουν βαθμολογία στην κλίμακα EDSS < 2, καθόσον έχουν μικρότερη από 10% πιθανότητα να αναπτύξουν σημαντική αναπηρία. Στο άλλο άκρο, σε κάποιες περιπτώσεις η ΣΚΠ είναι τόσο ταχέως εξελισσόμενη, ώστε ο ασθενής καταλήγει μέσα σε λίγους μήνες από την έναρξη της νόσου (**κακοήθης μορφή**) (Mendez MF, 1988). Οι υπόλοιποι ασθενείς βρίσκονται ανάμεσα σε αυτές τις δύο κατηγορίες.

Όσον αφορά στην ηλικία έναρξης, συνήθως η νόσος ξεκινά την τρίτη ή τέταρτη δεκαετία της ζωής (Confavreux C, 1980, Lowis GW, 1990, Matthews WB, 1991, Sadovnick AD, 1993, Kesselring J, 1997), αλλά σε ένα ποσοστό 2% των ασθενών εμφανίζεται πριν από την ηλικία των 10 ετών, σε ένα 5% πριν από την ηλικία των 16 ετών και σε ένα ποσοστό 7-12% μετά την ηλικία των 50 ετών (Phadke JG, 1990, Kesselring J, 1997).

2) ΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ ΣΚΠ

Η κλινική παρακολούθηση της πορείας της ΣΚΠ οδήγησε στην ομαδοποίηση των πασχόντων και την περιγραφή διακριτών τύπων της νόσου. Η ομαδοποίηση αυτή, εφόσον έχει βασισθεί σε κλινικά χαρακτηριστικά, είναι εμπειρική και δεν αντανakλά σε ειδική βιολογική παθοφυσιολογία, παίζει όμως σημαντικό ρόλο στην επιλογή της κατάλληλης φαρμακευτικής αγωγής. Οι τύποι της ΣΚΠ όσον αφορά στην πορεία της νόσου είναι οι εξής:

I. Με εξάρσεις και υφέσεις (Relapsing Remitting, RR)

Παρουσιάζεται στο 70-80% των ασθενών με ΣΚΠ (Weinshenker BG, 1989). Τυπικά εμφανίζεται στη 2η ή 3η δεκαετία της ζωής και προσβάλλει περισσότερο γυναίκες σε αναλογία 2:1 σε σχέση με τους άνδρες. Χαρακτηρίζεται από εξάρσεις (αιφνίδια εκδήλωση νευρολογικών συμπτωμάτων και σημείων) ακολουθούμενες από ποικίλου βαθμού βελτίωση, που κυμαίνεται από πλήρη ανάκαμψη της νευρολογικής λειτουργίας έως συμπτωματική υπολειμματική δυσλειτουργία (Noseworthy JH, 2000). Το χρονικό διάστημα από την εμφάνιση της συμπτωματολογίας μέχρι την αποδρομή της ονομάζεται «ώση» της νόσου, έχει θδιάρκεια που δεν είναι πάντα η ίδια (συνήθως λίγες ημέρες) και ακολουθείται από, απρόβλεπτης επίσης διάρκειας, διάστημα ύφεσης, το οποίο λήγει με την

εμφάνιση μιας άλλης ώσης. Για να χαρακτηριστεί ένα νέο σύμπτωμα ή η υποτροπή ενός παλαιού ως ώση, πρέπει να υφίστανται συνεχώς σε απύρετο ασθενή, επί τουλάχιστον 24 ώρες (Poser CM, 1980, Poser CM, 1984, Matthews WB, 1991).

Συνήθως ξεκινά με αισθητικές διαταραχές, ετερόπλευρη οπτική νευρίτιδα, διπλωπία (διαπυρηνική οφθαλμοπληγία), μυϊκή αδυναμία άκρων, αταξία, σημείο Lhermitte (παραισθησίες κορμού-άκρων που προκαλούνται σε κάμψη του αυχένα) ή ορθοκυστικές διαταραχές. Σύνηθες σύμπτωμα είναι η κόπωση που επιδεινώνεται κατά τις απογευματινές ώρες. Ορισμένοι ασθενείς παρουσιάζουν διαλείποντα στερεοτυπικά φαινόμενα όπως παροξυσμικά άλγη ή παραισθησίες, νευραλγία τριδύμου και δυστονία άκρων. Σπάνια μπορεί να εμφανιστούν εξωπυραμιδικά συμπτώματα (χορεία και δυσκαμψία) και συμπτώματα που υποδηλώνουν φλοιϊκή βλάβη, όπως αφασία, απραξία, επιληπτικές κρίσεις ή πρώιμη άνοια. Τα προβλήματα προκύπτουν μετά από επανειλημμένες προσβολές του ΚΝΣ που οδηγούν σε προοδευτική τετραπάρηση, αισθητικές διαταραχές, σεξουαλική δυσλειτουργία, σοβαρού βαθμού αταξία, δυσαρθρία, δυσφαγία, νοητική έκπτωση, συναισθηματική αστάθεια και κατάθλιψη.

Ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών με τη RR μορφή σταματούν να εμφανίζουν ώσεις και αναπτύσσουν μια προοδευτική νευροεκφυλιστική δευτεροπαθή διαταραχή που σχετίζεται με χρόνια φλεγμονή του ΚΝΣ και είναι γνωστή ως «δευτεροπαθώς προϊούσα πολλαπλή σκλήρυνση» (secondary progressive – SP – MS, θα συζητηθεί παρακάτω) (Confavreux C, 2000). Το ποσοστό αυτό ανέρχεται σε 50% περίπου μετά από 10 χρόνια νόσησης, 70% μετά από 20 χρόνια και 90-95% στη διάρκεια της ζωής των ασθενών (Weinshenker BG, 1989).

II. Πρωτοπαθώς προϊούσα (Primary Progressive, PP)

Παρουσιάζεται περίπου στο 10-20% (οι στατιστικές ποικίλουν) των ασθενών (Fowler TJ, 1989, Thompson AJ, 1992). Χαρακτηρίζεται από το γεγονός ότι είναι προϊούσα εξαρχής και διακριτές εξάρσεις δεν υπάρχουν. Είναι συχνότερη σε μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς. Οι εστίες στην MRI εντοπίζονται περιφερικότερα και είναι λιγότερες σε αριθμό. Συνήθως χαρακτηρίζεται από την προοδευτική εγκατάσταση ενός συνδρόμου προσβολής των κάτω άκρων τύπου ανώτερου κινητικού νευρώνα (χρόνια προοδευτική μυελοπάθεια). Προοδευτικά εγκαθίστανται τετραπάρηση, νοητική έκπτωση, έκπτωση οπτικής οξύτητας, στελεχιαία σύνδρομο, ορθοκυστικές διαταραχές και παρεγκεφαλιδική συνδρομή (Nosworthy JH, 2000).

III. Δευτεροπαθώς προϊούσα (Secondary Progressive, SP)

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στο μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών που πάσχουν από τη RR μορφή της ΣΚΠ, ύστερα από άλλο χρονικό διάστημα, η νόσος μεταπίπτει σε μία διαρκώς φθίνουσα κατάσταση, με ή χωρίς περιόδους εξάρσεων και υφέσεων, ονομαζόμενη δευτεροπαθώς προϊούσα ΣΚΠ.

IV. Προϊούσα με εξάρσεις (Progressive Relapsing, PR)

Όσοι ασθενείς πάσχουν από την προϊούσα με εξάρσεις μορφή, έχουν μια φθίνουσα πορεία εξαρχής, στην οποία αργότερα προστίθενται ένα ή δύο επεισόδια

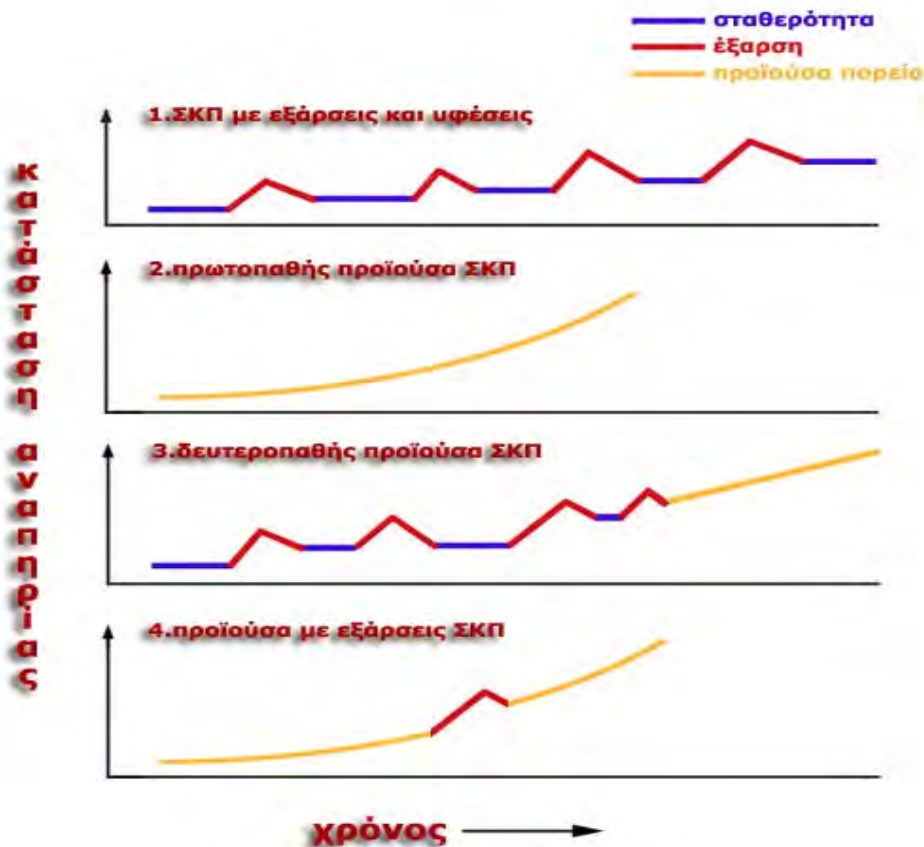
επιδείνωσης, με ή χωρίς επάνοδο στην προηγούμενη του επεισοδίου κατάσταση (Lublin FD, 1997).

Η PR μορφή της νόσου και πιθανώς κάποιες περιπτώσεις PP μορφής, πιθανολογείται ότι αντιπροσωπεύουν περιπτώσεις SP μορφής, όπου όμως οι αρχικές εξάρσεις δεν αναγνωρίστηκαν, ξεχάστηκαν ή ήταν κλινικώς σιωπηλές.

Οι βασικοί τύποι της ΣΚΠ απεικονίζονται γραφικά στην εικόνα 27.

Εικόνα 27

Γραφική αναπαράσταση των μορφών της ΣΚΠ ως προς την πορεία της νόσου



3) ΣΠΑΝΙΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΣΚΠ

Όπως αναφέρθηκε, ένα μικρό ποσοστό των ασθενών με ΣΚΠ αναπτύσσουν άτυπα πολύ επιθετική νόσο η οποία οδηγεί σε σοβαρού βαθμού αναπηρία ή ακόμα και σε θάνατο σε χρονικό διάστημα μηνών (Bjartmar C, 2003).

Ποικιλίες αυτής της κακοήθους μορφής της νόσου είναι:

- **Η νόσος του Marburg**
Παρουσιάζει όλα τα τυπικά χαρακτηριστικά της χρόνιας ΣΚΠ αλλά με ταχεία εξέλιξη, δίχως υφέσεις και εμφάνιση πολύ καταστροφικών βλαβών. Οι βλάβες στην MRI δίνουν την εντύπωση ότι έχουν σχηματισθεί όλες ταυτόχρονα και όχι σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα, όπως συμβαίνει στη ΣΚΠ.
- **Η οπτική νευρομυελίτιδα του Devic**
Έχει ως μοναδικά σημεία προσβολής το ΝΜ και τα οπτικά νεύρα, εμφανίζεται σε ενήλικες, εξελίσσεται σε διάστημα εβδομάδων ή ημερών και οδηγεί σε μερική ή πλήρη τύφλωση και παραπληγία. Είναι θανατηφόρος σε ποσοστό περίπου 50%, ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις παρατηρείται μερική ή πλήρης ίαση. Αρκετοί ασθενείς που επιβιώνουν από το πρώτο οξύ επεισόδιο, αναπτύσσουν μελλοντικά μια κλινική πορεία αντίστοιχη με την κλασική ΣΚΠ.
- **Η νόσος Balo (Balo's concentric sclerosis)**
Χαρακτηρίζεται από μεγάλες απομυελινωτικές πλάκες με παρουσία ομόκεντρων ζωνών μυελίνωσης και απομυελίνωσης (Courville CB, 1970).

- **Η διάχυτη εγκεφαλική σκλήρυνση (νόσος Schilder)**
Χαρακτηρίζεται από προοδευτικά επιδεινούμενη κλινική πορεία με ποικίλη νευρολογική συμπτωματολογία και συχνά αυξημένη ενδοκράνια πίεση. Πρόκειται για βαριά μορφή απομυελίνωσης (Poser CM, 1985). Ο εγκέφαλος είναι σχετικά ατροφικός με εκτεταμένη απώλεια μυελίνης σε κεντρικές θέσεις των εγκεφαλικών ημισφαιρίων, ιδίως κατά τους ινιακούς λοβούς. Απεικονιστικά, παρατηρούνται μεγάλες συρρέουσες περιοχές βλαβών. Διαφοροδιαγνωστικά θα πρέπει κανείς να σκεφτεί τις λευκοδυστροφίες.

4) Η «ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΑ» ΤΗΣ ΟΠΤΙΚΗΣ ΝΕΥΡΙΤΙΔΑΣ – ΚΛΙΝΙΚΑ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ (CIS)

Η οπτική νευρίτιδα, ένα από τα πιο συχνά συμπτώματα της ΣΚΠ, ιδίως ως αναρκτήριο της νόσου, συμβαίνει συνήθως σε νεαρούς ενήλικες και σπάνια σε άτομα τα οποία έχουν ξεπεράσει το 45ο έτος της ηλικίας τους. Ένα πολύ σημαντικό ερώτημα στη φυσική πορεία και θεραπευτική της ΣΚΠ, είναι κατά πόσο τα άτομα που εμφανίζουν ένα κλινικά μεμονωμένο επεισόδιο, που στις περισσότερες περιπτώσεις πρόκειται για οπτική νευρίτιδα, θα νοσήσουν στο μέλλον από τη νόσο ή όχι και αν πρέπει να λάβουν άμεσα αγωγή ή να περιμένουν την επιβεβαίωση της νόσου.

Αν λάβει κανείς υπ' όψιν του ότι πολλοί ασθενείς με βέβαιη ΣΚΠ έχουν ιστορικό οπτικής νευρίτιδας και αρκετοί από αυτούς που παρουσιάζουν ένα επεισόδιο οπτικής νευρίτιδας νοσούν στη συνέχεια από ΣΚΠ, θα πρέπει να συμφωνήσει με την άποψη ότι η οπτική νευρίτιδα αποτελεί το ένα άκρο ενός συνεχούς του οποίου το άλλο άκρο καταλαμβάνει η ΣΚΠ. Παρ' όλα αυτά, αν και δεν υπάρχει νεκροτομικό υλικό από άτομα με ιστορικό μόνον οπτικής νευρίτιδας, δεν μπορεί κανείς να αρνηθεί το γεγονός ότι ένας αριθμός ατόμων με οπτική νευρίτιδα δεν θα νοσήσει ποτέ από ΣΚΠ.

Μελέτη 389 ασθενών με οπτική νευρίτιδα (Feldon SE, 2008), οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 15 χρόνια, έδειξε ότι 1 στους 2 εμφάνισε τελικά ΣΚΠ, όχι σύμφωνα με τα κριτήρια του McDonald, αλλά με την εμφάνιση 2ης υποτροπής, χωρίς καμία αμφισβήτηση.

Το διάστημα που μεσολαβεί από την εκδήλωση της οπτικής νευρίτιδας μέχρι την έναρξη της ΣΚΠ, ποικίλλει από εβδομάδες μέχρι περισσότερα από 20 έτη. Όμως, οι περισσότεροι εκδηλώνουν τη νόσο μέσα σε μια 5ετία (Ebers GC, 1981, Ebers GC, 1985, Weinshenker BG, 1989).

Πολλοί ασθενείς με οπτική νευρίτιδα, ταυτόχρονα με την έναρξη της συμπτωματολογίας έχουν εστίες ενδεικτικές απομυελίνωσης στην MRI εγκεφάλου (Jacobs L, 1986). Η ύπαρξη (+) MRI εγκεφάλου θεωρείται ιδιαίτερα αξιόπιστο προγνωστικό στοιχείο (Morrissey SP, 1993, O'Riordan JI, 1998). Εκτιμάται ότι το 4,9% από όσους εμφανίζουν οπτική νευρίτιδα και έχουν (-) MRI εγκεφάλου θα νοσήσει από βέβαιη ΣΚΠ μέσα στα επόμενα 2 χρόνια (Beck RW, 1993). Το ποσοστό αυτό μετατρέπεται σε 13,5%, εάν υπάρχει 1 εστία στην MRI, σε 20,8% εάν υπάρχουν 2 εστίες και σε 30,3% εάν υπάρχουν 3 απομυελινωτικές εστίες. Δηλαδή, η παρουσία 3 ή περισσότερων απομυελινωτικών εστιών, αποτελεί ισχυρή ένδειξη μελλοντικής νόσησης από ΣΚΠ, ο δε αριθμός εστιών απομυελίνωσης στην MRI εγκεφάλου

συνδέεται στενά και με το βαθμό αναπηρίας (όπως ορίζεται με βάση την κλίμακα του Kurtzke) που θα εμφανίσει ο ασθενής κατά τη διάρκεια της κατοπινής παρακολούθησής του (Filippi M, 1994, O’Riordan JI, 1998). Επίσης, 1 στους 5 ασθενείς με φυσιολογική MRI, χρειάζεται 10 χρόνια για να εμφανίσει 2^η υποτροπή, ενώ αν έχει (+) MRI – και μάλιστα πάνω από 3 εστίες – χρειάζεται μόνο 1 χρόνο.

Παράγοντες επικινδυνότητας θεωρούνται αντιγονικοί τύποι HLA-DR2 (κυρίως) και HLA-B7 (Sandberg-Wollheim M, 1975, Weinschenker BG, 1989, Sandberg-Wollheim M, 1990, Söderström M, 1998) (οι θετικοί HLA-DR2 ασθενείς έχουν 4πλάσια πιθανότητα, συγκρινόμενοι με τους αρνητικούς HLA-DR2, να νοσήσουν από ΣΚΠ), το θήλυ φύλο (Kinnunen E, 1983, Rizzo JF, 1988, Sandberg-Wollheim M, 1990), τα επανειλημμένα επεισόδια οπτικής νευρίτιδας (Compston DA, 1978, Cohen MM, 1979, Sandberg-Wollheim M, 1990) (η πιθανότητα επίσης 4πλασιάζεται), η ύπαρξη εστιών ενδεικτικών απομυελίνωσης στην MRI (Miller DH, 1988, Beck RW, 1993, Morrissey SP, 1993, Söderström M, 1998), καθώς και η ύπαρξη ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY (Nikoskelainen E, 1981, Stendahl-Brodin L, 1983, Sandberg-Wollheim M, 1990, Morrissey SP, 1993, Söderström M, 1998, Tintoré M, 2008).

Έχει λοιπόν φανεί από μια σειρά καλά τεκμηριωμένων μελετών (Miller D, 2005b) ότι ασθενείς με CIS, που είναι μονοεστιακό, εκδηλώνεται με οπτική νευρίτιδα ή αισθητικό σύμπτωμα, συνοδεύεται από (-) MRI, παρουσιάζουν βαθμολογία στην κλίμακα EDSS=0 μετά από 5 χρόνια και εμφανίζουν μεγάλο διάστημα ως την επόμενη υποτροπή, εν τέλει έχουν πολύ καλή εξέλιξη. Αντιθέτως, όταν το CIS είναι πολυεστιακό, εκδηλώνεται με πυραμιδικά ή παρεγκεφαλιδικά συμπτώματα, συνοδεύεται από ύπαρξη ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY και το σημαντικότερο όλων, διαπιστώνεται η ύπαρξη απομυελινωτικών εστιών στην MRI (και μάλιστα όσο περισσότερος τόσο χειρότερα), είναι σχεδόν βέβαιο ότι στην πορεία θα μετατραπεί σε ΣΚΠ.

Αν λοιπόν, όλα τα ανωτέρω συνυπολογισθούν και εκτιμηθεί ο σχετικός κίνδυνος, χωριστά για κάθε ασθενή, φαίνεται λογικό ότι το κακό πρέπει να προληφθεί έγκαιρα και μάλιστα όσο μεγαλύτερο το «θηρίο» τόσο πιο γρήγορη και αποτελεσματική πρέπει να είναι η αντιμετώπιση.

5) ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Απόλυτα αξιόπιστοι προγνωστικοί δείκτες δεν υπάρχουν. Γενικώς, εκτιμάται ότι χωρίς θεραπεία περίπου το 50% των ασθενών θα χρειαστούν υποβοήθηση στη βάδιση μέσα σε 10 χρόνια από την έναρξη της νόσου (Weinschenker BG, 1994).

Η πρόγνωση είναι σχετικά καλή όταν υπάρχει πλήρης αποκατάσταση μετά από κάθε επεισόδιο και όταν τα κύρια συμπτώματα της νόσου είναι αισθητικά ή αφορούν στην όραση (Phadke JG, 1987). Το μοντέλο αυτό συναντάται κυρίως σε νέες γυναίκες. Αντιθέτως όταν υπάρχει κινητική συμμετοχή ή όταν προσβάλλεται η συνέργεια και η ισορροπία, η πρόγνωση είναι φτωχή. Επίσης φτωχή είναι η πρόγνωση της νόσου όταν εμφανίζεται σε άνδρες μεγάλης ηλικίας.

Συχνές και παρατεταμένες ώσεις με ατελή αποκατάσταση κατά την έναρξη, καθώς και σύντομο διάλειμμα μεταξύ του πρώτου επεισοδίου και της επόμενης υποτροπής, αποτελούν αρνητικούς προγνωστικούς παράγοντες (Phadke JG, 1987,

Weinschenker BG, 1989). Ωστόσο ο βασικός παράγοντας που καθορίζει την αναπηρία είναι η έναρξη της προοδευτικής φάσης της νόσου.

Γενικώς, θεωρείται ότι οι ασθενείς οι οποίοι 5 χρόνια μετά την έναρξη της νόσου δεν παρουσιάζουν σημαντική κινητική ή παρεγκεφαλιδική διαταραχή (παρετικά στοιχεία, αταξία, τρόμο), έχουν πολύ μικρή πιθανότητα την επόμενη 15ετία να παρουσιάσουν σημαντικού βαθμού αναπηρία (Kurtzke JF, 1970 & 1977).

Συνοπτικά, κάποιοι ενδεικτικοί προγνωστικοί δείκτες (Runmarker B, 1993) παρουσιάζονται στους πίνακες 10 και 11, χωρίς όμως αυτές οι γενικεύσεις να ισχύουν πλήρως για κάθε ιδιαίτερη περίπτωση.

Πίνακας 10

Δείκτες καλής προγνωστικής αξίας στη ΣΚΠ

- 1) Σχετικώς μικρή ηλικία (<25 ετών, όχι >40 ετών) κατά την έναρξη της νόσου.
- 2) Μονοσυμπτωματική εισβολή της νόσου, όπου κυριαρχούν αισθητικές διαταραχές ή οπτικά συμπτώματα, ιδιαίτερα οπτική νευρίτιδα (αυτή η εικόνα της νόσου είναι συχνότερη σε νεαρές γυναίκες).
- 3) Ταχεία αποδρομή της ώσης με πλήρη επάνοδο του ασθενούς.
- 4) Ελάχιστος βαθμός ανικανότητας την πρώτη 5ετία από την εκδήλωση της νόσου.
- 5) Σύντομη διάρκεια της πιο πρόσφατης περιόδου έξαρσης.

Πίνακας 11

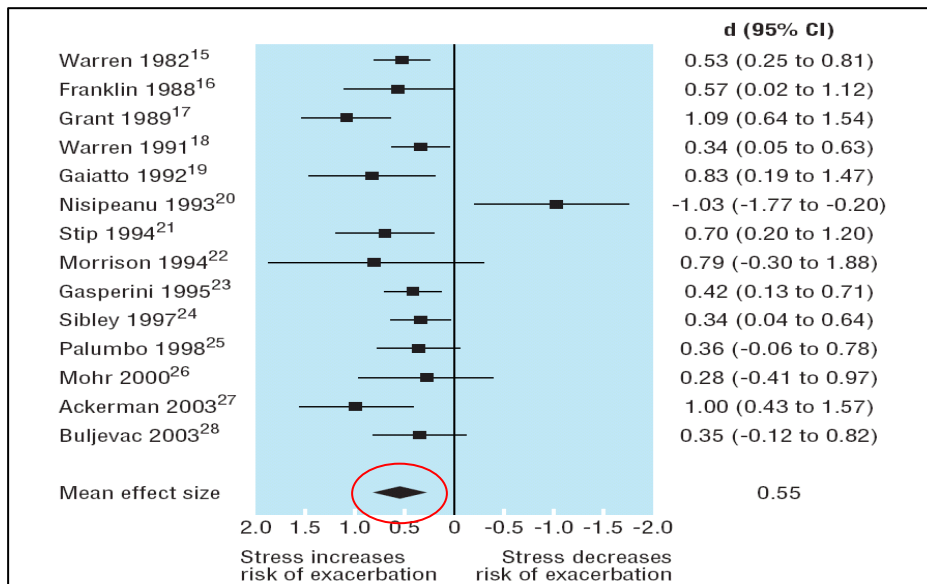
Δείκτες κακής προγνωστικής αξίας στη ΣΚΠ

- 1) Πολυσυμπτωματική έναρξη.
- 2) Έναρξη με κινητική συμπτωματολογία, παρεγκεφαλιδικά σημεία αταξίας ή τρόμου, ή ίλιγγο.
- 3) Έναρξη με μυελική συμπτωματολογία.
- 4) Χρονικό διάστημα μεταξύ των δύο πρώτων ώσεων μικρότερο από 6 μήνες.
- 5) Μεγάλη σχετικώς ηλικία έναρξης της νόσου.
- 6) Πλημμελής αποκατάσταση από μία ώση.
- 7) Οικογενειακό ιστορικό ΣΚΠ.
- 8) Ψυχιατρική συμπτωματολογία από την έναρξη της νόσου.
- 9) Μεγάλο φορτίο βλαβών στην MRI εγκεφάλου κατά την έναρξη της νόσου.

6) ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Μια σειρά μελετών δείχνουν ότι ψυχολογικοί παράγοντες και stress φαίνεται να αυξάνουν τον κίνδυνο εκδήλωσης μιας υποτροπής (εικόνα 28), ενώ συγχρόνως, δυσκολεύουν τους ασθενείς στο να αντιμετωπίσουν τα συμπτώματα της νόσου τους (Compston A & Coles A, 2002).

Εικόνα 28

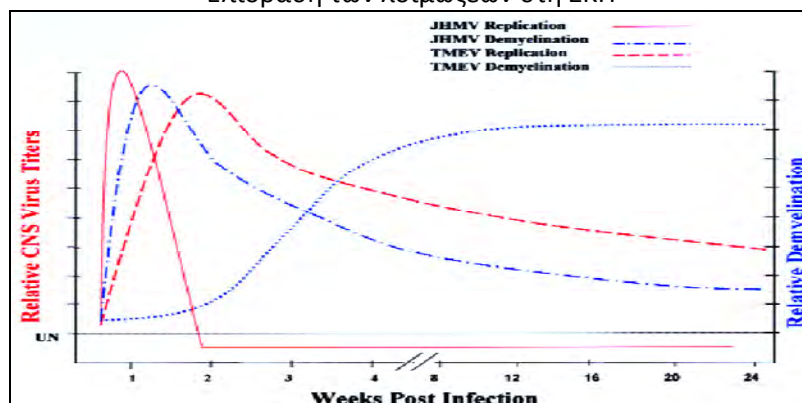


Riise T, Neurology, 2011

Προοπτικές μελέτες δείχνουν ότι ένα 10% των αναπνευστικών και γαστρεντερικών λοιμώξεων που επισυμβαίνουν σε ασθενείς με ΣΚΠ, ακολουθούνται από έξαρση της νόσου και ότι περίπου το 30% των νέων επεισοδίων σχετίζονται με τη λοίμωξη (εικόνα 29), γεγονός που απομακρύνει το συσχετισμό των εμβολιασμών σαν αιτία αύξησης της ενεργότητας της νόσου (Ascherio A, 2001, Compston A & Coles A, 2002). Έτσι λοιπόν, σκόπιμο θα ήταν όσοι εργάζονται σε χώρους υψηλού κινδύνου για λοιμώξεις (π.χ. σχολεία, νοσοκομεία) να κάνουν το εμβόλιο της γρίπης, καθώς και τα απολύτως αναγκαία (π.χ. αντιτετανικό).

Εικόνα 29

Επίδραση των λοιμώξεων στη ΣΚΠ



Stohlman SA, Brain Pathology, 2001

Όσον αφορά στην εγκυμοσύνη, υπάρχει ελάττωση του ρυθμού των υποτροπών για κάθε τρίμηνο της κύησης (Sibley WA, 1981, Poser S & Poser W, 1983, Nelson LM, 1988, Confavreux C, 1998), προφανώς λόγω των ανοσοτροποποιητικών ιδιοτήτων της, αλλά κατά τη διάρκεια της λοχείας ο κίνδυνος υποτροπής είναι τρεις φορές μεγαλύτερος, παρόλο που τελικά δεν υπάρχει σαφής επίδραση της κύησης

στο ρυθμό υποτροπών (Confavreux C, 1998). Αντίθετα, η ΣΚΠ δεν ασκεί ή ασκεί ελάχιστη επίδραση στην πορεία της κύησης και στον τοκετό (Poser S & Poser W, 1983, Herndon RM, 1991).

Η έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες, τόσο του σώματος (υπερπυρεξία), όσο και του περιβάλλοντος (θερινοί μήνες) αποτελεί συχνή αιτία επιδείνωσης της συμπτωματολογίας (έστω και βραχείας διάρκειας) στους περισσότερους πάσχοντες από ΣΚΠ (Weinschenker BG, 1995). Συνήθως όμως, η βλάβη που προκαλείται δεν είναι μόνιμη και τις περισσότερες φορές η συμπτωματολογία παρέρχεται με τη μείωση της θερμοκρασίας του σώματος ή του περιβάλλοντος.

Δεν υπάρχουν στοιχεία που να υποστηρίζουν ότι ο τραυματισμός μπορεί να προκαλέσει τη νόσο, να την ενεργοποιήσει σε κάποιον στον οποίο αυτή βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση ή να αλλάξει την πορεία της σε άτομα που ήδη πάσχουν.

Σε ότι αφορά στο διαιτολόγιο των ασθενών δεν υπάρχει αποδεδειγμένο είδος διατροφής προστατευτικό ή επιβαρυντικό της νόσου, αλλά μια δίαιτα πτωχή σε λιπαρά (που γενικώς είναι ωφέλιμη), δεν είναι άσχημο να εφαρμόζεται.

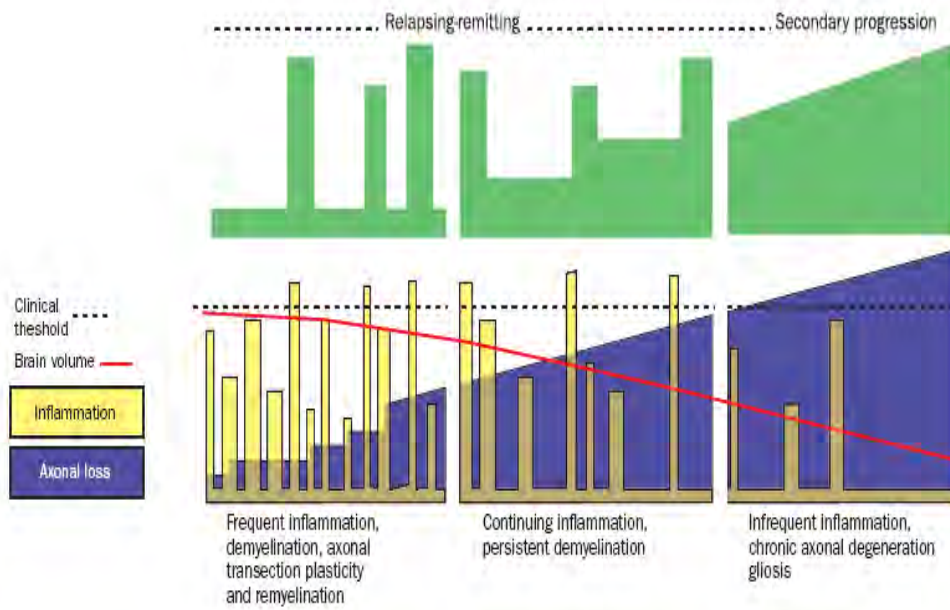
7) ΠΡΟΣΔΟΚΙΜΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ

Τις τελευταίες δεκαετίες, το προσδόκιμο επιβίωσης των πασχόντων έχει αυξηθεί και είναι τουλάχιστον 25 με 40 έτη από την έναρξη (Phadke JG, 1987, Hirst C, 2008, Grytten Torkildsen N, 2008), με το 1/3 εξ' αυτών να ζει περισσότερο από 30 έτη. Αυτή η αύξηση πιθανώς οφείλεται στα αποτελεσματικότερα σχήματα θεραπείας, την καλύτερη αντιμετώπιση των λοιμώξεων και ελκών που εμφανίζονται ως επιπλοκές της νόσου, αλλά και τη βελτίωση της ποιότητας των παρεχόμενων υπηρεσιών προς τα άτομα με ειδικές ανάγκες. Συνολικά, η ΣΚΠ επηρεάζει λιγότερο τη διάρκεια ζωής και περισσότερο την ποιότητά της, αφού δεν υπάρχει μεγάλη διαφορά στο εκτιμώμενο ποσοστό 25ετούς επιβίωσης για τους πάσχοντες από ΣΚΠ συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό του ίδιου φύλου και της ίδιας ηλικιακής κατανομής, ενώ από την άλλη πλευρά, η χρονιότητα της νόσου με τις κλινικές εκδηλώσεις της, οδηγούν το 70% των πασχόντων εκτός εργασίας, εξαιτίας διαταραχών μνήμης και ανώτερων λειτουργιών, σπαστικής παραπάρεσης, φτωχού προσανατολισμού και δυσλειτουργία σφιγκτήρος.

Θάνατος εξαιτίας της ΣΚΠ (Sumelahti ML, 2000, Ragonese P, 2008), αυτής καθ' αυτής, πολύ σπάνια συμβαίνει (Compston A & Coles A, 2002) και μπορεί να οφείλεται σε μια απομυελινωτική πλάκα είτε στην περιοχή του αναπνευστικού κέντρου ή στην ανώτερη μοίρα του αυχενικού μυελού, με συνέπεια παράλυση του διαφράγματος. Βρογχοπνευμονία οφειλόμενη είτε σε εισρόφηση είτε σε αναπνευστική ανεπάρκεια, είναι το συχνότερο αίτιο θανάτου, κάτι στο οποίο συμβάλλει και η εξάντληση των ασθενών λόγω της χρονιότητας της νόσου. Άλλες αιτίες θανάτου περιλαμβάνουν την καρδιακή ανακοπή, πνευμονική εμβολή, έλκη εκ κατακλίσεως, ακόμη και αυτοκτονία (7 φορές συχνότερη σε σχέση με το γενικό πληθυσμό).

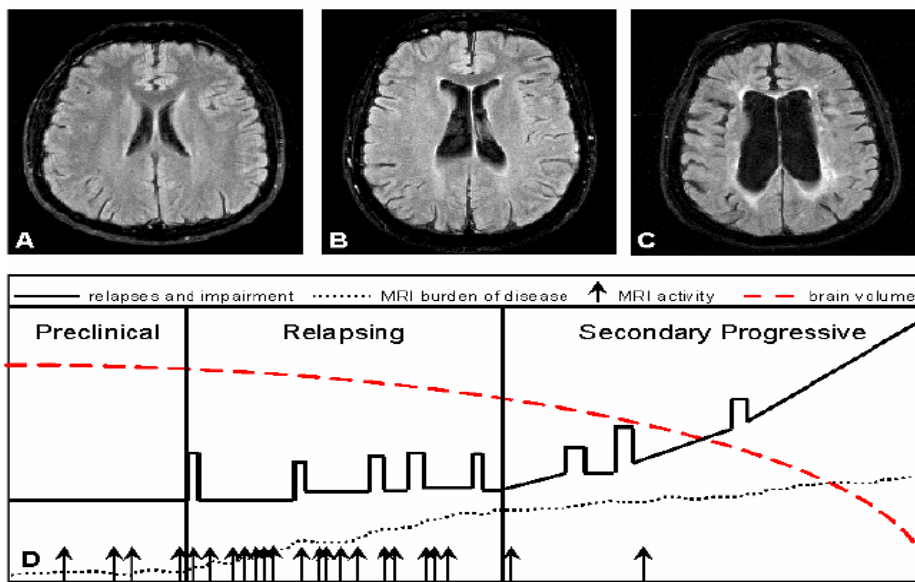
Στις εικόνες 30 και 31 φαίνεται σχηματικά η φυσική πορεία της νόσου, με τη φλεγμονή και την απομυελίνωση να κυριαρχούν στα αρχικά στάδια και την απώλεια των νευραξόνων, την ατροφία και το αυξημένο φορτίο βλαβών στην MRI να αποτελούν τα κυρίαρχα στοιχεία στη συνέχεια.

Εικόνα 30
 Η πορεία της ΣΚΠ



Compston A, Lancet 2002

Εικόνα 31
 Η πορεία της ΣΚΠ



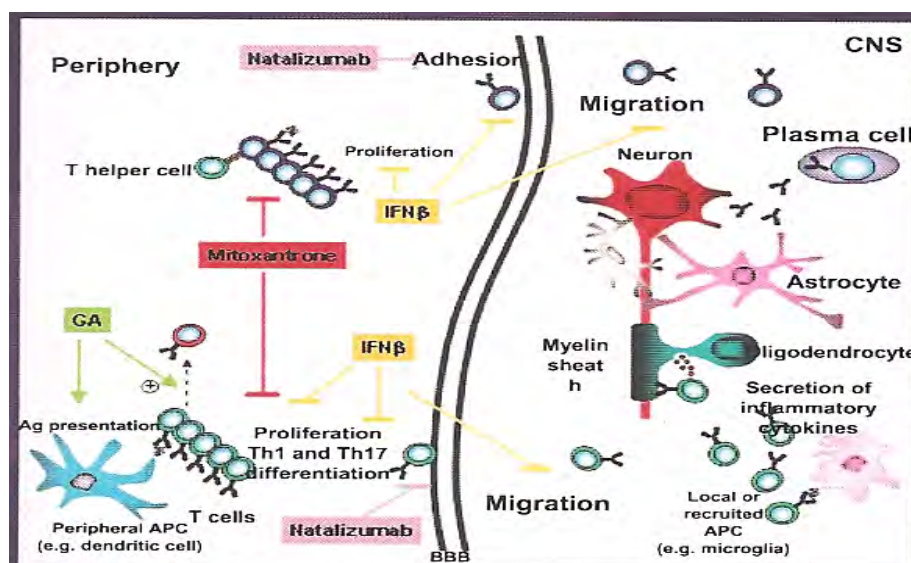
ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Μέχρι σήμερα δεν υφίσταται οριστική θεραπεία για τη ΣΚΠ, αφού δεν υπάρχει ουσία που αποδεδειγμένα να προάγει την διαδικασία επαναμυελίνωσης. Εντούτοις, υπάρχουν διάφορες ουσίες για την αντιμετώπισή της που δίνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Η θεραπεία της ΣΚΠ είναι πολύπλευρη και διακρίνεται: 1) στη θεραπεία της οξείας φάσης, για την αντιμετώπιση των ώσεων, 2) στην «προφυλακτική» θεραπεία (ως επί το πλείστον ανοσοτροποποιητική), που αποσκοπεί στην ελάττωση της συχνότητας των υποτροπών, της έντασης και της διάρκειάς τους, στη μείωση της εμφάνισης νέων εστιών στην MRI και στη σταθεροποίηση της κλινικής εικόνας – επιβράδυνση της επιδείνωσης της αναπηρίας του ασθενούς και 3) στη συμπτωματική θεραπεία που αφορά σε φαρμακολογικές και μη μεθόδους για την αντιμετώπιση των μόνιμων συμπτωμάτων των ασθενών, όπως είναι η κατάθλιψη, το άλγος, η κόπωση, η σπαστικότητα, η νευρογενής σφιγκτηριακή διαταραχή και η έκπτωση των ανώτερων νοητικών λειτουργιών (Metz L, 1998), είτε ως υπολειμματικές διαταραχές από προηγούμενες ώσεις, είτε ως απότοκο της προοδευτικότητας της νόσου. Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον επικεντρώνεται στις «προφυλακτικές» θεραπείες της νόσου, που, μέσω ανοσοτροποποιητικών και ανοσοκατασταλτικών φαρμακευτικών αγωγών, στοχεύουν είτε στην ενεργοποίηση των φυσιολογικών αυτορρυθμιστικών κυκλωμάτων του οργανισμού, είτε στην πρόκληση εξειδικευμένης ανοχής ή «ανεργίας» των T-λεμφοκυττάρων και σε εκείνες που στοχεύουν στην αποκατάσταση της απομυελινωτικής βλάβης (Zhang J & Hutton G, 2005).

Σχηματικά, οι ουσίες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της ΣΚΠ, ανάλογα με την περιοχή-στόχο αποδίδονται πολύ καλά στην εικόνα 32.

Εικόνα 32
Θεραπευτικοί στόχοι στη ΣΚΠ



Menge T, Drugs, 2008

1) ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΩΝ ΩΣΕΩΝ

Παρ' όλο που στην πλειοψηφία των ασθενών η οξεία φάση υφίεται αυτόματα, ειδικά όταν πρόκειται για ήπιες ώσεις που δεν προκαλούν λειτουργικές διαταραχές, δίνεται θεραπευτική αγωγή με στόχο το συντομότερο και το μέγιστο της αποκατάστασης. Όσον αφορά στις «βαρύτερες» ώσεις με σημαντικές λειτουργικές διαταραχές (π.χ. μυϊκή αδυναμία, έκπτωση οπτικής οξύτητας, διαταραχή στη στάση και τη βάρδιση), η χορήγηση στεροειδών αποτελεί μονόδρομο.

Η μεθυλπρεδνιζολόνη και η πρεδνιζολόνη αποτελούν την θεραπεία εκλογής των ώσεων στη ΣΚΠ (Troiano R, 1987, Myers LW, 1990, Montalban X, 1997, Neuhaus O, 2003), λόγω της αντιφλεγμονώδους και ανοσοκατασταλτικής τους δράσης. Εξαιτίας των παρενεργειών σε μακροχρόνια χορήγηση και της ανώτερης αποτελεσματικότητας σε σχέση με την από του στόματος χορήγηση, τα κορτικοειδή χορηγούνται σε ενδοφλέβιες ώσεις στη ΣΚΠ. Τα θεραπευτικά σχήματα ποικίλουν. Συνήθως είναι 1 gr μεθυλπρεδνιζολόνης i.v. μία φορά την ημέρα για 3-5 ημέρες που ακολουθείται ή όχι από χορήγηση κορτιζόνης από του στόματος σε προοδευτικά μειούμενη δόση για σύντομο χρονικό διάστημα (Keegan BM & Noseworthy JH, 2002). Είναι σημαντικό να τονισθεί ότι η βελτίωση της κλινικής εικόνας του πάσχοντος μπορεί να συνεχισθεί ακόμη και για 4 εβδομάδες μετά το τέλος του θεραπευτικού σχήματος (Compston A, 1998). Λόγω των δυνητικά σημαντικών παρενεργειών της ενδοφλέβιας χορήγησης υψηλών δόσεων μεθυλπρεδνιζολόνης (αιφνίδιος θάνατος, αρρυθμία, σοβαρή αλλεργική αντίδραση), καλό είναι η 1η ενδοφλέβια έγχυση να γίνεται σε νοσοκομείο υπό ιατρική κάλυψη.

Οι ανοσολογικές επιδράσεις (Bansil S, 1995) των γλυκοκορτικοειδών περιλαμβάνουν: 1) αναστολή της ενεργοποίησης των Τ-κυττάρων και της παραγωγής των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως είναι η IL-2 και η IFN- γ , 2) αυξημένη παραγωγή αντιφλεγμονωδών Th2 κυτταροκινών από Τ κύτταρα, 3) αναστολή της (από την IFN- γ επαγομένης) έκφρασης του MHC τάξης II στα μακροφάγα, 4) ελαττωμένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, προσταγλανδινών και λευκοτριενών από τα μακροφάγα, 5) ελαττωμένη προσκόλληση ουδετερόφιλων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και 6) αναστολή της ενεργοποίησης των ενδοθηλιακών κυττάρων και της έκφρασης των MHC τάξης II και των μορίων προσκόλλησης. Επιπλέον, φαίνεται ότι μειώνουν την σύνθεση IgG στο ΚΝΣ (Warren KG, 1986, Weiner HL, 1995) και την ποσότητα των αντισωμάτων κατά της βασικής πρωτεΐνης στο ΕΝΥ (Wajgt A, 1983, Warren KG, 1986). Όλες οι παραπάνω δράσεις έχουν σαν αποτέλεσμα την αποκατάσταση του BBB, την παρεμπόδιση εισόδου κυττάρων του ανοσοποιητικού και αντιγόνων μέσα στο ΚΝΣ και επομένως τον περιορισμό της φλεγμονής.

Εναλλακτικά, μπορεί να χορηγηθεί συνθετική ACTH, δίνοντας μάλλον βραδύτερη βελτίωση σε σχέση με τα κορτικοειδή, προάγοντας την σύνθεση των τελευταίων ως τρόπο δράσης.

2) ΠΡΟΦΥΛΑΚΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

I. Ιντερφερόνες-β (IFN-β)

Αν και δεν υπάρχει διαθέσιμη οριστική θεραπεία για τη ΣΚΠ σήμερα, τα αποτελέσματα ελεγχόμενων κλινικών μελετών που αφορούν στη χορήγηση IFN-β καταδεικνύουν τη δυνατότητα ευνοϊκής μεταβολής της φυσικής ιστορίας της νόσου. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, ο αυτοάνοσος μηχανισμός πρόκλησης της νόσου είναι εξαιρετικά πιθανός, όπως προκύπτει από την εμφάνιση ανοσοσφαιρινών στο ΕΝΥ, τη διαταραχή της λειτουργικότητας των κυττάρων «φονέων» και την ελαττωμένη δραστηριότητα των Τ-κατασταλτικών κυττάρων. Έτσι τα φάρμακα που έχουν προταθεί για την αντιμετώπιση της ΣΚΠ στοχεύουν στην μείωση της δραστηριότητας των Τ-λεμφοκυττάρων μέσω της πρόκλησης ανοχής ή στην ενεργοποίηση της φυσιολογικής αυτορύθμισης του οργανισμού.

Η φυσική IFN-β είναι γλυκοπρωτεΐνη 166 αμινοξέων που παράγεται από τους ινοβλάστες, τα μακροφάγα και τα επιθηλιακά κύτταρα. Τα φαρμακευτικά σκευάσματα αφορούν σε δύο ανασυνδυασμένες μορφές IFN-β, την IFN-β 1a (Avonex, Rebif) και την IFN-β 1b (Betaferon, Extavia), που έχουν εγκριθεί για την θεραπεία της ΣΚΠ. Η IFN-β 1a έχει εγκριθεί για τη RR μορφή της νόσου, καθώς και για τη SP μορφή με συνοδές εξάρσεις ενώ η IFN-β 1b έχει εγκριθεί τόσο για τη RR όσο και για τη SP μορφή (Paty DW, 1993, The IFNB Multiple Sclerosis Study Group, 1993, The IFNB Multiple sclerosis Group, 1995, Jacobs LD, 1995, Jacobs LD, 1996, Alam J, 1997, European Study Group on interferon β-1b in secondary progressive MS, 1998, PRISMS Study Group, 1998, Simon JH, 1998, Gasperini C, 1998, Munafo A, 1998, Miller DH, 1999, Liu C, 1999, Zhao GJ, 2000). Το Avonex χορηγείται i.m. ανά εβδομάδα, το Rebif υποδόρια 3 φορές/εβδομάδα και το Betaferon με το Extavia υποδόρια μέρα παρ' ημέρα.

Πρόκειται για κυτταροκίνες που παράγονται και εκκρίνονται από ινοβλάστες, έχουν ανοσοτροποποιητική, αντιϊκή και αντι-πολλαπλασιαστική δράση και προάγουν την κυτταρική διαφοροποίηση (Yong VW 2002, Neuhaus O, 2003). Ο κύριος μηχανισμός δράσης τους είναι άγνωστος, ωστόσο οι ανοσολογικές επιδράσεις που αποδίδονται στην IFN-β είναι ποικίλες και συνεχώς διευρύνονται (Panitch HS, 1992, Porrini AM, 1995, Brod SA, 1996, Guthikonda P, 1998, Cirelli R, 1996, Leppert D, 1996, Stüve O, 1996, Arnason BGW, 1996, Boutros T, 1997, Munafo A, 1998, Liu Z, 2001, Neuhaus O, 2003, Alba A, 2004). Έχει βρεθεί ότι καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των Τ-κυττάρων, μετατρέπουν το ρεπερτόριο έκκρισης κυτταροκινών από τα Τ-κύτταρα, από την Th1 (προφλεγμονώδη) στην Th2 (αντιφλεγμονώδη) απάντηση και αναστέλλουν την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων. Επιπρόσθετα, ελαττώνουν την έκφραση των MMPs, ελαττώνουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης επιφανείας και αυξάνουν την απελευθέρωση των διαλυτών μορίων προσκόλλησης, που όλα μαζί έχουν σαν αποτέλεσμα την ελάττωση της μεταναστευτικής ικανότητας των Τ-λεμφοκυττάρων.

Τα αποτελέσματα από τη χρήση των IFN-β, αν και με μικροδιαφορές στις διάφορες μελέτες, συγκεντρωτικά είναι: Μείωση των υποτροπών κατά 35%, επιβράδυνση της αναπηρίας κατά 37%, μείωση της ατροφίας του εγκεφάλου κατά

55%, μείωση του αριθμού των ενεργών βλαβών στην MRI κατά 75% και βελτίωση των νοητικών λειτουργιών.

Οι IFN-β δεν πρέπει να χορηγούνται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ή την περίοδο του θηλασμού, σε ασθενείς με αυτοκτονικό ιδεασμό και σε όσους πάσχουν από άλλη σοβαρή πάθηση, ενώ η χορήγησή τους θα πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή σε άτομα που πάσχουν από καρδιακή ανεπάρκεια, νεφρική ανεπάρκεια, ηπατική ανεπάρκεια, ή μυελική καταστολή.

Η συνηθέστερη ανεπιθύμητη ενέργειά τους είναι μια συμπτωματολογία τύπου γριππώδους συνδρομής (πυρετός – συνήθως δεκατική πυρετική κίνηση – ρίγη, μυαλγίες, αρθραλγίες), που συνήθως εκδηλώνεται, ιδίως τους πρώτους μήνες έναρξης της θεραπείας, σε ένα ποσοστό των ασθενών, λίγες ώρες μετά την ένεση και διαρκεί περίπου 24 ώρες. Σπανιότερα μπορεί να εμφανισθεί αίσθημα κόπωσης, δερματική αντίδραση στο σημείο της ένεσης (Knobler RL, 1994), ψυχικές διαταραχές (ευερεθιστότητα, κατάθλιψη, αυτοκτονικός ιδεασμός, παρανοϊκές ιδέες), υπέρταση, επίταση της σπαστικότητας, διαταραχές εμμήνου ρύσεως, αύξηση της τιμής των τρανσαμινασών, λευκοπενία, αναιμία, αλωπεκία, δύσπνοια, αίσθημα παλμών, κεφαλαλγία και εφίδρωση.

Σε ένα ποσοστό ασθενών που λαμβάνουν IFN-β (ιδίως IFN-β 1b) αναπτύσσονται εξουδετερωτικά αντισώματα, η σημασία των οποίων δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί (Rudick RA, 1998). Έχει αποδειχθεί στους ασθενείς αυτούς, στατιστικώς σημαντική αύξηση του ετήσιου δείκτη υποτροπών, γεγονός που ενδεχομένως υποδηλώνει ελάττωση της κλινικής δραστηριότητας του φαρμάκου. Εντούτοις, στις περιπτώσεις αυτές, η απόφαση για διακοπή ή αλλαγή της θεραπείας πρέπει να λαμβάνεται αποκλειστικά με κλινικά κριτήρια (Cross AH, 1998).

II. Glatiramer acetate (Copaxone)

Το Copaxone είναι το οξικό άλας ενός μίγματος πολυπεπτιδίων τα οποία συντίθενται από τέσσερα αμινοξέα (L-γλουταμινικό οξύ, L-αλανίνη, L-λυσίνη και L-τυροσίνη) με μοριακή αναλογία 1.4, 4.2, 3.4 και 1.0 αντίστοιχα και τα οποία απαντώνται άφθονα στη MBP. Τα πολυμερισμένα πεπτίδια έχουν μοριακό βάρος από 4700 ως 13000 Da και είναι μοναδικά – δεν υπάρχουν πανομοιότυπα (Arnason BG, 1999). Αντίθετα με τις πολλαπλές ανοσολογικές επιδράσεις της IFN-β που είναι δεν είναι αντιγονικά ειδικές, οι ανοσοτροποποιητική δράση του Copaxone βασίζεται σε ανοσοκύτταρα που είναι ειδικά για την MBP (και πιθανώς και για άλλα μυελινικά αντιγόνα (Neuhaus O, 2001). Έχουν περιγραφεί τέσσερις κύριοι μηχανισμοί δράσης του Glatiramer acetate (GA):

- 1) συναγωνισμός του GA και του MBP για σύνδεση με τα μόρια του MHC,
- 2) συναγωνισμός ανάμεσα στο σύμπλεγμα GA-MHC και στο σύμπλεγμα MBP-MHC για σύνδεση με τον TCR,
- 3) ενεργοποίηση και επαγωγή ανοχής για τα έναντι MBP-ειδικά T-λεμφοκύτταρα μέσω ενός τροποποιημένου πεπτιδικού προσδέτη και
- 4) επαγωγή ειδικών έναντι GA Th2 ρυθμιστικών κυττάρων που προκαλούν τοπική ανοσολογική καταστολή.

Οι δύο πρώτοι μηχανισμοί φαίνεται ότι εμφανίζονται *in vitro* ενώ οι δύο τελευταίοι πιθανώς εμφανίζονται *in vivo* και συνεισφέρουν στις αντιφλεγμονώδεις

δράσεις του GA (Neuhaus O, 2001). Το Coraxone έχει εγκριθεί για την θεραπεία της RR μορφής της νόσου και χορηγείται υποδόρια καθημερινώς.

Τα αποτελέσματα των έως τώρα μελετών (Bornstein MB, 1991, Johnson KP, 1995, Johnson KP, 1998, Mancardi GL, 1998, Ge Y, 2000) έχουν δείξει μείωση του αριθμού των υποτροπών κατά 29%-32%, βελτίωση κατά 1 βαθμό στην κλίμακα αναπηρίας EDSS και μείωση της δραστηριότητας της νόσου στην MRI.

Όσον αφορά στις ανεπιθύμητες ενέργειες, αυτές είναι ήπιες και περιλαμβάνουν κυρίως αντιδράσεις στο σημείο της ένεσης, αρθραλγίες και δυσκοιλιότητα, ενώ περιγράφεται σε ποσοστό 15% περίπου των ασθενών μια συστηματική αντίδραση που χαρακτηρίζεται από ζάλη, προκάρδιο άλγος, αίσθημα παλμών και δύσπνοια για περίπου 30 min.

Όπως και στις IFN-B, αντισώματα στο Coraxone αναπτύσσονται, αλλά δεν φαίνεται να έχουν επιπτώσεις στην κλινική αποτελεσματικότητα του φαρμάκου (Johnson KP, 1995).

III. Ενδοφλέβια χορήγηση ανοσοσφαιρινών (IVIgs)

Πρόκειται για κεκεθαρμένες ανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες (Igs) που λαμβάνονται από το αίμα μεγάλου αριθμού υγιών αιμοδοτών και έχουν πρακτικά απεριόριστες ιδιότητες. Έχουν προταθεί (Rodriguez M, 1990, Achiron A, 1992, Poser CM, 1997, Stangel M, 1999, Stangel M, 2000) πολλοί μηχανισμοί δράσης:

- 1) αντι-ιδιοτυπικά αντισώματα (σύνδεση και απενεργοποίηση των παθολογικών αντισωμάτων από τις IVIgs),
- 2) μπλοκάρισμα των Fc υποδοχέων από μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα,
- 3) καταστολή της ενδογενούς παραγωγής Igs,
- 4) εξασθένηση του μηχανισμού του συμπληρώματος (κυρίως λόγω κατανάλωσης των στοιχείων του συμπληρώματος),
- 5) απενεργοποίηση των μορίων (TCR, MHC, συνδιεγερτικών μορίων και κυτταροκινών) τα οποία εμπλέκονται στη φλεγμονή,
- 6) επαγωγή αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών και
- 7) επαγωγή απόπτωσης (Wiles CM, 2002, Neuhaus O, 2003).

Υπάρχουν πολυάριθμες αναφορές (Achiron A, 1992, Achiron A, 1996, Fazekas F, 1997, Francis G, 1997, Achiron A, 1998, Sorensen PS, 1998) ότι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες IVIgs φαίνεται ότι έχουν ευεργετική επίδραση στη νόσο (μείωση του αριθμού υποτροπών κατά 50%, μείωση της κινητικής αναπηρίας και μείωση του αριθμού των ενεργών βλαβών κατά 60%). Λόγω όμως της έλλειψης μεγάλων πολυκεντρικών μελετών η χορήγησή της πρέπει να θεωρείται ακόμα πειραματική (Arnason BG, 1999).

Όσον αφορά στο δοσολογικό σχήμα και τη συχνότητα χορήγησης, προτείνεται μία δόση 0,4 gr/Kgr βάρους/24ωρο για 3-5 ημέρες, που αν κριθεί αναγκαίο επαναλαμβάνεται μετά από 4 εβδομάδες.

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των IVIgs συνήθως δεν είναι σοβαρές, αν και συχνές και αφορούν σε αγγειοκινητικού τύπου διαταραχές (ρίγος, μυαλγίες, ναυτία, flash προσώπου, ταχύπνοια), κεφαλαλγία και πυρετό, που εκδηλώνονται κατά τη διάρκεια της έγχυσης. Σπανιότερα μπορεί να εμφανισθεί άσηπτη μηνιγγίτιδα, αλλεργικό shock, νεφρική ανεπάρκεια, εξάνθημα ή θρομβοεμβολικό επεισόδιο.

IV. Ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες

A) Θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι μορίων προσκόλλησης

Το **natalizumab (Tysabri)** είναι ένα εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της α4 αλυσού της α4β1 ιντεγκρίνης (Steinman L, 2005) και αποτελεί την πιο πρόσφατη θεραπευτική επιλογή στη ΣΚΠ. Οι ιντεγκρίνες αποτελούν μία οικογένεια μορίων προσκόλλησης που παίζουν βασικότατο ρόλο στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων. Η γλυκοπρωτεΐνη α4β1 ιντεγκρίνη, που είναι και γνωστή ως VLA-4 (very late antigen-4), εκφράζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων και είναι απαραίτητη κατά τη διαδικασία της προσκόλλησης και της μετανάστευσης αυτών διαμέσου των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων (Frenette PS & Wagner DD, 1996a, Frenette PS & Wagner DD, 1996b). Οι θεραπευτικές δράσεις του natalizumab φαίνεται ότι προκύπτουν από το μπλοκάρισμα της σύνδεσης της α4β1 με τον ενδοθηλιακό της υποδοχέα, τον VCAM-1. Η σύνδεση αυτή θεωρείται απαραίτητη για την είσοδο των λεμφοκυττάρων στο ΚΝΣ. Επιπλέον, το natalizumab μπορεί να καταστείλει την αλληλουχία των φλεγμονωδών διεργασιών, παρεμβαίνοντας στις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις στον ιστό του ΚΝΣ (Von Andrian UH & Englehardt B, 2003, Rudick RA & Sandrock A, 2004).

Το natalizumab χορηγείται i.v. ανά 4 εβδομάδες, σε δόση 300 mg, ως μονοθεραπεία τροποποιητική της νόσου, για πρόληψη των υποτροπών και καθυστέρηση στην εξέλιξη της αναπηρίας, σε υψηλής ενεργότητας RR μορφή της ΣΚΠ για τις ακόλουθες ομάδες ασθενών:

1. Ασθενείς με υψηλής δραστηριότητας νόσο παρά τη θεραπεία με μια IFN-β και
2. Ασθενείς με ταχέως εξελισσόμενη σοβαρή υποτροπιάζουσα διαλείπουσα ΣΚΠ.

Τα έως τώρα αποτελέσματα είναι πολύ ενθαρρυντικά, καθώς αναφέρεται μεγάλη μείωση στη συχνότητα των υποτροπών και στην εμφάνιση ενεργών βλαβών στην MRI.

Εντούτοις, σε κλινικές δοκιμές πριν από την κυκλοφορία του φαρμάκου, είχαν αναφερθεί τρεις περιπτώσεις Προϊούσας Πολυεστιακής Λευκοεγκεφαλοπάθειας (PML) (Miller DH, 2003), μιας ιδιαίτερα σοβαρής παρενέργειας, που στους δύο από τους τρεις ασθενείς υπήρξε θανατηφόρος. Οι δύο ασθενείς έπασχαν από ΣΚΠ (ένας εξ' αυτών απεβίωσε) και ελάμβαναν συγχρόνως και IFN-β (Langer-Gould A, 2005, Kleinschmidt-DeMasters BK & Tyler KL, 2005), ενώ ο τρίτος έπασχε από νόσο του Crohn και ήταν χρόνια ανοσοκατασταλμένος (van Assche G, 2005). Αυτό υπήρξε αφορμή προσωρινής αναστολής της κυκλοφορίας του φαρμάκου, αυστηρότερης επανεξέτασης των ενδείξεών του και στάθμισης του δείκτη οφέλους/πιθανών κινδύνων από τη χρήση του. Μετά από μια μεγάλο εύρους μελέτη (> 3000 ασθενείς) (Yousry TA, 2006) δεν αποδείχθηκε αυξημένος κίνδυνος από τη χρήση του φαρμάκου και ετέθη ξανά στην κυκλοφορία.

Παρ' όλα αυτά, η εκδήλωση PML αποτελεί την σοβαρότερη παρενέργεια του φαρμάκου, καθώς έκτοτε έχουν εκδηλωθεί και άλλα περιστατικά (σε ποσοστό περίπου 0,8⁰/₀₀), μερικά εκ των οποίων κατέληξαν. Δυστυχώς, δεν υπάρχει

εργαστηριακή εξέταση που να μπορεί να προβλέψει την έναρξη PML, υποδηλώνοντας ότι, επί του παρόντος, η κλινική επαγρύπνηση είναι το πιο κατάλληλο μέσο παρακολούθησης (πίνακας 12).

Πίνακας 12
Κλινικά χαρακτηριστικά ΣΚΠ και PML

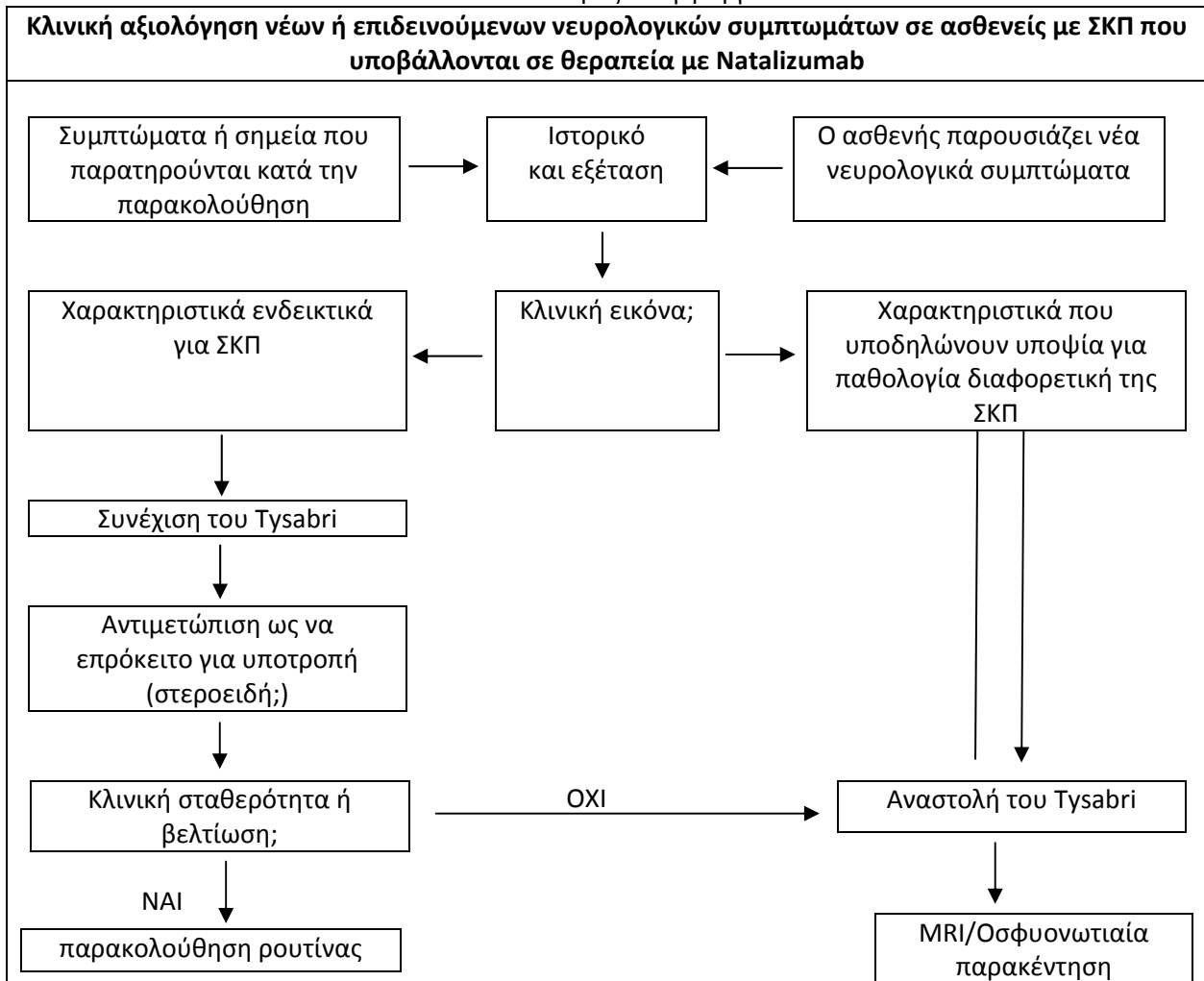
	Χαρακτηριστικά ενδεικτικά για:	
	ΣΚΠ	PML
Έναρξη	Οξεία	Υποξεία
Εξέλιξη	<ul style="list-style-type: none"> • Για ώρες έως ημέρες • Κανονικά σταθεροποιούνται • Αποκαθίστανται αυθόρμητα ακόμα και χωρίς θεραπεία 	<ul style="list-style-type: none"> • Για εβδομάδες • Προαιρετική
Κλινική εικόνα	<ul style="list-style-type: none"> • Διπλωπία • Παραισθησία • Παραπάρεση • Οπτική νευρίτιδα • Μυελοπάθεια 	<ul style="list-style-type: none"> • Συμπτώματα/σημεία από το φλοιό • Συμπεριφορικές και νευροψυχολογικές αλλαγές • Οπτικά ελλείμματα όπισθεν του χιάσματος • Ημιπάρεση

Μαγνητικές εγκεφάλου προ της θεραπείας υπήρξαν χρήσιμες για τη διαφοροποίηση της ΣΚΠ από την PML στα πλαίσια της νευρολογικής επιδείνωσης. Ιατροί και ασθενείς θα πρέπει να παραμείνουν σε επαγρύπνηση για σημεία και συμπτώματα PML και να μην διασάζουν ως προς την αναστολή της θεραπείας και την έναρξη κατάλληλης διαγνωστικής αξιολόγησης (MRI, ανάλυση ENY) σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με natalizumab, οι οποίοι παρουσιάζουν νέα νευρολογική έκπτωση (πίνακας 13).

Όσον αφορά στο ζήτημα της συγχορήγησης του natalizumab με άλλες ανοσοκατασταλτικές και αντινεοπλασματικές θεραπείες, δεν έχει αποδειχτεί πλήρως η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα αυτών των συνδυασμών. Αντιθέτως, ενδέχεται να αυξηθεί ο κίνδυνος λοιμώξεων, μεταξύ των οποίων και οι ευκαιριακές.

Επίσης, ασθενείς με ιστορικό θεραπείας με ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένης της κυκλοφωσφαμίδης και της μιτοξανδρόνης, ενδέχεται να εμφανίσουν παρατεταμένη ανοσοκαταστολή και να αντιμετωπίζουν επομένως αυξημένο κίνδυνο για PML. Θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για ασθενείς που έλαβαν προηγουμένως ανοσοκατασταλτικά ώστε να περάσει επαρκής χρόνος για την ανάκαμψη της λειτουργίας του ανοσοποιητικού. Οι ιατροί πρέπει να αξιολογούν κάθε μεμονωμένη περίπτωση ώστε να προσδιορίζουν κατά πόσο υπάρχουν στοιχεία ανοσοκαταστολής πριν από την έναρξη θεραπείας με natalizumab.

Πίνακας 13
Κλινική αξιολόγηση για PML



B) Μιτοξανδρόνη

Πρόκειται για έναν χημειοθεραπευτικό παράγοντα που η σύνθεσή του βασίζεται στο δακτύλιο των ανθρακυκλινών. Χρησιμοποιήθηκε αρχικά στην θεραπεία της οξείας μυελογενούς λευχαιμίας. Είναι αποτελεσματική στη θεραπεία σοβαρών ενεργών μορφών της νόσου, τόσο στη RR μορφή, όσο και στη SP μορφή. Δεν είναι όμως ξεκάθαρο ποιοι ασθενείς θα ωφεληθούν περισσότερο από το φάρμακο και χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για να διευκρινισθεί (Keegan BM and Noseworthy JH, 2002). Παρόλο που η μιτοξανδρόνη καταστέλλει τόσο τα T όσο και τα B λεμφοκύτταρα, πειράματα in vitro δεικνύουν ότι το φάρμακο έχει επιπρόσθετες δράσεις στη ΣΚΠ (Fidler JM, 1986, I & II). Επάγει την απόπτωση στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και απενεργοποιεί τα μακροφάγα (τα οποία παίζουν κύριο ρόλο στην απομυελίνωση) (Neuhaus O, 2005).

Αποτελέσματα μελετών (Noseworthy JH, 1993, Krapf H, 1995, Edan G, 1997, Millefiorini E, 1997, Hartung HP, 2002, Cursiefen S, 1999) δείχνουν μείωση του αριθμού των υποτροπών έως 60%, μείωση του ρυθμού προοδευτικής επιδείνωσης,

μείωση του αριθμού των νέων εστιών στην MRI κατά 50-80% και μείωση του αριθμού των ενεργών εστιών έως 86%.

Εντούτοις, η χρήση του συγκεκριμένου φαρμάκου πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή λόγω των δυνητικά σοβαρών παρενεργειών του, σημαντικότερες των οποίων είναι η καρδιοτοξικότητά του [προκαλεί καρδιομυοπάθεια (Unverferth DV, 1984, Posner LE, 1985, Janmohammed R, 1989), ιδίως αν η συνολική του δόση ξεπεράσει (Janmohammed R, 1989, Koehler J, 1998) τα 150 mg/m²] και η ακοκκιοκυτταραιμία.

Γ) Αζαθειοπρίνη

Πρόκειται για ένα ανάλογο των πουρινών και χρησιμοποιείται ευρέως στην μεταμόσχευση οργάνων και στην αντιμετώπιση αυτοάνοσων νοσημάτων. Κυρίως στοχεύει την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση τόσο των T όσο και των B λεμφοκυττάρων μέσω ανταγωνισμού ανάμεσα στους μεταβολίτες του και στα νουκλεοτίδια του DNA (Neuhaus O, 2003). Παρά την μείωση του αριθμού των ενεργών εστιών στην MRI, ειδικά σε ασθενείς «ανθεκτικούς» σε θεραπεία με INF-β, θεωρείται φάρμακο δεύτερης γραμμής στη ΣΚΠ.

Οι κυριότερες παρενέργειές του είναι οι αιματολογικές διαταραχές (λευκοπενία, ουδετεροπενία και αναιμία) (Kissel JT, 1986, British and Dutch Multiple Sclerosis Azathioprine Trial Group, 1988), γαστρεντερικά ενοχλήματα, καρκινογένεση (non-Hodgkin λέμφωμα και καρκίνος δέρματος) (Lhermitte F, 1984, Kinlen LJ, 1985, Penn I, 1986), ηπατική δυσλειτουργία (Hughes RAC, 1992) και αυξημένη πιθανότητα λοιμώξεων (Hohlfeld R, 1988).

Δ) Κυκλοφωσφαμίδη

Χρησιμοποιείται στις ταχέως εξελισσόμενες μορφές της ΣΚΠ ή σε ασθενείς με RR μορφή χωρίς όμως ανταπόκριση στη χρήση των INF-β, παρόλο που η αποτελεσματικότητά της είναι αντικρουόμενη στις κλινικές μελέτες (έχει ωστόσο αποδειχθεί μείωση κλινικά της ενεργότητας της νόσου και μείωση του αριθμού των ενεργών εστιών). Εκτός της ισχυρής ανοσοκαταστολής που προκαλεί, έχει και ανοσοτροποποιητικές επιδράσεις, εκτρέποντας την ανοσία από τα Th1 κύτταρα στα Th2 με άγνωστο μηχανισμό (Weiner HL and Cohen JA, 2002). Μειονέκτημα της συγκεκριμένης ουσίας αποτελεί η τοξικότητά της (λευκοπενία μέχρι και μυελική καταστολή, αλωπεκία, αμηνόρροια/ολιγοσπερμία, ευκαιριακές λοιμώξεις, καρκινογένεση, αιμορραγική κυστίτιδα) (Millac P, 1969, Baltus JA, 1983, Gonsette RE, 1986, Mackin GA, 1992).

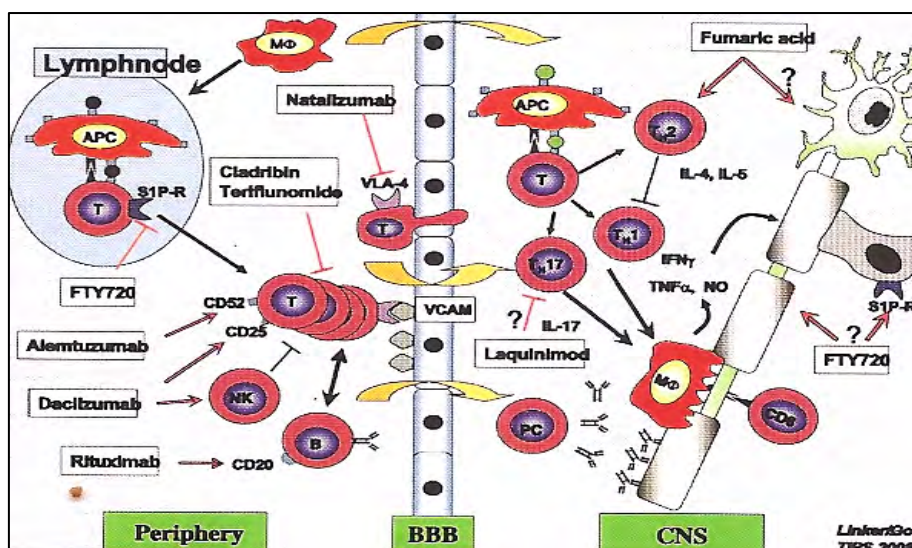
Ε) Μεθοτρεξάτη

Πρόκειται για ανάλογο του φυλλικού οξέος, με ανοσοκατασταλτική, ανοροτροποποιητική και αντιφλεγμονώδη δράση. Στις λίγες διαθέσιμες μελέτες παρουσιάστηκαν κάποια θεραπευτικά οφέλη, ιδίως στις προϊούσες μορφές της νόσου αλλά ο μηχανισμός δράσης της στα αυτοάνοσα νοσήματα είναι άγνωστος (Currier RD, 1993, Goodkin DE, 1995, Olek MJ, 1996, Goodin DS, 2000) και δεν μπορεί να θεωρηθεί δόκιμη θεραπευτική επιλογή για τη ΣΚΠ.

V. Δυνητικοί νέοι παράγοντες

Η θεραπεία της ΣΚΠ αποτελεί πολύ μεγάλη πρόκληση για τους σύγχρονες ερευνητές, καθώς είναι, όπως αναφέρθηκε, μια από τις πιο συχνές νευρολογικές παθήσεις. Αυτή τη στιγμή είναι σε διάφορα στάδια κλινικών δοκιμών πολλές ουσίες, δρώντας σε διάφορες φάσεις της παθολογίας της ΣΚΠ (εικόνα 33), κάποιες από τις οποίες πρόκειται άμεσα να τεθούν στην κυκλοφορία.

Εικόνα 33
Θεραπευτικοί στόχοι των νέων φαρμάκων



Linker RA, Trends Pharmacol Sci, 2008

Οι σημαντικότερες απ' αυτές είναι οι ακόλουθες:

A) Αντιμεταβολίτες

Cladribine

Πρόκειται για ένα συνθετικό πουρινικό νουκλεοτιδικό ανάλογο που οδηγεί σε μακροπρόθεσμη μείωση κυρίως των T κυττάρων, αλλά ως ένα σημείο και των B κυττάρων, με μικρότερη δράση. Οδηγεί δηλαδή σε ένα είδος δηλητηρίασης αυτών των κυττάρων και σε απόπτωση του μεγαλύτερου αριθμού. Επηρεάζει κυρίως τα CD4+ και λιγότερο τα CD8+ T κύτταρα. Βρίσκεται σε φάση έγκρισης από τον FDA και τον EMEA και θα χορηγείται από του στόματος. Σύμφωνα με τα έως τώρα αποτελέσματα της μελέτης CLARITY, η οποία βρίσκεται σε εξέλιξη και αφορά σε ασθενείς με RR μορφή της νόσου, στα αρχικά στάδια της, προκαλεί μείωση των αριθμού των υποτροπών πάνω από 50% και μείωση κατά 1/3 της εξέλιξης της αναπηρίας μέσα σε δύο χρόνια. Όσον αφορά στις ανεπιθύμητες ενέργειες, παρατηρήθηκε, όπως ήταν λογικό με τη μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων, μικρή αύξηση του αριθμού των ιώσεων, ιδίως του έρπητα ζωστήρα, αλλά και τέσσερα περιστατικά με καρκίνο, όχι όμως του τύπου που θα περίμενε κανείς σε κάποιον που λαμβάνει μια ανοσοκατασταλτική και κυτταροστατική θεραπεία.

Teriflunomide

Πρόκειται για έναν πυριμιδινικό συνθετικό αναστολέα με αντι-πολλαπλασιαστική δραστηριότητα. Είναι ενεργός μεταβολίτης της Λεφλουνομίδης, που σε κάποιες χώρες χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Υπάρχουν αρκετά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η Τεριφλουνομίδη είναι ένας ανοσορυθμιστικός παράγοντας με ικανότητα να καταστέλλει τις εκδηλώσεις αυτοάνοσων ασθενειών. Έχει αποδειχθεί ότι καθυστερεί την εκδήλωση ΕΑΕ, ελαττώνει την κλινική συμπτωματολογία και θνητότητα και μειώνει τον αριθμό των υποτροπών σε χρόνιες υποτροπιάζουσες μορφές, αλλά και τον αριθμό των εστιών στην MRI (O'Connor PW, 2006). Σε δύο μελέτες φάσης III που είναι σε εξέλιξη και στις οποίες συγχορηγείται με IFN-β, τα αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά.

Β) Αντι Β-λεμφοκυτταρικές θεραπείες

Rituximab (Mabthera, Rituxan)

Πρόκειται για εξανθρωποιημένο αντίσωμα έναντι των CD20, που επάγει την εξάντληση των Β κυττάρων, χωρίς να επιδρά στα πλασματοκύτταρα. Πρέπει να επισημανθεί ότι δεν καταστρέφει όλα τα Β κύτταρα, αλλά ένα ορισμένο στάδιο στη διαμόρφωσή τους – από τα πρώιμα ως τα ώριμα. Σε μια μελέτη με 104 ασθενείς (Hauser SL, 2008) διαπιστώθηκε δραματική μείωση του αριθμού των ώσεων και του αριθμού των εστιών στην MRI. Σε άλλη μελέτη όμως (Hawker K, 2009) σε ασθενείς με PP μορφή της ΣΚΠ, δε διαπιστώθηκε μετά από 2 χρόνια θεραπείας στατιστικώς σημαντική διαφορά στην εξέλιξη της ανικανότητας, παρά τη μείωση των Β κυττάρων και τη μείωση του αριθμού των εστιών στην MRI.

Ataricept

Πρόκειται για μια πρωτεΐνη συγχώνευσης ανάμεσα στην εξωκυτταρική περιοχή του φυσικού TACI υποδοχέα και του Fc τμήματος της ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης. Έχει παρόμοια στόχευση με το Rituximab, αλλά επιπλέον δρα και στη φάση που τα Β κύτταρα έχουν φθάσει ως πλασματοκύτταρα (δηλαδή έτοιμα για παραγωγή αντισωμάτων), μειώνοντας επίσης απ' ευθείας την παραγωγή αντισωμάτων απ' τα πλασματοκύτταρα. Εντούτοις, σε μελέτες φάσης II δεν απέδειξε την αποτελεσματικότητά του.

Γ) Φάρμακα που παρεμποδίζουν την κυκλοφορία και μετανάστευση Τ-λεμφοκυττάρων

FTY720 ή Fingolimod

Έχει διπλή δράση. Η βασική είναι στους λεμφαδένες, εμποδίζοντας ένα μέρος των λευκοκυττάρων – εκείνα που κυκλοφορούν μέσα στους λεμφαδένες – να βγουν στην κυκλοφορία. Μειώνει λοιπόν τον αριθμό των Τ λεμφοκυττάρων, τα οποία μπορούν να εισδύσουν στο ΚΝΣ και να οδηγήσουν εκεί τις φλεγμονώδεις εστίες. Η άλλη ασκείται σε υποδοχείς εντός του ΚΝΣ, με άγνωστες, αλλά ελπίζεται θετικές συνέπειες. Επιπλέον, δρα σε υποδοχείς στο ενδοθήλιο, στην καρδιά και σε διάφορα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού, οδηγώντας σε μια μείωση των λεμφοκυττάρων μέσα στην κυκλοφορία. Το σημαντικό είναι ότι ένα μέρος των

κυττάρων, κυρίως εκείνα που απεικονίζουν την ανοσιακή μνήμη του οργανισμού, δεν επηρεάζονται και εξακολουθούν να κυκλοφορούν, προστατεύοντας τον οργανισμό από γνωστές ιώσεις, δηλαδή ο οργανισμός δεν χάνει την ανοσία του. Κάπως πιο δύσκολη και επικίνδυνη είναι η κατάσταση όσον αφορά σε νέες ιώσεις. Αν νέοι μικροοργανισμοί επιτεθούν, τότε ίσως οι δυνατότητες άμυνας είναι κάπως περιορισμένες.

Σε μελέτες έως και μετά από 3 χρόνια χρήσης του φαρμάκου, φαίνεται μείωση κατά περίπου 50% του αριθμού των ώσεων και του αριθμού των νέων εστιών και ένα ποσοστό περίπου 90% των ασθενών δεν δείχνουν πλέον ενεργείς εστίες στην MRI (Comi G, 2010, Karpos L, 2010).

Όσον αφορά στις ανεπιθύμητες ενέργειες, παρατηρήθηκε σχετική αύξηση του αριθμού των λοιμώξεων, όχι στατιστικώς σημαντική, ιδίως του αναπνευστικού συστήματος και μικρή αύξηση της αρτηριακής πίεσης.

Δ) Φάρμακα που μειώνουν τα λευκοκύτταρα

Alemtuzumab (CAMPATH)

Πρόκειται για ένα εξανθρωποποιημένο αντιλευκοκυτταρικό (CD52) μονοκλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιείται από το 1991 στην θεραπεία της ΣΚΠ στο Cambridge UK (Zhang J & Hutton G, 2005). Αντιδρά με τον φορέα CD52, ο οποίος βρίσκεται σε T κύτταρα, B κύτταρα, μονοκύτταρα και natural killer cells, οδηγώντας σε μια γενική δραστηριότητα μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων. Τα B κύτταρα επανέρχονται γρηγορότερα και πιθανότατα αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο εμφανίζονται ορισμένες παρενέργειες. Έχει χρησιμοποιηθεί τόσο σε ασθενείς με SP μορφή όσο και με RR μορφή της νόσου, σε περιορισμένο αριθμό, με καλά αποτελέσματα στην ελάττωση του ρυθμού των υποτροπών και στην αναπηρία και τα πιο εντυπωσιακά αποτελέσματα έχουν φανεί στους ασθενείς με RR μορφή της ΣΚΠ (μείωση του κινδύνου υποτροπής ως 80% και επίσης μείωση της πιθανότητας επιδείνωσης της αναπηρίας στην κλίμακα EDSS κατά 2/3 ή περισσότερο) (Coles AJ, 2008, Jones JL, 2010). Ωστόσο, υπάρχουν προβλήματα σχετικά με την ασφάλεια του φαρμάκου, επειδή σε πρώιμες μελέτες ένα 30% των ασθενών ανέπτυξε νόσο του Graves (αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα), ενώ ένας ασθενής απεβίωσε, συνεπεία εγκεφαλικού επεισοδίου, επειδή ανέπτυξε και ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα. Προς το παρόν είναι σε εξέλιξη μια τυχαίοποιημένη, πολυκεντρική μελέτη φάσης II σε ασθενείς με πρόσφατη ενεργό RR μορφή της ΣΚΠ.

Daclizumab (Zenarax)

Πρόκειται για ένα εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντι-CD25 αντίσωμα (αντι-IL-2R άλφα αλυσίδα) που αναστέλλει την (μέσω IL-2 διαμεσολαβούμενη) ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων. Προς το παρόν έχει δοκιμασθεί σε μια πιλοτική μελέτη σε περιορισμένο αριθμό ασθενών με ΣΚΠ, μορφής RR και SP, που έχουν μερική ανταπόκριση στην θεραπεία με IFN-β, διατηρούν υψηλή φλεγμονώδη δραστηριότητα στο ΚΝΣ και η κλινική τους εικόνα συνεχώς επιδεινώνεται. Το συμπέρασμα της μελέτης αυτής είναι ότι το Daclizumab σαν θεραπεία προσθήκης, αποτελεί μια καλή εναλλακτική πρόταση στην επιθετική ανοσοκαταστολή που εφαρμόζεται σε ασθενείς με νόσο υψηλής ενεργότητας, καθώς δεν μπορούν να αντιμετωπισθούν με συμβατική ανοσοτροποποιητική θεραπεία (Bielekova B, 2004).

Οπωσδήποτε, για να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με το κλινικό όφελος του φαρμάκου σε τυπικό πληθυσμό με ΣΚΠ, καθώς και αν είναι αποτελεσματικό σαν μονοθεραπεία, πρέπει να μελετηθεί σε μεγάλες πολυκεντρικές placebo-controlled κλινικές μελέτες.

Ε) Θεραπείες από του στόματος με όχι ξεκάθαρο μηχανισμό

Φουμαρικό οξύ ή BG00012

Χρησιμοποιείται ευρέως στη Γερμανία για τη θεραπεία της ψωρίασης, με καλή ανεκτικότητα. Πλην της ανοσοτροποποιητικής του δράσης, υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να προστατεύσει και από την εκφυλιστική πλευρά της παθογένειας της νόσου, με δραστηριοποίηση διαφόρων προγραμμάτων αυτοπροστασίας του κυττάρου, η οποία γίνεται απευθείας μέσα στον πυρήνα του κυττάρου με το Nrf2. Η αντιφλεγμονώδης δράση του φαρμάκου έχει αποδειχθεί σε διπλή τυφλή μελέτη, στην οποία επίσης διαπιστώθηκε σχετική μείωση του αριθμού των εστιών που μετατρέπονται σε T1 ("black holes"), γεγονός που αποτελεί μια έμμεση, έστω, ένδειξη κυτταροπροστασίας (MacManus DG, 2011). Επιπλέον, έχει φανεί μείωση του αριθμού των ενεργών εστιών στην MRI κατά 69%, μείωση του αριθμού των νέων εστιών κατά 48% και μείωση του αριθμού των ώσεων κατά 32% (Karras L, 2008).

Laquinimod

Η δράση της είναι κυρίως ανοσοτροποποιητική, χωρίς να έχει αποσαφηνισθεί πλήρως, ενώ η προκαλούμενη ανοσοκαταστολή φαίνεται να είναι μικρή (περιορισμένος αριθμός λοιμώξεων). Τα έως τώρα αποτελέσματα δείχνουν μείωση του αριθμού των εστιών στην MRI και μείωση του αριθμού των ώσεων, όχι όμως στατιστικά σημαντική (Comi G, 2008).

ΣΤ) Στατίνες

Πρόκειται για παράγοντες που χρησιμοποιούνται στην αγωγή της υπερλιπιδαιμίας. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι έχουν και ανοσοτροποποιητικές δράσεις in vivo (στο ζωικό μοντέλο της ΕΑΕ) και in vitro (Kwak B, 2000, Neuhaus O, 2002). Ένας προτεινόμενος μηχανισμός δράσης είναι η εκλεκτική αναστολή του μορίου προσκόλλησης LFA-1 που συμμετέχει στη διαδικασία της φλεγμονής. Επιπλέον οι στατίνες ελαττώνουν την (μέσω της IFN-γ) έκφραση των MHC τάξης II, μπλοκάροντας την μεταγραφή των trans-ενεργοποιητών-IV του επαγωγέα του γονιδίου (Kwak B, 2000).

Ι) Οιστρογόνα

Με βάση την παρατήρηση ότι οι έγκυες ασθενείς με ΣΚΠ έχουν λιγότερες υποτροπές κατά τη διάρκεια της κύησης (ιδία κατά το τελευταίο τρίμηνο), ενώ παρατηρείται έξαρση της νόσου τους πρώτους μήνες μετά τον τοκετό, είναι πιθανό ότι τα οιστρογόνα ασκούν μια προφυλακτική δράση (Confavreux C, 1998). Η δράση αυτή των οιστρογόνων διερευνάται.

ΙΑ) Εμβολιασμός με T-κύτταρα

Στα αυτοάνοσα νοσήματα που διαμεσολαμβάνονται από T λεμφοκύτταρα όπως η ΣΚΠ, τα αυτοαντιδραστικά CD4 και CD8 T λεμφοκύτταρα θεωρούνται παθογόνα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν μετά από εξασθένησή τους σαν εμβόλιο, προκειμένου να ενεργοποιήσουν ρυθμιστικές ανοσολογικές απαντήσεις από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή έναντι των κυκλοφορούντων αυτοαντιδραστικών T λεμφοκυττάρων. Η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί θεραπευτικά προκειμένου να καταστείλει τα παραπάνω αυτοαντιδραστικά T λεμφοκύτταρα. Η χορήγησή τους ήταν αποτελεσματική στην αποτροπή της έναρξης νόσου καθώς και στην υποτροπή νόσου, όταν εφαρμόστηκε στο πειραματικό ζωικό μοντέλο της ΣΚΠ, την EAE (Lider O, 1988). Με βάση τα επιτυχημένα δεδομένα από τα πειραματόζωα ξεκίνησαν πιλοτικές μελέτες σε ανθρώπους (Hafner DA, 1992, Zhang J, 1993, Correale J, 2000, Van Der Aa A, 2003). Τα δεδομένα μέχρι σήμερα είναι ότι η συγκεκριμένη θεραπευτική προσέγγιση είναι καλά ανεκτή, χωρίς ανεπιθύμητες ενέργειες, ελπιδοφόρα, με ενδείξεις κάποιας κλινικής βελτίωσης ή σταθεροποίησης όσον αφορά στις υποτροπές και το φορτίο βλαβών στην MRI και προκαλεί μια ειδική αντίδραση έναντι του εμβολίου, ενισχύοντας τα ρυθμιστικά αντι-ιδιοτυπικά δίκτυα και καταστέλλοντας τα ειδικά έναντι μυελινικών αντιγόνων T λεμφοκύτταρα στην περιφέρεια. Ωστόσο, επειδή τα πρωτόκολλα που χρησιμοποιούν οι διάφοροι ερευνητές διαφέρουν τόσο στην επιλογή των ασθενών, όσο και στην παρασκευή του εμβολίου, τα αποτελέσματα των μελετών τους δεν είναι συγκρίσιμα.

IB) Νευροπροστατευτικοί και νευροτροφικοί παράγοντες

Τα δεδομένα τα τελευταία χρόνια καταδεικνύουν ότι πρώιμα στα αρχικά στάδια της νόσου εκτός της απομυελίνωσης υπάρχει και αξονική βλάβη (Trapp BD, 1999, Steinman L, 2001, Hemmer B, 2002), γεγονός που κατευθύνει προς τα εκεί την θεραπευτική πρακτική.

Κατά την διάρκεια της φλεγμονώδους φάσης, τόσο στη ΣΚΠ όσο και στο πειραματικό της μοντέλο, την EAE, τα λεμφοκύτταρα, τα μικρογλοιακά κύτταρα του εγκεφάλου και τα μακροφάγα απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες γλουταμινικού οξέος, το οποίο μπορεί να ενεργοποιήσει τους AMPA υποδοχείς. Οι παραπάνω AMPA υποδοχείς (α-amino-3 hydroxy-5-methyl-4 Isoxazolepropionic acid)/kainite, που διαμεσολαμβάνουν τοξικότητα μέσω του διεγερτοτοξικού νευροδιαβιβαστή γλουταμινικού οξέος, βρίσκονται στα ολιγοδενδρογλοιακά κύτταρα και στους νευρώνες, τόσο στη ΣΚΠ όσο και στην EAE. Το μπλοκάρισμα των AMPA/kainite υποδοχέων, με κάποιο τρόπο, προστατεύει τα ολιγοδενδρογλοιακά κύτταρα και τους άξονες από την ανοσολογικά διαμεσολαμβούμενη βλάβη. Έτσι, δοκιμάζεται το Riluzole (ένα σκεύασμα που μπλοκάρει έναν υπότυπο του υποδοχέα του γλουταμινικού οξέος και χορηγείται στην πλάγια μυατροφική σκλήρυνση) σαν νευροπροστατευτικός παράγοντας των νευραξόνων στη ΣΚΠ (Zhang J & Hutton G, 2005). Επίσης, κυτταροπροστατευτική δράση ενδεχομένως έχει το FTY720 (μπορεί να αυξάνει την αναπαραγωγή της μυελίνης με άμεση δράση στα ολιγοδενδροκύτταρα), το ibudilast (επίδραση στις "black holes" και στην ατροφία, σε MRI) και η μινοκυκλίνη.

Οι νευροτροφικοί παράγοντες αποτελούν πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την επιβίωση και την διαφοροποίηση των νευρικών κυττάρων και δρουν μέσω συγκεκριμένων υποδοχέων των κυττάρων (Bothwell M, 1995, Thoenen H &

Sendtnder M, 2002). Έχει παρατηρηθεί στο πειραματικό μοντέλο της ΕΑΕ ότι οι νευροτροφικοί παράγοντες εκτρέπουν, μέσω άγνωστου μηχανισμού, την ανοσία από Th1 σε Th2 (Villoslada P, 2000). Έτσι ερευνώνται ως προς την θεραπευτική τους δράση ο Insulin-like growth factor 1, ο brain-derived neurotrophic factor, ο glial growth factor και ο ciliary neurotrophic factor (Neuhaus O, 2003).

VI. Μεταμόσχευση αιμοποιητικών προβαθμίδων (HSCT)

Η χρησιμοποίηση βαρείας ανοσοκατασταλτικής αγωγής που ακολουθείται από αλλογενή ή από ομόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών προβαθμίδων (HSCT) για την θεραπεία αυτοάνοσων παθήσεων βασίσθηκε σε ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε πειραματόζωα καθώς και σε ασθενείς που έπασχαν ταυτόχρονα και από κακοήθειες και υποβλήθηκαν στην παραπάνω αγωγή προκειμένου να αντιμετωπισθεί η κακοήθειά τους.

Λόγω της υποτιθέμενης αυτοάνοσης παθογένεσής της, η ΣΚΠ έγινε το κατεξοχήν νόσημα που αντιμετωπίζεται με ομόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών προβαθμίδων (ASCT), κυρίως μέσω της πρωτοποριακής δουλειάς του Α. Φάσσα και των συνεργατών του (Fassas A, 1997, Fassas A, 2000, Fassas A, 2003). Το σκεπτικό είναι ότι η πλήρης καταστροφή του αιμοποιητικού συστήματος που ακολουθείται από επανασύστασή του με νέα αιμοποιητικά κύτταρα, είτε ομόλογης είτε αλλογενούς προέλευσης, δύναται να εξαλείψει την παθογενετική αυτοάνοση αντίδραση και πιθανώς να βελτιώσει την κλινική πορεία της νόσου (Sun W, 2004). Ωστόσο, παρόλο που είναι πιθανό να ελαττώνονται τα αυτοαντιδραστικά κύτταρα μετά την μεταμόσχευση, στο βασικό ερώτημα αν είναι δυνατό η μεταμόσχευση να δημιουργήσει ένα καινούργιο ανοσοποιητικό σύστημα με ανοχή προς τα μυελινικά αντιγόνα, η απάντηση είναι άγνωστη (Muraro PA & Martin R, 2003). Επίσης, παρόλο που έχουν αθροιστεί αρκετά κλινικά δεδομένα από την μεταμοσχευτική εμπειρία των τελευταίων ετών (Karussis D, 1999) λίγα είναι γνωστά για το ποιες ακριβώς μεταβολές στο ανοσοποιητικό σύστημα μετά την μεταμόσχευση ευθύνονται για την βελτίωση της πορείας της νόσου. Από εκτεταμένα δεδομένα σε πειραματικά μοντέλα της νόσου (Kim JH, 2002) και πρόσφατα και στην κλινική πράξη (Mezey E, 2003, Cogle CR, 2004) φαίνεται ότι οι αιμοποιητικές προβαθμίδες είναι δυνατό να διαφοροποιηθούν σε πρόδρομα νευρικά κύτταρα *in vivo* και επομένως είναι δυνατό να προάγουν την αποκατάσταση των βλαβών στο ΚΝΣ.

Όσον αφορά στην αποτελεσματικότητα της HSCT, δεδομένα από ποικίλες μελέτες δεικνύουν ότι ενώ έχει μια σταθερή επίδραση στην φλεγμονή όπως καταδεικνύεται στην MRI, με απουσία προσλαμβανομένων βλαβών ή αύξηση του φορτίου των βλαβών στην T2 ακολουθία, υπάρχουν λίγα δεδομένα για το κλινικό όφελος όσον αφορά στην αναπηρία (Mandalino P, 2000, Burt RK & Kozak T, 2003). Φαίνεται ότι η HSCT προσφέρει μεγαλύτερο όφελος σε ασθενείς που βρίσκονται σε πρώιμα και περισσότερο φλεγμονώδη στάδια της νόσου. Επίσης, όπως προκύπτει από την μέχρι τώρα εμπειρία δεν φαίνεται να σταματά την επιδείνωση σε ασθενείς με προοδευτική μορφή της νόσου που έχουν μεγάλη αναπηρία (EDSS > 6,0). Σύμφωνα με τους Burt και Kozak οι ασθενείς που θα επιλέγονται στις μελλοντικές HSCT μελέτες θα πρέπει να έχουν μικρότερη αναπηρία σε σχέση με αυτούς που έλαβαν μέρος στις ως τώρα μελέτες, καθώς και να έχουν ενεργό φλεγμονή (δηλαδή να παρουσιάζουν υποτροπές) παρά την βασική ανοσοτροποποιητική αγωγή.

3) ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Πρόκειται για συμπληρωματική αγωγή που αποσκοπεί αφ' ενός στην αντιμετώπιση των χρόνιων συμπτωμάτων που εγκαθίστανται και επιμένουν στην πορεία της νόσου και αφετέρου στη βελτίωση της λειτουργικότητας και της ποιότητας ζωής των ασθενών. Εκτός από τη χορήγηση της κατάλληλης για κάθε σύμπτωμα αγωγής, στο βαθμό που αυτό μπορεί να ειπωθεί, δεδομένου ότι οριστικές λύσεις δεν υφίστανται, οι ασθενείς ενθαρρύνονται να συμφιλιωθούν με κάποιες καταστάσεις, να μάθουν να ζουν με τα συμπτώματα της νόσου και να μην αποκοπούν από το κοινωνικό και εργασιακό τους περιβάλλον. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι διαταραχές απαιτούν πολύπλευρη αντιμετώπιση και συνεργασία και άλλων ειδικοτήτων, πλην του νευρολόγου, όπως είναι ο φυσιοθεραπευτής, ο ψυχίατρος, ο ουρολόγος, κ.α.

I. Αντιμετώπιση του αισθήματος κόπωσης

Το αίσθημα κόπωσης είναι από τα σοβαρότερα προβλήματα των πασχόντων από ΣΚΠ και αφορά σε περισσότερο από τα 3/4 του συνόλου των ασθενών. Αυξάνεται με την πρόοδο της ημέρας ή την έκθεση σε υψηλή θερμοκρασία και υποχωρεί με την ανάπαυση, που συνιστάται για εξοικονόμηση ενέργειας. Δεν αποκλείεται ενίοτε να οφείλεται μερικώς σε υποκειμενική κατάθλιψη. Ουσιαστική θεραπεία δεν υφίσταται. Θεραπεία επιλογής αποτελεί η Αμανταδίνη (Symmetrel), με άγνωστο μηχανισμό δράσης, αλλά με τεκμηριωμένα, από ελεγχόμενες μελέτες (The Canadian MS Research Group, 1987, Cohen RA, 1989, Krupp LB, 1995), αποτελέσματα επί του 40% τουλάχιστον των περιπτώσεων.

Εναλλακτικά μπορεί να χορηγηθεί η ουσία 4-αμινοपुरιδίνη (Stefoski D, 1991, Van Diemen HAM, 1992, Bever CT Jr, 1995), που αποκλείει τα κανάλια K^+ , παρατείνοντας έτσι τη φάση επαναπόλωσης του δυναμικού ενέργειας, με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της αγωγιμότητας και τη βελτίωση της μυϊκής ισχύος. Άλλες ουσίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι οι: μονταφινίλη (Laffont F, 1994, Besset A, 1996, Broughton RJ, 1997) και πεμολίνη (Weinshenker BG, 1992), διεργετικές του ΚΝΣ και αντικαταθλιπτικά σκευάσματα [εκλεκτικοί αναστολείς επαναπρόσληψης της σεροτονίνης (φλουοξετίνη, σιταλοπράμη, παροξετίνη κ.α.), καθώς και μικτού τύπου αναστολείς επαναπρόσληψης (βενλαφαξίνη, νεφαξοδόνη, μινταζαπίνη)] με το σκεπτικό ότι δεν αποκλείεται η εμφάνιση του αισθήματος κόπωσης να σχετίζεται όπως αναφέρθηκε με λανθάνουσα κατάθλιψη.

II. Αντιμετώπιση της σπαστικότητας

Η σπαστικότητα λόγω αύξησης του μυϊκού τόνου δεν προκαλεί μόνο δυσχέρεια στην επιτέλεση των καθημερινών δραστηριοτήτων των ασθενών, αλλά και άλγος ιδιαίτερα βασανιστικό. Η φαρμακευτική αγωγή πρέπει πάντοτε να συνοδεύεται από κατάλληλη φυσιοθεραπεία, η οποία μπορεί από μόνη της να αρκεί στις περιπτώσεις ελαφριάς σπαστικότητας. Δεδομένου ότι η φυσιολογία της

σπαστικότητα δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη, χρησιμοποιούνται ετερόκλητες ουσίες με μηχανισμό δράσης που δεν είναι σαφής. Φάρμακα επιλογής αποτελούν η μπακλοφαΐνη (Miorel, Lioresal), παράγωγα του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) με κεντρική δράση ενεργοποίησης GABA_B υποδοχέων και η τιζανιδίνη (Sirdalud, Zanaflex) (Rinne UK, 1980, Smolenski C, 1981, Newman PM, 1982), παράγωγο της μιδαζόλης με δράση σε ποικίλες θέσεις του ΚΝΣ, που πιθανότητα μεταβάλλει την αγωγιμότητα των φυγόκεντρων νοραδρενεργικών οδών του ΝΜ, δια της ενεργοποίησης των κεντρικών α₂-αδρενεργικών υποδοχέων, με αποτέλεσμα την αναστολή της απελευθέρωσης διεγερτικών μεταβιβαστικών αμινοξέων. Άλλες ουσίες είναι οι: η διαζεπάμη (Wilson LA, 1966, Peirson GA, 1968, Corbett M, 1972) και η κλοναζεπάμη, με κεντρική δράση (σε επίπεδο ΝΜ) επί των GABA_A υποδοχέων, αυξάνοντας την απελευθέρωση GABA από τους προσυναπτικούς νευρώνες, η γκαμπαπεντίνη (Mueller ME, 1997, Dunevsky A, 1998, Cutter NC, 2000, Solaro C, 2000), η οποία δι' αποκλεισμού των καναλιών Na⁺ ενδεχομένως ασκεί GABAεργική και αντιγλουταμινεργική δράση, η νταντρολαΐνη (Ellis KO, 1972), με περιφερική δράση, ελαττώνοντας το ρυθμό και την ποσότητα απελευθέρωσης των ιόντων Ca⁺⁺ στο σαρκοπλασμαστικό δίκτυο, ώστε να εμποδίζεται η ενεργοποίηση της σύσπασης των μυϊκών ινιδίων, η δέλτα-9-τετραϋδροκανναβινόλη (Petro DJ, 1981, Meinck HM, 1989, Brenneisen R, 1996, Consroe P, 1997, Baker D, 2000), παράγωγο της ινδικής κάνναβης, περιορισμένο πλέον από το νόμο, η βοτουλινική τοξίνη τύπου Α (Snow BJ, 1990, Borodic GE, 1992, Hyman N, 2000), τοξίνη του clostridium botulinum, που δρα προσυναπτικά εμποδίζοντας την απελευθέρωση ακετυλοχολίνης, η θρεονίνη (Barbeau A, 1982, Growdon JH, 1991) και τα κορτικοειδή σε υψηλές δόσεις, με προσωρινά όμως αποτελέσματα. Η επώδυνη σπαστικότητα σε άτομα που είναι καθηλωμένα σε αναπηρικά αμαξίδια και δεν έχουν έλεγχο σφιγκτήρων μπορεί να ανακουφισθεί με την τοποθέτηση μιας ενδοθηκικής αντλίας έγχυσης μπακλοφαΐνης (Penn RD, 1989, Coffey JR, 1993). Σε πολύ προχωρημένα στάδια, έχει προταθεί η εφαρμογή χειρουργικής θεραπείας (Padovani R, 1982), η οποία στοχεύει στη διάσπαση της συνέχειας του αντανεκλαστικού τόξου.

III. Αντιμετώπιση της μυϊκής αδυναμίας

Χρησιμοποιούνται η 4-αμινοπυριδίνη (Stefoski D, 1991, Van Diemen HAM, 1992, Bever CT Jr, 1995, Schwid SR, 1997) και η 3,4-διαμινοπυριδίνη (Bever CT Jr, 1996), με σχετικά καλά αποτελέσματα σε διασταυρούμενες, δίπλα τυφλές, ελεγχόμενες με placebo μελέτες.

IV. Αντιμετώπιση χρόνιου και παροξυσμικού άλγους

Η πλειοψηφία των ασθενών με ΣΚΠ εμφανίζει στην πορεία της νόσου κάποια μορφή άλγους (Clifford DB, 1984, Vermote R, 1986, Moulin DE, 1989, Stenager E, 1991, Osterberg A, 2005 & 2010).

Συνήθως τα άλγη αυτά – χρόνια και παροξυσμικά (παραισθησίες κάθε είδους, ριζικού τύπου άλγη, κοιλιακά άλγη λόγω ριζοπάθειας ή ενδοκοιλιακής παθολογίας, οσφυαλγίες από παρατεταμένη ακινησία κ.α.) – απαντούν σχετικά καλά στη χορήγηση κεντρικώς δρώντων φαρμάκων.

Έτσι, φάρμακο εκλογής είναι η ουσία αμιτριπτυλίνη (Clifford DB, 1984). Εναλλακτικά, είτε μόνα τους, είτε σε συνδυασμούς, μπορεί να χορηγηθούν αντιεπιληπτικά σκευάσματα, όπως η καρβαμαζεπίνη (Campbell FG, 1966, Killian JM, 1968, Nicol CF, 1969), η γκαμπαπεντίνη (Houtchens MK, 1997, Rosenberg JM, 1997, Samkoff LM, 1997, Sist T 1997), το βαλπροϊκό, η λαμοτριγίνη (Lunardi G, 1997, Leandri M, 2000), η φαινυτοΐνη, η πρεγκαμπαλίνη, η κλοναζεπάμη ή ακόμη και νευροληπτικά, όπως η περφαιναζίνη ή η αλοπεριδόλη (Kocher R, 1976), είτε τέλος η ουσία ακεταζολαμίδη.

V. Αντιμετώπιση των διαταραχών της ουρήσεως

Οι σφιγκτηριακές διαταραχές (νευρογενής κύστη και διαταραχές από το ορθό), μετά από κατάλληλο νευροφυσιολογικό – ουροδυναμικό έλεγχο που θα υποδείξει την υποκείμενη βλάβη, είναι δυνατό να βοηθηθούν φαρμακολογικά. Στους ασθενείς με ακράτεια χορηγούνται αντιχολινεργικά, όπως οξυβουτινίνη ή προπανθελίνη ή τολτεροδίνη. Επίσης, ουσίες που χρησιμοποιούνται ενδοκυστικά όπως καπσαϊσίνη και ρεσινιφερατοξίνη (Litwiller SE, 1999). Στους ασθενείς με δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα, όπου η κύστη προσπαθεί να κενώσει μέσω της κλειστής ουρήθρας, τα αντιχολινεργικά συνδυάζονται με διαλείποντες αυτόκαθετηριασμούς (2-4 φορές την ημέρα). Στους ασθενείς με ακράτεια και φτωχή απόκριση στα αντιχολινεργικά εφαρμόζεται χειρουργική αντιμετώπιση με εντεροκυστεοπλαστική ή εκτροπή των ούρων. Τέλος, στους ασθενείς με πρόβλημα κενώσεως της κύστης εφαρμόζονται καθαροί διαλείποντες καθετηριασμοί (Webb RJ, 1990).

VI. Αντιμετώπιση του τρόμου

Ο τρόμος των άκρων στους πάσχοντες οφείλεται σε βλάβες της παρεγκεφαλίδας, των συνδέσεων της και του μεσεγκεφάλου και πολύ συχνά δεν αποκρίνεται στη φαρμακευτική θεραπεία. Ουσίες που χρησιμοποιούνται είναι η οντανσετρόνη (Zofran) (Rice GP, 1995 & 1997) εκλεκτικός ανταγωνιστής του 5-HT₃ υποδοχέα της σεροτονίνης, με το σκεπτικό ότι η σεροτονινεργική νεύρωση της παρεγκεφαλίδας ενδέχεται να εμπλέκεται στον μηχανισμό πρόκλησης του τρόμου, χωρίς μεγάλη αποτελεσματικότητα όμως, η ισονιαζίδη (Dianicetyl) (Hallett M, 1985, Bozek CB, 1987) η οποία είναι δύσκολα ανεκτή όμως, η κλοναζεπάμη, η προπρανολόλη, η διαζεπάμη, η πριμιδόνη, η τοπιραμάτη κ.α. χωρίς όμως ιδιαίτερα αποτελέσματα. Σε επίμονες καταστάσεις μπορεί να υποχωρήσει μετά από συνεχή ετερόπλευρο θαλαμικό ερεθισμό ή μετά από καταστροφική θαλαμοτομή (Noseworthy JH, 2000).

VII. Αντιμετώπιση των σεξουαλικών δυσλειτουργιών

Οι σεξουαλικές διαταραχές είναι συχνές σε άνδρες και γυναίκες με ΣΚΠ. Στις γυναίκες, η αντιμετώπιση της σπαστικότητας των άκρων, της ακράτειας, του πόνου και άλλων συμπτωμάτων που έχουν άμεση επίδραση στη σεξουαλική λειτουργία, καθώς και η ψυχολογική υποστήριξη μπορούν να βελτιώσουν την κατάσταση. Στους άνδρες πρέπει να γίνεται πολυπαραγοντική προσέγγιση των προβλημάτων στύσης.

Ωστόσο, επειδή πρόκειται συνήθως για ανικανότητα νευρογενούς αιτιολογίας υπάρχει καλή ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή με ενδοσηραγγώδεις αγγειοδραστικές ουσίες, όπως η ενέσιμη παπαβερίνη (Virag R, 1984, Chancellor MB, 1994), μη ειδικός αναστολέας της κυκλικής φωσφοδιεστεράσης με σπασμολυτική δράση, η φεντολαμίνη, η προσταγλαδίνη E1 (Porst H, 1996, Linet OI, 1996), ή τελευταίως από του στόματος η κιτρική σιλντεναφίλη (Boolel M, 1996, Goldstein I, 1998).

VIII. Αντιμετώπιση άλλων συμπτωμάτων

Οι ψυχικές διαταραχές αντιμετωπίζονται με τρικυκλικά και μη-τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά (Rudick RA, 1987, Schiffer RB, 1990) και ψυχολογική υποστήριξη, εάν πρόκειται για κατάθλιψη, ή με λίθιο ή καρβαμαζεπίνη, εάν πρόκειται για διπολικού τύπου συναισθηματικές διαταραχές. Πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στους πάσχοντες, διότι τα ποσοστά αυτοκτονίας στη ΣΚΠ είναι 7,5 φορές υψηλότερα απ' ότι στον υγιή πληθυσμό.

Οι γνωσιακές διαταραχές χρήζουν λεπτομερούς νευροψυχιατρικής εκτίμησης και συνιστώνται τεχνικές αποκατάστασης και εργασιοθεραπεία. Πιθανών να ανταποκρίνονται θετικά στη χορήγηση αμανταδίνης ή πεμολίνης (Geisler MW, 1996, Sailer M, 2000) ή 4-αμινοπυριδίνης (Smits RC, 1994).

Ο ίλιγγος αντιμετωπίζεται με μεκλιζίνη, χαμηλές δόσεις διαζεπάμης ή υδροχλωρική προμεθαζίνη ή ακόμα και με μετοκλοπραμίδη, αν επιπλέκεται με ναυτία και έμετο.

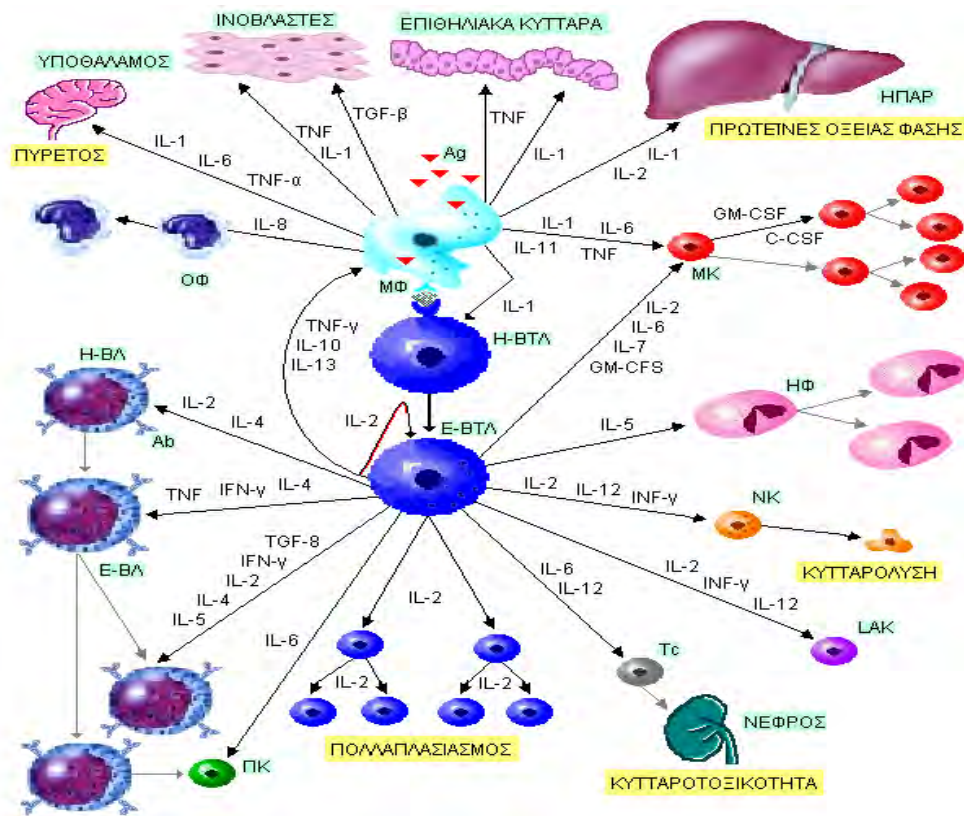
Οι διαταραχές από το γαστρεντερικό αντιμετωπίζονται με μικρή αποτελεσματικότητα με λακτουλόζη, εάν πρόκειται για δυσκοιλιότητα, ή υποκλυσμούς εάν πρόκειται για ακράτεια (Fowler CJ, 1996).

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

1) ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ

Οι κυτταροκίνες (cytokines) είναι μια μεγάλη ομάδα διαμεσολαβητικών ουσιών - διαλυτών μορίων που συνεργάζονται σε ένα πολύπλοκο δίκτυο συντονισμού διαφόρων κυττάρων και ιστών με σκοπό την διατήρηση ή την αποκατάσταση της φυσιολογικής ομοιόστασης (εικόνα 34).

Εικόνα 34
Δίκτυο δράσης κυτταροκινών



- ΟΦ = ουδετερόφιλα
- H-BΛ = ήρεμο Β λεμφοκύτταρο
- E-BΛ = ενεργοποιημένο Β λεμφοκύτταρο
- Ab= αντισώματα
- ΠΚ= πλασματοκύτταρο
- Tc = κυτταροτοξικό Τ λεμφοκύτταρο
- NK = φυσικός φονέας κύτταρο
- ΗΦ = ηωσινόφιλα
- ΜΚ = μητρικό κύτταρο
- GM-CSF = παράγοντας διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων - μακροφάγων
- C-CSF = παράγοντας διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων
- ΜΦ = μακροφάγο
- Ag = αντιγόνο
- H-BΤΛ = ήρεμο βοηθητικό Τ λεμφοκύτταρο
- E-BΤΛ = ενεργοποιημένο βοηθητικό Τ λεμφοκύτταρο

Πρόκειται στην πλειονότητα για γλυκοπρωτεΐνες με μοριακό βάρος 5-50 kDa, που αποτελούνται από κεντρική δομή 150 περίπου αμινοξέων και ποικίλο αριθμό καρβοξυλικών ομάδων. Η ρύθμιση της παραγωγής τους εξαρτάται από το ρυθμό μεταγραφής του DNA του αντίστοιχου γονιδίου.

Οι κυτταροκίνες οργανώνουν την ένταση, το είδος και την διάρκεια της φλεγμονώδους ανοσολογικής απάντησης μεταφέροντας πληροφορίες διαμέσου και εντός των κυττάρων, συνδεόμενες με μοριακούς υποδοχείς. Η μεταφορά μπορεί να γίνει σε παρακείμενα κύτταρα (παρακρινή δράση), στα ίδια τα παράγωγα κύτταρα (αυτοκρινική δράση) ή σπανιότερα σε απομακρυσμένα κύτταρα. Σε μερικές περιπτώσεις η ίδια η κυτταροκίνη έχει διαφορετική δράση σε διαφορετικά κύτταρα (πλειοτροπισμός), ενώ σε άλλες περιπτώσεις διαφορετικές κυτταροκίνες ασκούν την ίδια δράση σε ένα κύτταρο (πλεονασμός).

Επιπλέον, οι κυτταροκίνες ρυθμίζουν πολλές άλλες σημαντικές βιολογικές διαδικασίες, όπως την κυτταρική ανάπτυξη, κυτταρική ενεργοποίηση, ιστική επιδιόρθωση, ίνωση και μορφογένεση.

Οι κυτταροκίνες χωρίζονται σε πέντε ομάδες:

1. Ιντερλευκίνες	IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-35
2. Χημειοκίνες	MIP-1, MCP-1, PF-4, IL-8
3. Παράγοντες νέκρωσης όγκων	TNF- α , TNF- β
4. Ιντερφερόνες	INF- α , INF- β , INF- γ
5. Αυξητικοί παράγοντες	G-CSF, CM-CSF, M-CS

2) ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Η δράση των κυτταροκινών αρχίζει με την σύνδεσή τους σε διαμεμβρανικούς υποδοχείς, οπότε οι πληροφορίες μέσω μιας σειράς αντιδράσεων φωσφορυλίωσης, μεταγονται στον πυρήνα του κυττάρου όπου ενεργοποιούν την μεταγραφή γονιδίων.

Οι υποδοχείς των κυτταροκινών μπορεί να είναι μονομερείς (α, β), διμερείς ($\alpha\beta, \beta\gamma$) και τριμερείς ($\alpha\beta\gamma$) και ανάλογα με την δομή τους αποτελούνται από ένα εξωκυττάριο τμήμα, ένα διαμεμβρανικό και ένα ενδοκυττάριο. Μετά τη σύνδεση της κυτταροκίνης με τον υποδοχέα της, το ενδοκυττάριο τμήμα μεταδίδει το σήμα και ενεργοποιεί γονιδιακούς μηχανισμούς που επάγουν ή αναστέλλουν την σύνθεση ενζύμων.

Ο αριθμός των υποδοχέων ποικίλει από 100 έως 1000 μόρια ανά κύτταρο και είναι αντιστρόφως ανάλογος της εκλεκτικής τους συγγένειας (affinity). Η μια αλυσίδα του υποδοχέα μπορεί να συνδεθεί με την κυτταροκίνη, ενώ η δεύτερη να αυξήσει τη χημική συγγένεια σύνδεσης της πρώτης αλυσίδας με την κυτταροκίνη και να μεταγεί το σήμα στον πυρήνα του κυττάρου. Οι υποδοχείς μπορούν να συνδέονται με περισσότερες από μία κυτταροκίνες, όπως συμβαίνει στις

χημειοκίνες, με αποτέλεσμα ενώ υπάρχουν περισσότερα από 40 είδη στην οικογένεια των χημειοκινών, να υπάρχουν μόνο περίπου 15 υποδοχείς με διασταυρούμενη ειδικότητα (Ward SG, 1998).

3) ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΕΣ (IL)

Οι ιντερλευκίνες ονομάστηκαν έτσι, θεωρούμενες ως μόρια παραγόμενα από λευκοκύτταρα και δρώντα σε λευκοκύτταρα. Μεταγενέστερες έρευνες αποκάλυψαν ότι για ορισμένες IL αυτό ισχύει και για μη-λευκοκύτταρα, η ονοματολογία όμως παρέμεινε.

Πρόκειται για μια μεγάλη ομάδα μορίων (πίνακας 14) που παράγονται κυρίως από τα Τ-λεμφοκύτταρα, αλλά και από μονοκύτταρα φαγοκύτταρα και ιστικά κύτταρα. Έχουν ποικιλία λειτουργιών, με τις περισσότερες να εμπλέκονται στην κυτταρική διαίρεση και διαφοροποίηση. Κάθε IL ασκεί δράση σε συγκεκριμένο, περιορισμένο σύνολο κυττάρων στα οποία εκφράζεται ο κατάλληλος υποδοχέας για αυτήν την IL.

Πίνακας 14

Λίστα με τις γνωστές ιντερλευκίνες και τις βασικές ιδιότητές τους

Name	Source	Target receptors	Target cells	Function
IL-1	macrophages, B cells, monocytes, dendritic cells	CD121a/IL1R1, CD121b/IL1R2	T helper cells	co-stimulation
			B cells	maturation & proliferation
			NK cells	activation
			macrophages, endothelium, other	inflammation, small amounts induce acute phase reaction, large amounts induce fever
IL-2	Th1-cells	CD25/IL2RA, CD122/IL2RB, CD132/IL2RG	Activated T cells and B cells, NK cells, macrophages, oligodendrocytes	stimulates growth and differentiation of T cell response. Can be used in immunotherapy to treat cancer or suppressed for transplant patients. Has also been used in clinical trials (ESPIRIT, Stalwart) to raise CD4 counts in HIV positive patients.
IL-3	activated T helper cells, mast cells, NK cells, endothelium, eosinophils	CD123/IL3RA, CD131/IL3RB	hematopoietic stem cells	differentiation and proliferation of myeloid progenitor cells to e.g. erythrocytes, granulocytes
			mast cells	growth and histamine release
IL-4	Th2 cells, just activated naive CD4+ cell, memory CD4+ cells, mast cells, macrophages	CD124/IL4R, CD132/IL2RG	activated B cells	proliferation and differentiation, IgG1 and IgE synthesis. Important role in allergic response (IgE)
			T cells	proliferation
			endothelium	
IL-5	Th2 cells, mast cells, eosinophils	CD125/IL5RA, CD131/IL3RB	eosinophils	production
			B cells	differentiation, IgA production
IL-6	macrophages, Th2 cells, B cells, astrocytes, endothelium	CD126/IL6RA, CD130/IR6RB	activated B cells	differentiation into plasma cells
			plasma cells	antibody secretion
			hematopoietic stem cells	differentiation
			T cells, others	induces acute phase reaction, hematopoiesis, differentiation, inflammation
IL-7	bone marrow stromal cells and thymus stromal cells	CD127/IL7RA, CD132/IL2RG	pre/pro-B cell, pre/pro-T cell, NK cells	differentiation and proliferation of lymphoid progenitor cells, involved in B, T, and NK cell survival, development, and homeostasis, ↑ proinflammatory cytokines
IL-8	macrophages,	CXCR1/IL8RA,	neutrophils,	Neutrophil chemotaxis

	lymphocytes, epithelial cells, endothelial cells	CXCR2/IL8RB/CD128	basophils, lymphocytes	
IL-9	Th2 cells, specifically by CD4+ helper cells	CD129/IL9R	T cells, B cells	Potentiates IgM, IgG, IgE, stimulates mast cells
IL-10	monocytes, Th2 cells, CD8+ T cells, mast cells, macrophages, B cell subset	CD210/IL10RA, CDW210B/IL10RB	macrophages	cytokine production
			B cells	activation
			mast cells	
			Th1 cells	inhibits Th1 cytokine production (IFN- γ , TNF- β , IL-2)
	Th2 cells		Stimulation	
IL-11	bone marrow stroma	IL11RA	bone marrow stroma	acute phase protein production, osteoclast formation
IL-12	dendritic cells, B cells, T cells, macrophages	CD212/IL12RB1, IR12RB2	activated T cells,	differentiation into Cytotoxic T cells with IL-2, \uparrow IFN- γ , TNF- α , \downarrow IL-10
			NK cells	\uparrow IFN- γ , TNF- α
IL-13	activated Th2 cells, mast cells, NK cells	IL13R	TH2-cells, B cells, macrophages	Stimulates growth and differentiation of B cells (IgE), inhibits TH1-cells and the production of macrophage inflammatory cytokines (e.g. IL-1, IL-6), \downarrow IL-8, IL-10, IL-12
IL-14	T cells and certain malignant B cells		activated B cells	controls the growth and proliferation of B cells, inhibits Ig secretion
IL-15	mononuclear phagocytes (and some other cells), especially macrophages following infection by virus(es)	IL15RA	T cells, activated B cells	Induces production of Natural killer cells
IL-16	lymphocytes, epithelial cells, eosinophils, CD8+ T cells	CD4	CD4+ T cells (Th-cells)	CD4+ chemoattractant
IL-17	T helper 17 cells (Th17)	CDw217/IL17RA, IL17RB	epithelium, endothelium, other	osteoclastogenesis, angiogenesis, \uparrow inflammatory cytokines
IL-18	macrophages	CDw218a/IL18R1	Th1 cells, NK cells	Induces production of IFN γ , \uparrow NK cell activity
IL-19	-	IL20R		-
IL-20	-	IL20R		regulates proliferation and differentiation of keratinocytes
IL-21	activated T helper cells, NKT cells	IL21R	All lymphocytes, dendritic cells	costimulates activation and proliferation of CD8+ T cells, augment NK cytotoxicity, augments CD40-driven B cell proliferation, differentiation and isotype switching, promotes differentiation of Th17 cells
IL-22	-	IL22R		Activates STAT1 and STAT3 and increases production of acute phase proteins such as serum amyloid A, Alpha 1-antichymotrypsin and haptoglobin in hepatoma cell lines
IL-23	-	IL23R		Increases angiogenesis but reduces CD8 T-cell infiltration
IL-24	-	IL20R		Plays important roles in tumor suppression, wound healing and psoriasis by influencing cell survival.
IL-25	-	LY6E		Induces the production IL-4, IL-5 and IL-13, which stimulate eosinophil expansion
IL-26	-	IL20R1		Enhances secretion of IL-10 and IL-8 and cell surface expression of CD54 on epithelial cells
IL-27	-	IL27RA		Regulates the activity of B lymphocyte and T lymphocytes
IL-28	-	IL28R		Plays a role in immune defense against viruses
IL-29	-			Plays a role in host defenses against microbes

IL-30	-			Forms one chain of IL-27
IL-31	-	IL31RA		May play a role in inflammation of the skin
IL-32	-			Induces monocytes and macrophages to secrete TNF- α , IL-8 and CXCL2
IL-33	-			Induces helper T cells to produce type 2 cytokine
IL-35	regulatory T cells			Suppression of T helper cell activation

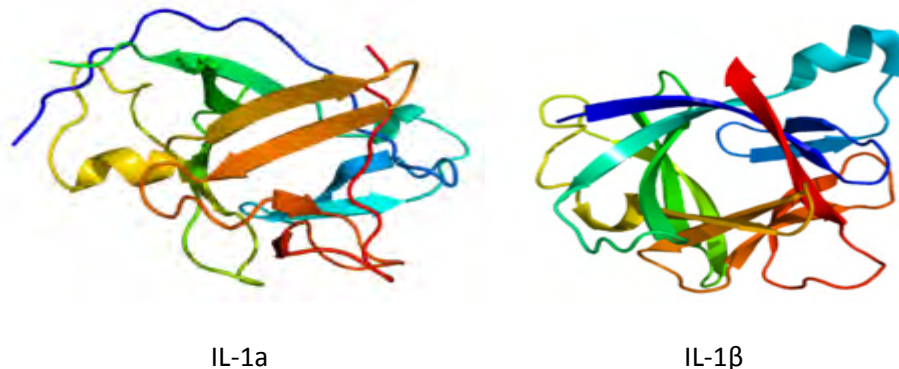
Noosheen Alaverdi & David Sehry, eBioscience, 2008

I. Ιντερλευκίνη-1 (IL-1)

Η ιντερλευκίνη 1 (IL-1) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1972 σαν παράγοντας που ενεργοποιεί τα λεμφοκύτταρα (Gery I, 1972). Μεταξύ των ονομάτων που έχουν δοθεί στο μόριό της (εικόνα 35) περιλαμβάνονται τα εξής: ενδογενής μεσολαβητής των λεμφοκυττάρων (lymphotic endogenous factor-LEF) (Kampscmidt R, 1981), παράγοντας των μονοκυττάρων (mononuclear cell factor-MCF), επειδή παράγεται από τα μονοκύτταρα (Krane SM, 1990), καταβολίνη (catabolin), επειδή αποδομεί τους χόνδρους (Saklatvala J, 1985), αιμοποιητίνη (heamopoietin-1) (Moore MA, 1987), παράγοντας που αναστέλλει την αύξηση των μελανοκυττάρων (melenoma proliferation promoting factor of neutrophils) (Mori S, 1988), παράγοντας που αναστέλλει την αύξηση όγκων (tumor inhibitory factor) (Fryling C, 1989) και ενδογενές πυρετογόνο.

Τα γνωστά μέλη της οικογένειας της IL-1 είναι η IL-1 α (IL-1 α για την πρωτεΐνη, IL-1A για το γονίδιο, OMIM 147760) και η IL-1 β (IL-1 β για την πρωτεΐνη, IL-1B για το γονίδιο, OMIM 147720) (Patterson D, 1993, Nicklin MJ, 1994), που ανήκουν στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες.

Εικόνα 35
Δομή της IL-1



Το cDNA της IL-1 έγινε γνωστό το 1984 (Auron PE, 1984). Αρχικά προσδιορίστηκε το cDNA της IL-1 β , που είναι η ουδέτερη μορφή με pH=7, σε μονοκύτταρα περιφερικού αίματος ανθρώπων και στη συνέχεια το cDNA της IL-1 α , που είναι η όξινη μορφή με pH=5, σε μακροφάγα ποντικών (Lomedico PT, 1984).

Στην προσπάθεια για χαρτογράφηση των γονιδίων της IL-1, αρχικά κατεδείχθει το χρωμόσωμα 2 και συγκεκριμένα το μακρύ σκέλος του (Webb AC, 1986), ως γενετικός τόπος τόσο για την IL-1B, όσο και για την IL-1A και με in situ υβριδισμό τα

γονίδια οριοθετήθηκαν στη θέση 2q13-q21. Όταν αργότερα, όπως αναφέρεται και παρακάτω, ένα γονίδιο σχετιζόμενο στενά με τα γονίδια της IL-1, το γονίδιο του αναστολέα του υποδοχέα της IL-1 (IL-1Ra για την πρωτεΐνη, IL-1RN για το γονίδιο, OMIM 147669) (Patterson D, 1993, Nicklin MJ, 1994), χαρτογραφήθηκε στον άνθρωπο στο χρωμόσωμα 2q14.2, έγινε προσπάθεια χαρτογράφησης με περιοριστικά ένζυμα όλης της περιοχής του γονιδιώματος, που ίσως περιλάμβανε τα τρία σχετιζόμενα γονίδια. Αυτή η εργασία κατέληξε ότι από ορισμένο σημείο τα τρία γονίδια διευθετούνται σε αποστάσεις που έχουν ως εξής: IL-1A μεταξύ +0 και +35Kb, IL-1B μεταξύ +70 και +110 Kb και IL-1RN μεταξύ +330 και +430 Kb. Επειδή, τέλος, η χαρτογράφηση του IL-1RN στο 2q14.2 θεωρείται η πιο αξιόπιστη, με τα σημερινά δεδομένα τα γονίδια των IL-1A και IL-1B θεωρείται ότι βρίσκονται στο χρωμόσωμα 2q14.

Οι IL-1 συντίθενται αρχικά σαν πρόδρομες μορφές (προ-IL-1), που έχουν MB 30.606 Daltons η IL-1α και 30.749 η IL-1β, ενώ στη συνέχεια διασπώνται με την δράση των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα να παράγεται πεπτίδιο με MB 17 kDa που ονομάζεται ώριμη IL-1. Οι ώριμες αυτές μορφές της IL-1 (α και β) είναι οι βιολογικά δραστικές. Η αλληλουχία του γονιδίου της IL-1B αποτελείται από 7924 bp μοιρασμένα σε 6 ιντρόνια και 6 εξόνια καθώς και 2 περιοχές επαναλαμβανόμενων Alu αλληλουχιών (Bensi G, 1987).

Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι παρά τις μικρές διαφορές μεταξύ των δύο μορφών της IL-1 (α και β) του ανθρώπου, ομοιότητα υπάρχει μόνο κατά 26%, όσο αφορά στην αλληλουχία των αμινοξέων τους (March CJ, 1985) και 45% σε επίπεδο νουκλεϊνικού οξέως.

A) Κύτταρα παραγωγής της IL-1

Ιντερλευκίνη-1 συνθέτουν πολλά εμπύρνηνα κύτταρα, όπως τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος, τα ιστικά μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνηνα του αίματος, τα διεγερμένα Β-λεμφοκύτταρα, τα αστροκύτταρα, οι ινοβλάστες, τα επιθηλιακά κύτταρα, τα κερατινοκύτταρα, τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών και της αρθρικής κοιλότητας, τα δενδριτικά κύτταρα του δέρματος, τα ενδοθηλιακά κύτταρα του εντέρου, των ούλων και του τραχήλου της μήτρας, τα Τ-λεμφοκύτταρα του αίματος, τα μητρικά κύτταρα του πλακούντα, τα νεαρά κύτταρα του αίματος και τα αιμοπετάλια κ.α., κυρίως ως απάντηση σε κυτταρικό τραυματισμό, λοίμωξη ή παρουσία αντιγόνων.

Επίσης έχει βρεθεί ότι και μονοκύτταρα περιφερικού αίματος ασθενών με μονοκυτταρική λευχαιμία, λεμφαδενικά κύτταρα από ασθενείς με νόσο Hodgkin και κύτταρα καρκινικού νεφρού παράγουν αυτόματα IL-1 (Bodel P, 1980). Το ίδιο διαπιστώθηκε και για τα κύτταρα του μυελώματος (Cozzolino F, 1989) και για τους βλάστες οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (Bradbury D, 1990).

Η IL-1α ανευρίσκεται συνδεδεμένη στην πλασματική μεμβράνη, αλλά κυρίως μέσα στο κυτταρόπλασμα αρκετών κυττάρων (κυρίως μονοκυττάρων και Β-λεμφοκυττάρων) (Dinarelli CA, 1994), η IL-1β απελευθερώνεται από τα κύτταρα ανενεργή και ενεργοποιείται μετά από πρωτεολυτική επεξεργασία (Auron PE, 1984, Dinarelli CA, 1994), ενώ ο IL-1Ra παράγεται με ενδοκυττάρια και εκκριτική μορφή (Arend WP, 1993).

B) Παράγοντες που επηρεάζουν την σύνθεση και δράση της IL-1

Η ποσότητα της IL-1 που παράγεται εξαρτάται από τον τύπο του κυττάρου και τις συνθήκες διέγερσής του. Για παράδειγμα, τα μονοκύτταρα/μακροφάγα είναι πιο αποδοτικά στην έκκριση της IL-1β από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες και τα λεία μυϊκά κύτταρα, ενώ παράγουν ποσότητα 10 φορές περισσότερη από τα κυψελιδικά μακροφάγα ή τα μακροφάγα του αρθρικού υμένα (March CJ, 1985, Tocci MJ, 1997). Περίπου το 70% της IL-1β εκκρίνεται από τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος και μάλιστα μέσα σε 24 ώρες από την διέγερσή τους.

Ο κύριος διεγέρτης μεταγραφής και παραγωγής της IL-1 είναι η ενδοτοξίνη LPS και για την μεταγραφή και μετάφραση του γονιδίου της από τα ανθρώπινα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος χρειάζονται 5 μόρια ενδοτοξίνης/μονοκύτταρο.

Η μεταγραφή του mRNA της IL-1β είναι πολύ πιο γρήγορη από ότι του mRNA της IL-1α, ενώ η ποσότητα του mRNA της IL-1β είναι περίπου 25-50 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη της IL-1α (Demczuk S, 1987). Η ενδοτοξίνη διεγείρει μέσα σε 15 λεπτά τη μεταγραφή του mRNA της IL-1β στα μακροφάγα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα λεία μυϊκά κύτταρα και στα μονοκύτταρα (Fenton MJ, 1987, Schindler R, 1990). Το ανώτατο επίπεδο παραγωγής του mRNA της IL-1β πετυχαίνεται μέσα σε 3-4 ώρες, διατηρείται για 6-8 ώρες και κατόπιν μειώνεται απότομα.

Βασικοί παράγοντες που διεγείρουν την παραγωγή της IL-1 είναι τα στοιχεία του συμπληρώματος, η θρομβίνη, τα χολικά άλατα, οι μεταβολίτες των ανδρογόνων, οι gram (+) μικροοργανισμοί (σταφυλόκοκκοι, στρεπτόκοκκοι) και άλλες κυτταροκίνες (όπως ο TNF) (Dinarello CA, 1991).

Σε φυσιολογικές συνθήκες η απελευθέρωση της IL-1 και των αναστολέων της παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοίωση των ιστών, όμως αρκετά μόρια όπως τα κορτικοειδή, η IL-4 (Hart PH, 1989), η IL-6 (Schindler R, 1990), ο TGF-β (Chantry D, 1989), ο πυρετός, η κακή θρέψη (Lee SW, 1988, di Giovine FS, 1990) και η προσταγλανδίνη E₂ (PGE₂) (Kunkel SL, 1986) αναστέλλουν την παραγωγή της.

Η υπερθερμία όταν επιδρά σε μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος υγιών ατόμων στα οποία έχει επιδράσει η LPS ή η φυτοαιμογλουτίνη μειώνει τα επίπεδα της IL-1β, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη αρνητικού παλίνδρομου μηχανισμού μεταξύ υπερθερμίας και παραγωγής της IL-1β, κάτι που συμβαίνει και *in vivo*. Το ίδιο δεν ισχύει (*in vivo*) για τα επίπεδα της IL-1α (Kappel M, 1991).

Στον πίνακα 15 περιγράφονται τα ερεθίσματα για την αύξηση και την μείωση της IL-1.

Πίνακας 15

Ερεθίσματα για την αύξηση και την μείωση της IL-1

Επαγωγικά ερεθίσματα	Ανασταλτικά ερεθίσματα
IL-4, IL-6, TNF- α , TNF- β , INF- γ , GM-CSF Ισχαμία Παράγων C5a του συμπληρώματος Θρομβίνη Μιτογόνα (phorbol esters) Ιοί Ανοσοσυμπλέγματα Χολικά άλατα Μεταβολίτες των ανδρογόνων Βραδυκίνη, λευκοτριένια Τμήμα Fc ανασσφαιρινών Βακτηριδιακές τοξίνες, λιπίδιο A Υπεριώδης ακτινοβολία Πολυσακχαρίτες της κάψας gram (-) βακτηριδίων (LPS) Gram (+) μικροοργανισμοί (σταφυλόκοκκοι, στρεπτόκοκκοι)	TGF- β , IL-2, INF- γ Δεξαμεθανόλη Πρεδνιζολόνη Προσταγλανδίνη E ₂ Ρετινοϊκό οξύ Πυρετός

Γ) Υποδοχείς της IL-1

Υπάρχουν δύο είδη υποδοχέων της IL-1, τύπος I (IL-1RI) και II (IL-1RII). Ο IL-1RI είναι μία ανοσοσφαιρίνη και έχει MB 80 kDa. Αναγνωρίζει και τις δύο μορφές της IL-1 (α και β) και βρίσκεται σε αρκετά ανθρώπινα κύτταρα όπως T-λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες, κερατινοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, κύτταρα αρθρικής κοιλότητας, χονδροκύτταρα και μονοκύτταρα του αίματος. Η IL-1 μετά την σύνδεσή της με αυτόν τον υποδοχέα δεν αποδομείται (Qwarnstrom EE, 1988) και μετά από μερικές ώρες μπορεί να ανιχνευθεί στο πυρηνικό τμήμα του κυττάρου (Curtis BM, 1990). Ο IL-1RII έχει MB 60 kDa και βρίσκεται στην επιφάνεια Β-λεμφοκυττάρων, ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων και κυττάρων του μυελού των οστών.

Το 60% της IL-1 που συνδέεται με τον υποδοχέα τύπου I εσωτερικοποιείται μέσα σε 5 λεπτά, μεταδίδει το μήνυμα ενδοκυτταρίως (signal trasduction) και παραμένει μέσα στο κύτταρο για 12 ώρες, ενώ οι υποδοχείς τύπου II διατηρούν την IL-1 πάνω στην επιφάνεια τους πάνω από μία ώρα και εσωτερικοποιούν ένα πολύ μικρό ποσοστό της (Horuk R, 1987). Η διαλυτή μορφή του IL-1RII συνδεόμενη με την IL-1 β , την εμποδίζει να συνδεθεί με τον IL-1RI, αναστέλλοντας με αυτό τον τρόπο την βιολογική της δράση. Η IL-1RA αναστέλλει τις δράσεις των IL-1 α και L-1 β ανταγωνιζόμενη τον κοινό τους υποδοχέα (IL-1RI) επί της κυτταρικής επιφάνειας (Colotta F, 1994) έχοντας γι' αυτόν μεγαλύτερη συγγένεια (Arend WP, 1993).

Δ) Αναστολείς υποδοχέων της IL-1

Ο αναστολέας των υποδοχέων της IL-1 αναστέλλει τη δραστηριότητα της *in vivo* και *in vitro*. Είναι πρωτεΐνη με MB 23-25 kDa και συνδέεται μόνο με τους κυτταρικούς υποδοχείς τύπου I. Αρχικά απομονώθηκε από τα ούρα ασθενών με πυρετό (Seckinger P, 1987) και στη συνέχεια από ασθενείς με μονοκυτταρική λευχαιμία (Mazzei GJ, 1990). Ο φυσικός αναστολέας των υποδοχέων της IL-1 αναστέλλει τη δράση της στα κύτταρα της αρθρικής κοιλότητας, με αποτέλεσμα την αναστολή παραγωγής της PGE₂, τον πολλαπλασιασμό των θυμοκυττάρων, την παραγωγή κολλαγενάσης από τους ινοβλάστες και τα χονδροκύτταρα και τη μείωση της απελευθέρωσης ινσουλίνης από τα β -κύτταρα του παγκρέατος (Dayer JM, 1985, Balavoine JF, 1986, Dayer-Métroz MD, 1989). Παράγεται από τα ίδια κύτταρα που παράγουν την IL-1 και έχουν το ίδιο MB με την δραστική IL-1 (Arend WP, 1991). Η ύπαρξη αυξημένων επιπέδων ανταγωνιστών της IL-1 σε ασθενείς με ποικίλες

νόσους, υποδηλώνει ότι ο ανταγωνισμός στην IL-1 αποτελεί μέρος της απάντησης του ξενιστή στη νόσο (Dinarello CA, 1993 & 1996).

Ο IL-1Ra είναι συναγωνιστικός αναστολέας της δράσης της IL-1. Ο όρος IL-1Ra αναφέρεται σε δύο διαφορετικές πρωτεΐνες, κωδικοποιούμενες από το ίδιο γονίδιο, οι οποίες προκύπτουν μέσω εναλλακτικού ματίσματος που δημιουργεί δύο διαφορετικά πρώτα εξόνια. Η μία ισομορφή (17kD) εκκρίνεται, ενώ η άλλη (18kD) παραμένει στο κυτταρόπλασμα. Συναγωνίζεται τις IL-1α και IL-1β για τους ίδιους υποδοχείς, παρεμποδίζοντας έτσι την ενεργοποίηση του κυττάρου στόχου και δεδομένου ότι η πρόσδεσή του δεν προκαλεί ενεργοποίηση, μπορεί να θεωρηθεί αμιγώς ως ανταγωνιστής.

Σημαντικά χρονολογικά ορόσημα αναφορικά ως προς τις, έως σήμερα, γνώσεις για τον IL-1Ra (RN), παρατίθενται στον πίνακα 16.

Πίνακας 16

Σημαντικά χρονολογικά ορόσημα σχετικά με την αποκάλυψη και το ρόλο του IL-1RN

IL-1RN	
1990:	Κλωνοποίηση, έκφραση, βιολογικός χαρακτηρισμός, mRNA 1684bp από H. Sapiens (Carter DB).
1992:	Χαρτογράφηση του γονιδίου του IL-1RN στη χρωμοσωμική θέση 2q14-q21, περιοχή όπου βρίσκονται οι τόποι των IL-1A και IL-1B, με χρήση πολυμορφισμού ποικίλου μεγέθους που βρίσκεται στο 2 ^ο ιντρόνιο (Steinkasserer).
1992:	Χαρτογράφηση του γονιδίου του IL-1RN στη χρωμοσωμική θέση 2q13-q14.1 με χρήση FISH (Lennard) και δημοσίευση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του IL-1RN από H. Sapiens DNA12565bp (Lennard, Carrier MJ).
1993:	Προσδιορισμός της θέσης του γονιδίου του IL-1RN στην τοποθεσία 2q14.2 (Patterson D)
1993:	Ο πολυμορφισμός στο 2ο ιντρόνιο του γονιδίου του IL-1RN αφορά σε ένα VNTR με μέγεθος επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας 86 bp, υπάρχουν πέντε αλληλόμορφα του γονιδίου με 2-6 επαναλήψεις της αλληλουχίας αυτής (Tarlow JU).
1994:	Το αλληλόμορφο 2 (με 2 επαναλήψεις) συσχετίζεται με σοβαρότερο κλινικό αποτέλεσμα σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις. Σε μια σειρά μελετών προκύπτουν συσχετισμοί με : <ul style="list-style-type: none"> • Συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (Blakenore AF). • Ελκώδη κολίτιδα (Mansfield JC) • Alopecia Areat (Zarlow).
1994:	Ο VNTR πολυμορφισμός συσχετίζεται για πρώτη φορά με την εμφάνιση της ΣΚΠ (Crusius).
1995-2000:	Σειρά μελετών σε διάφορους πληθυσμούς αποπειράται να διερευνήσει τη συσχέτιση του VNTR πολυμορφισμού με την επιρρέπεια προς εκδήλωση ΣΚΠ, ή με τη βαρύτητα και την πορεία της νόσου. Τα αποτελέσματα συχνά διαφέρουν, πιθανώς λόγω του διαφορετικού εθνολογικού υπόβαθρου των πληθυσμών.
1996:	Συσχετισμός του αλληλόμορφου 2 με διαβητική νεφροπάθεια (Blakemore). Τα αλληλόμορφα 1 (4 επαναλήψεις) και 2 (2 επαναλήψεις) είναι τα πιο συχνά στον πληθυσμό, ενώ το συνολικό ποσοστό της εμφάνισης των υπολοίπων 3 αλληλόμορφων δεν ξεπερνά το 5% (Blakemore).

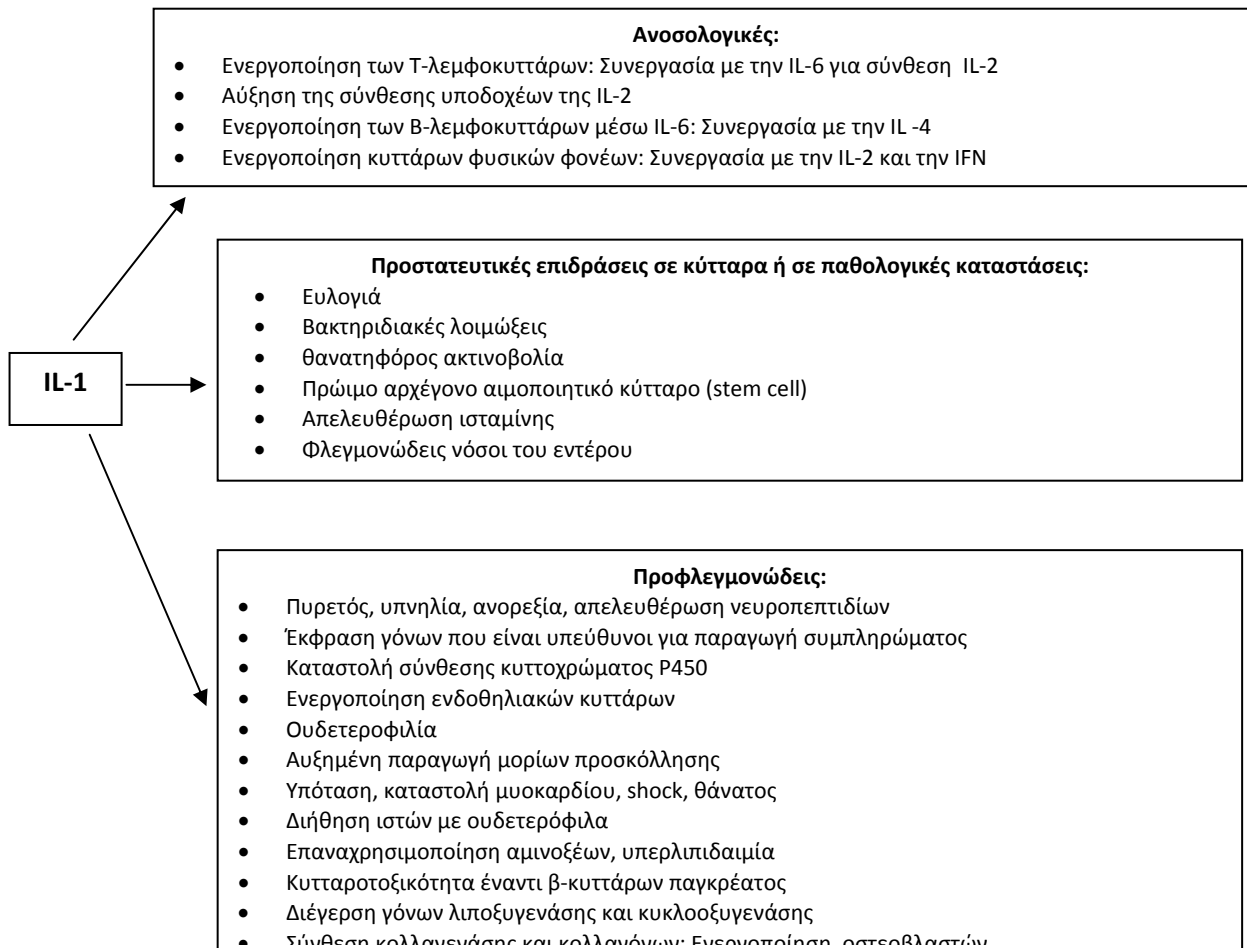
1997:	Η εκκρινόμενη, αλλά όχι και η κυτταροπλασματική, ισομορφή της IL-1Rα πρωτεΐνης παράγεται στα ηπατοκύτταρα και ρυθμίζεται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες ως πρωτεΐνη οξείας φάσης (Gabay C.)
2000:	Ο γονότυπος IL-1RN/IL-1RN αυξάνει τόσο την πιθανότητα χρόνιας υποχλωρυδρικής απάντησης σε λοίμωξη (προσβολή) από <i>Helicobacter pylori</i> , όσο και τον κίνδυνο καρκίνου του στομάχου. Ο πολυμορφισμός επανάληψης 86 bp στο γονίδιο του IL-1RN συσχετίζεται πιθανώς με αυξημένο κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων (Langdahl).

Ε) Βιολογικές και καταβολικές επιδράσεις της IL-1

Η IL-1 εμπλέκεται στην παθογένεια πολλών παθολογικών καταστάσεων, ειδικά φλεγμονωδών και αυτοάνοσων, διαμεσολαβώντας στη σειρά αυτή των αμυντικών αντιδράσεων που συλλογικά αποκαλούνται αντίδραση οξείας φάσεως και ασκεί επιδράσεις πάνω σε μεγάλη ποικιλία γονιδίων.

Οι κύριες βιολογικές επιδράσεις της IL-1 φαίνονται στο σχήμα 1, ενώ η διεγερτική ή κατασταλτική της επίδραση πάνω σε γονίδια διαφόρων ουσιών στον πίνακα 17.

Σχήμα 1
Βιολογικές επιδράσεις της IL-1



Πίνακας 17

Διεγείρει τα γονίδια	Καταστέλλει τα γονίδια
IL -1, IL 2, IL -3, IL-4, IL-5 IL-6, IL-1, IL-8, TNF-α, TNF-β IFN-β1, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-2R Μεταλλοπρωτεϊνάσης, κερουλοπλασμίνης Συμπληρώματος C ₂ , παράγοντα B Υπεροξειδίου της δισμουτάσης του μαγγανίου Κυκλοοξυγενάσης, φωσφολιπάσης A ₂ Προ-προϊνσουλίνης Platelet-derived growth factor (PDGF) Μορίων προσκόλλησης Ογκογόνων G-πρωτεΐνης Ρυθμιστικού παράγοντα IFN Ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου Αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου Προενδοθηλίνης-1 Παράγοντα που διεγείρει την απελευθέρωση κορτικοτροπίνης Αμυλοειδούς A και B Κολλαγενάσης	Λευκωματίνης Κυττοχρώματος P450 Λιποπρωτεϊνικής λιπάσης Αρωματάσης Αλδοστερόνης Θυρεοσφαιρίνης Θυρεοειδικής υπεροξειδάσης

ΣΤ) Κυτταρικές δράσεις της IL-1

B- και T- λεμφοκύτταρα

Στην επιφάνεια των B- και T-λεμφοκυττάρων, όταν δεν είναι διεγερμένα, υπάρχουν 200-600 υποδοχείς της IL-1/κύτταρο. Η IL-1 ενεργεί με πλειοτροπική δράση στα B- και T-λεμφοκύτταρα, σαν βοηθητικός παράγοντας κατά την διάρκεια της διαδικασίας ενεργοποίησής τους. Έτσι, στα B-λεμφοκύτταρα διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση προς πλασματοκύτταρα, ενώ στα T-λεμφοκύτταρα τον πολλαπλασιασμό, την έκφραση του υποδοχέα της IL-2 και την

παραγωγή άλλων κυτταροκινών. Επίσης η IL-1 προκαλεί την παραγωγή άλλων παραγόντων που διεγείρουν τα Β-λεμφοκύτταρα, όπως η IL-2, η IL-4 και η IL-6.

Ηπατοκύτταρα

Στο ήπαρ η IL-1 επάγει την παραγωγή των λεγόμενων πρωτεϊνών οξείας φάσης που απελευθερώνονται ως απάντηση σε κυτταρικό τραυματισμό. Έτσι, στα ηπατοκύτταρα αυξάνει την παραγωγή ορισμένων φυσιολογικών πρωτεϊνών κατά 2-3 φορές και μερικών παθολογικών πρωτεϊνών κατά 100-1000 φορές. Συγκεκριμένα, η IL-1 διεγείρει τα ηπατοκύτταρα να συνθέσουν αμυλοειδές Α, ινωδογόνο, παράγοντες του συμπληρώματος, παράγοντα Β και λιπαρά οξέα (διαμέσου αύξησης των επιπέδων των κιτρικών του ήπατος) (Grunfeld C, 1990). Ωστόσο, μειώνει τη μεταγραφή του mRNA της λευκωματίνης, της τρανσφερίνης, της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL) και των κυττοχρωμάτων.

Ενδοθηλιακά κύτταρα

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν IL-1β μετά από επαγωγή από θρομβίνη, LPS και IL-1. Στην IL-1 τα ενδοθηλιακά κύτταρα απαντούν με την παραγωγή IL-6, IL-8, χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (MCP), μορίων προσκολλησεως (ICAM-1) και Ε-σελεκτινών (Tocci MJ, 1997). Επίσης δια μέσου της παραγωγής των προσταγλανδινών (PGE₂, PGI₂) και παραγόντων ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) παρατηρείται αύξηση της πηκτικότητας (Rossi V, 1985). Ενδοφλέβια έγχυση IL-1 αναπαράγει την συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση που παρατηρείται στο σηπτικό σοκ: υπόταση (λόγω απελευθέρωσης NO και προσταγλανδινών), μειωμένη αιματική ροή, οξέωση, πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατος. Η αντίδραση αυτή αυξάνεται με ταυτόχρονη χορήγηση TNF-α (Okusawa S, 1988).

Αγγειακές λείες μυϊκές ίνες

Σε απάντηση στην IL-1 παρατηρείται χάλαση των αγγειακών λείων μυϊκών ινών, που οφείλεται σε επαγωγή της δράσης της iNOS με ταυτόχρονη αύξηση της παραγωγής του NO (Dejana E, 1987).

Λιποκύτταρα

Η IL-1β φαίνεται να διεγείρει την λιπόλυση τόσο άμεσα, όσο και έμμεσα (Feingold KR & Grunfeld C, 1992). Επώαση λιποκυττάρων με IL-1β για 2 ώρες δεν προκαλεί λιπόλυση, αλλά μετά από 6 ώρες παρατηρήθηκε δοσοεξαρτώμενη διέγερσή της, ενώ η μέγιστη διέγερσή της παρατηρήθηκε μετά από χορήγηση 100 ng/ml IL-1β (Feingold KR, 1992). Η επίδραση αυτή ασκείται διαμέσου έκκρισης προσταγλανδινών (PGS) και καταστέλλεται με χορήγηση ινδομεθακίνης. Τέλος, η IL-1 διεγείρει την παραγωγή κατεχολαμινών, γλουκαγόνου και κορτιζόλης, ουσιών που επίσης διεγείρουν τη λιπόλυση.

Κύτταρα αρθρικής κοιλότητας, οστεοκύτταρα και χονδροκύτταρα

Η IL-1 διεγείρει την παραγωγή κολλαγενάσης στα κύτταρα της αρθρικής κοιλότητας, ενώ έγχυση IL-1 σε αρθρική κοιλότητα προκαλεί χαρακτηριστικές διαταραχές αρθρίτιδας (Feige U, 1989).

Η IL-1 στα οστεοβλαστικά κύτταρα αυξάνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την σύνθεση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, ενώ ανταγωνίζεται τη

δράση της αλκαλικής φωσφατάσης, η δράση της οποίας διεγείρεται από την βιταμίνη D₃. Η προσθήκη IL-1 σε καλλιέργειες οστού προκαλεί έντονη απορρόφηση και συρρίκνωση της θεμέλιας ουσίας του. Μετά από υποδόριες εγχύσεις IL-1α και IL-1β παρατηρείται αξιοσημείωτη δόσοεξαρτώμενη αύξηση του ασβεστίου πλάσματος, αυξημένος αριθμός οστεοκλαστών και επιφάνειες που φανερώνουν ιστολογικά απορρόφηση οστού (Sabatini M, 1988). Καταδεικνύεται έτσι ο ρόλος των IL-1α και IL-1β στη ρύθμιση της ομοιόστασης του ασβεστίου του εξωκυττάρου υγρού.

Η IL-1 αυξάνει την παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνών και πρωτεογλυκανών από τα χονδροκύτταρα, αλλά και της PGE₂ η οποία επιτείνει τη φλεγμονή της άρθρωσης, διεγείρει την απορρόφηση του οστού και ρυθμίζει την ανασοαπάντηση. Επίσης διεγείρει τα χονδροκύτταρα να παράγουν κολλαγόνο τύπου I και III που αποτελούν χαρακτηριστικό των ινοβλαστών, ενώ μειώνει την σύνθεση του τύπου II και IX που χαρακτηρίζουν τον υαλώδη χόνδρο (Goldring MB, 1988). Παράλληλα προάγει την απορρόφηση της θεμέλιας ουσίας του χόνδρου διαμέσου πρωτεόλυσης. Αυτές οι μεταβολές οδηγούν σε μη φυσιολογική ανάπλαση του χόνδρου η οποία οδηγεί σε μεγαλύτερη διάβρωση του.

Ινοβλάστες

Η IL-1 αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και προκαλεί άμεσα την αύξηση της μεταγραφής του γονιδίου του κολλαγόνου τύπου I, III και IV της βασικής μεμβράνης. Η IL-1 που παράγεται από την μικρογλοία και τα αστροκύτταρα του εγκεφάλου, θεωρείται ότι προκαλεί τοπική γλοίωση.

Κύτταρα σπειράματος (μακροφάγα, μεσαγγειακά κύτταρα, πολυμορφοπύρρηνα)

Η διήθηση των σπειραμάτων από μονοκύτταρα/μακροφάγα αποτελεί χαρακτηριστικό της σπειραματονεφρίτιδας και σχετίζεται με την εμφάνιση πρωτεϊνουρίας και μείωση της νεφρικής λειτουργίας (Hooke DH, 1984, Bolton WK, 1987). Η IL-1 που εκκρίνεται από τα μακροφάγα συμβάλλει στην αύξηση της ανοσολογικής και φλεγμονώδους απάντησης και συμμετέχει στην παθογένεια της φλεγμονής και της ιστικής βλάβης (Matsumoto K, 1989). Η σπειραματική βλάβη πρέπει να οφείλεται στην ικανότητα που έχουν οι ουσίες αυτές να διεγείρουν τα κύτταρα του σπειράματος για παραγωγή μεσολαβητών της φλεγμονής, ελευθέρων ριζών, μεταβολιτών του αραχιδονικού οξέος και ουδέτερων πρωτεϊνών.

Η τοπική παραγωγή της IL-1 από τα μεσαγγειακά κύτταρα είναι υπεύθυνη για την διατήρηση της σπειραματικής υπερδιήθησης και ρυθμίζει την έκταση της κυτταρικής υπερπλασίας και την παραγωγή της θεμέλιας ουσίας κατά την διάρκεια των χρόνιων μορφών σπειραματονεφρίτιδας (Lovett DH, 1983). Βέβαια η IL-1β διεγείρει τα μεσαγγειακά κύτταρα για παραγωγή και απελευθέρωση IL-6 και IL-8, κυτταροκίνες που συμβάλλουν στην νεφρική βλάβη (Abbott F, 1991).

Από καλλιέργειες κυττάρων διαπιστώθηκε ότι η IL-1β και ο TNF που παράγονται από σπειραματικά κύτταρα σε παθολογικές καταστάσεις είναι μεσολαβητές της φλεγμονής και διεγείρουν τα επιθηλιακά κύτταρα του σπειράματος να παράγουν χημειοτακτικούς παράγοντες για τα πολυμορφοπύρρηνα (Watanabe T, 1990) και τα μονοκύτταρα (Zoja C, 1991). Τα κορτικοειδή, που

αποτελούν αποτελεσματικό θεραπευτικό μέσο για τις σπειραματονεφρίτιδες έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την τοπική παραγωγή των χημειοτακτικών παραγόντων (Watanabe T, 1990).

I) IL-1 και ΚΝΣ

Η IL-1 του αίματος επιδρά σε ενδοθηλιακά κύτταρα του περικολιακού συστήματος με αποτέλεσμα να διακόπτεται ο BBB. Ωστόσο υποδοχείς της IL-1 έχουν διαπιστωθεί σε εγκεφαλικά κύτταρα, ενώ τα νευρογλοιακά κύτταρα και πιθανόν τα νευρικά κύτταρα συνθέτουν IL-1 (Frei K, 1989, Dinarello CA, 1991). Επίσης, ανοσοϊστοχημικές χρώσεις ανθρώπινου εγκεφαλικού ιστού ανέδειξαν ότι οι νευρώνες του υποθαλάμου παράγουν IL-1β (Breder CD, 1988). Η IL-1 διεγείρει τον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια να παράγει βιοενεργά νευροπεπτίδια τοπικά και στην συστηματική κυκλοφορία όπως αδενοτρόπο (ACTH), γαλακτοτρόπο (leuteinizing hormone-LH), θυρεοτρόπο (thyroid stimulating hormone-TSH), αυξητική (growth hormone-GH) και κορτικοτρόπο (corticotropin relasing factor-CRF) ορμόνη (Bernton EW, 1987). Τέλος, η IL-1 επάγει την απελευθέρωση κορτικοστεροειδών, ενώ έχει και πυρετογόνο δράση και μάλιστα η IL-1β έχει 5 φορές ισχυρότερη πυρετογόνο δράση από την IL-1α (Davidson J, 1990).

IA) IL-1 και ΣΚΠ

Σε φυσιολογικούς ιστούς του ΚΝΣ σχεδόν δεν υπάρχει έκφραση της IL-1β. Τα επίπεδα της όμως στον ορό και στο ΕΝΥ ανεβαίνουν κατά τη φάση της έξαρσης της ΣΚΠ, ενώ περιορίζονται με τη χρήση κορτικοστεροειδών (Altintas A, 1997). Επίσης, έχει βρεθεί ότι στη ΣΚΠ αυξημένα επίπεδα των IL-1α και IL-1β ανευρίσκονται εντός και περιμετρικά των ορίων των βλαβών της νόσου, παραγόμενες από τα μακροφάγα και τα κύτταρα της μικρογλοίας (Woodroofe MN, 1993, Cannella B, 1995), ενώ είναι πιθανή η εμπλοκή τους στην καταστροφή της μυελίνης του ΚΝΣ (Brosnan CF, 1995). Τα ανωτέρω, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι έχουν συσχετισθεί με πολλές χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις (Dinarello CA, 1993), όπως ελκώδη κολίτιδα, ισουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη, ρευματοειδή αρθρίτιδα (Dinarello CA, 1993, Cox A, 1999) και περιοδοντίτιδα (Kornman KS, 1997), υποδηλώνουν ότι οι γλυκοπρωτεΐνες της οικογένειας της IL-1 ενδεχομένως να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην ανοσοπαθγένεση της ΣΚΠ. Ειδικά όσον αφορά στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, έχει αποδειχθεί ότι η φλεγμονώδης απάντηση έχει κεντρικό ρόλο στη ανοσοπαθγένεσή της, ενώ οι IL-1α και IL-1β είναι κυτταροκίνες με σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της φλεγμονώδους απάντησης. Έτσι, πραγματοποιήθηκαν συνδυασμένες sib-TDT και TDT μέθοδοι, καθώς και παραμετρικές και μη παραμετρικές μέθοδοι σύνδεσης για να διερευνηθεί ο ρόλος των γονιδίων της IL-1α και IL-1β στην ασθένεια. Τα αποτελέσματα παρέχουν καινούργιες ενδείξεις συσχετισμού των γονιδίων με την ρευματοειδή αρθρίτιδα και πιθανού ρόλου στη σοβαρή διαβρωτική μορφή της ασθένειας (Kornman KS, 1997).

Ο IL-1Ra, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, συναγωνίζεται τις IL-1α και IL-1β για τους ίδιους υποδοχείς, παρεμποδίζοντας έτσι την ενεργοποίηση του κυττάρου στόχου. Ως αποτέλεσμα, η βιολογική δράση της IL-1 δεν εμφανίζεται στη φυσιολογική και παθοφυσιολογική ανοσιακή και φλεγμονώδη απάντηση. Φαίνεται λοιπόν να παρέχει κάποιου είδους προστασία έναντι της νόσου. Επιπλέον, ο IL-1Ra,

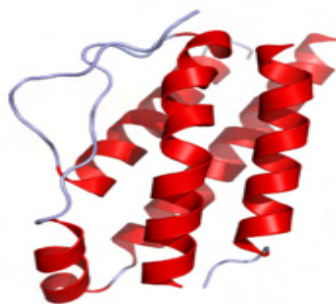
έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την εμφάνιση των κλινικών σημείων της EAE (Martin D, 1995), το πειραματικό ζωϊκό μοντέλο της ΣΚΠ. Σε ασθενείς με RR μορφή της νόσου, τα κυκλοφορούντα στον ορό επίπεδα του IL-1Ra είναι φυσιολογικά κατά τη διάρκεια της περιόδου ύφεσης, αλλά αυξάνονται σημαντικά κατά τη διάρκεια των υποτροπών ή ως αντίδραση στη θεραπεία με INF-β (Nicoletti F, 1996). Έτσι, η τοπική ισορροπία μεταξύ αυτών των φλεγμονωδών κυτταροκινών και ο λόγος της IL-1β προς τον IL-1Ra, φαίνεται ότι επηρεάζουν τη διάσπαση του BBB εντός των απομυελινωτικών πλακών (Hawkins CP, 1990, Martiney JA, 1992) και πιθανόν έχουν μεγαλύτερη σπουδαιότητα για τη νόσο από ότι η κάθε κυτταροκίνη από μόνη της (Martin D, 1995, Badovinac V, 1998).

II. IL-2

Η IL-2 (OMIM 147680) είναι μια χαρακτηριστική κυτταροκίνη τεσσάρων ελίκων (εικόνα 36) και μοριακού βάρους 15 kDa και παρά την σήμανση με τον αριθμό 2, υπήρξε η πρώτη ιντερλευκίνη που ανακαλύφθηκε. Η ανακάλυψη του πρώτου διαλυτού, «ομοιάζων με ορμόνη», μεσολαβητή του ανοσοποιητικού συστήματος έδωσε ώθηση στον τομέα της ανοσολογίας για διερεύνηση του σημαντικού ρόλου όλης της οικογένειας των κυτταροκινών, που έως τότε δεν είχε αναγνωρισθεί. Αρχικά (1965), ανακαλύφθηκε ως διαλυτός παράγοντας με μιτογενή δράση για τα λεμφοκύτταρα σε καλλιέργεια μικτών λευκοκυττάρων και ονομάστηκε Βλαστογενής Παράγοντας (BF) (Gordon J, 1965, Kasakura S, 1965). Στη συνέχεια ονομάστηκε Αυξητικός Παράγων των Τ Κυττάρων (TCGF) (Gillis S, 1978), λόγω της προωθητικής της δράσης στον πολλαπλασιασμό Τ κυττάρων σε καλλιέργειες, ενώ το μόριό της απομονώθηκε αρχικά με χρωματογραφία ανοσοσυγγένειας από τον Kendall Smith και την ομάδα του στη Ιατρική Σχολή του Dartmouth (Smith KA, 1984). Η IL-2 ήταν επίσης η πρώτη κυτταροκίνη που αποδείχθηκε να ασκεί τη δράση της μέσω ενός συγκεκριμένου υποδοχέα – IL-2R (Robb RJ, 1981) – και ήταν επίσης η πρώτη ιντερλευκίνη που κλωνοποιήθηκε και εκφράστηκε από μια συμπληρωματική βιβλιοθήκη DNA (cDNA) (Taniguchi T, 1983).

Στον άνθρωπο, το γονίδιο της IL-2 κωδικοποιείται στο χρωμόσωμα 4q26.

Εικόνα 36
Δομή της IL-2



A) Υποδοχείς της IL-2

Η IL-2 δεσμεύει και σηματοδοτεί μέσω ενός σύνθετου υποδοχέα επιφάνειας (IL-2R), που αποτελείται από τρεις ευδιάκριτες υπομονάδες, τον ειδικό για την IL-2, IL-2 άλφα υποδοχέα (IL-2Rα, CD25), τον IL-2 βήτα υποδοχέα (IL-2Rβ, CD122) και μια κοινή γάμμα αλυσίδα (γc, CD132), την οποία μοιράζονται όλα τα μέλη της οικογένειας των κυτταροκινών (Nelson BH, 1998).

Και οι τρεις υπομονάδες απαιτούνται για σύνδεση υψηλής συγγένειας της IL-2. Όταν συνδέονται μαζί μη-ισοσθενώς αυτές οι τρεις αλυσίδες διαμορφώνουν τη φυσιολογική υψηλής συγγένειας IL-2 περιοχή συνδέσεων (Rubin LA & Nelson DL, 1990). Σε έλλειψη έκφρασης του IL2Rα, ο IL-2Rβ και η γc αλυσίδα μπορούν να διαμορφώσουν μια ενδιάμεση συγγένεια υποδοχέα, που είναι πλήρως ικανή να σηματοδοτεί. Εντούτοις, ο υποδοχέας υψηλής συγγένειας εμφανίζεται να είναι η μόνη φυσιολογική σχετική μορφή του IL-2R, δεδομένου ότι τα CD25-ανεπαρκή ποντίκια (που εκφράζουν την ενδιάμεση συγγένεια του IL-2R μόνο) είναι φαινοτυπικά όμοια με τα IL-2-ανεπαρκή ποντίκια (Schorle H, 1991, Willerford DM, 1995, Sadlack B, 1995). Πρέπει να σημειωθεί ότι η IL-2 είναι στενά συνδεδεμένη με την IL-15 και μοιάζουν αρκετά σε επίπεδο λειτουργίας (Waldmann TA, 2006), καθώς και η IL-15 σηματοδοτεί μέσω των υπομονάδων β και γc του IL-2R, αλλά χρησιμοποιεί μια μοναδική IL-15Rα αλυσίδα αντί των CD25 (Ma A, 2000).

B) Κύτταρα παραγωγής της IL-2

Η IL-2 αποτελεί το κύριο προϊόν ερεθισμού πρωτόγονων T-λεμφοκυττάρων πάνω σε πρωταρχικούς T-λεμφοκυτταρικούς υποδοχείς (TCR) και παράγεται κυρίως από ενεργοποιημένα CD4+ T κύτταρα, αν και έκφρασή της από άδοξα CD8+ T κύτταρα, δένδριτικά κύτταρα και θυμικά κύτταρα, έχει επίσης αναφερθεί (Yang-Snyder JA, 1998, Granucci F, 2001, Bassiri H, 2001, Cheng LE, 2002). Στα T κύτταρα, η σύνθεση της IL-2 ρυθμίζεται στενά σε επίπεδο mRNA, μέσω σημάτων από τον TCR και τα CD28 (Powell JD, 1998). Έχει διαπιστωθεί ότι είναι άφθονη σε μιτωτικά κύτταρα, απ' ότι σε κύτταρα σε άλλες φάσεις του κυτταρικού κύκλου (Lin WC, 1995, Reichert TE, 1998).

Γ) Κυτταρικές δράσεις της IL-2

Η IL-2 θεωρήθηκε αρχικά ως αυτοκρινικό προϊόν έκκρισης από τα ενεργοποιημένα T κύτταρα με ιδιότητες αυξητικού παράγοντα. Στη συνέχεια διαπιστώθηκε ότι η βασική της λειτουργία είναι ο πολλαπλασιασμός και η εξάπλωση των T λεμφοκυττάρων. Η αυτοκρινής και παρακρινής δράση της IL-2 στα CD4+ και CD8+ T λεμφοκύτταρα επάγει τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων, μέσω της ικανότητάς της να προάγει την έναρξη της φάσης S του κυτταρικού κύκλου. Επιπρόσθετα, η IL-2 παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ομοιόστασης και διατήρησης της ανοχής των περιφερικών T κυττάρων (T cell tolerance) και σε έλλειψή της, η εξασθένιση των ρυθμιστικών T κυττάρων μπορεί να είναι η υποκείμενη αιτία της αυτοανοσίας. Έχει επιπλέον, ενεργό ρόλο στην ανάπτυξη και επιβίωση των CD4+ CD25+ T ρυθμιστικών κυττάρων (T_{regs}), ενώ είναι επίσης ικανή να ευαισθητοποιεί τα ενεργοποιημένα T κύτταρα προκειμένου να υποβληθούν σε απόπτωση ή σε κυτταρικό θάνατο, επαγόμενο από ενεργοποίηση, περιορίζοντας την απάντηση της ανοσίας (Malek TR, 2003). Έχει βρεθεί ότι η IL-2 επάγει τον

πολλαπλασιασμό των φυσικών κυττάρων φονέων (natural killer cells, NK) και B κυττάρων (Waldmann TA & Tagaya Y, 1999, Waldmann TA, 2006) και ενισχύει την παραγωγή αντισωμάτων κατά τη διάρκεια χυμικών αποκρίσεων, ενώ τέλος, εμπλέκεται και στην ανάπτυξη των T κυττάρων στον θύμο αδένα, για την ωρίμανση των T_{regs} (Sakaguchi S, 1995, Thornton AM, 1998, Thornton AM, 2004).

Έτσι λοιπόν, η IL-2 θεωρείται σήμερα μία από τις κύριες ανοσορυθμιστικές κυτταροκίνες με προφλεγμονώδη και αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα, προάγοντας τονλλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων κατά τη διάρκεια όλων των διαμεσολαβητικών αντιδράσεων (Abbas AK, 1996) και προωθώντας την επιβίωση και διαφοροποίηση των Th1 και Th2 κυττάρων.

Δ) Ρόλος της IL-2 στην ανοσία και την παθογένεση

Η IL-2 παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της ανοσοποιητικής απόκρισης, που επάγεται από την παρουσία διαφόρων ξενιστών. Συμμετέχει σε μια σειρά οξέων και χρόνιων παθολογικών καταστάσεων, λόγω της φύσης και του ρόλου της στην ανάπτυξη, διαφοροποίηση και ρύθμιση των T κυττάρων. Σ' αυτές περιλαμβάνεται μεταξύ άλλων η αυτοανοσοποιητική νόσος, αλλά και η παθογένεση που προκαλείται από την παρουσία ιών, όπου η έκφραση της IL-2 απορυθμίζεται.

Έχει χρησιμοποιηθεί κλινικά για την ενίσχυση της ανοσίας των T κυττάρων σε ασθενείς με AIDS ή καρκίνο, ανεβάζοντας τα επίπεδα των CD4 κυττάρων, ενώ εμποδίζοντας αντισώματα έναντι του IL-2R, χρησιμοποιείται για να εμποδίσει την απάντηση των T κυττάρων έναντι μεταμοσχευμένων ιστών.

Έχει δειχθεί ότι ποντίκια με έλλειψη του γονιδίου της IL-2 αναπτύσσουν ένα φυσιολογικό ανοσοποιητικό σύστημα και δεν εκδηλώνουν κάποιας μορφής ανοσοανεπάρκεια. Ωστόσο, τα ποντίκια αυτά εμφανίζουν λεμφοειδή υπερπλασία και παράγουν μεγάλες ποσότητες αυτο-αντισωμάτων, καταλήγοντας σε παθολογικές καταστάσεις, όπως αιμολυτική αναιμία, χρόνια φλεγμονώδης νόσος του εντέρου και σοβαρή μορφή αυτοανοσίας, που παρατηρείται σε ποντίκια γεροντικής ηλικίας, δείχνοντας έτσι ότι η σημαντικότερη φυσιολογική λειτουργία της IL-2 είναι να περιορίζει παρά να ενισχύει τις απαντήσεις των T κυττάρων. Αυτό το προφανές παράδοξο έχει επιλυθεί πρόσφατα με την ανακάλυψη ότι η IL-2 είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη και τη περιφερική επέκταση των ρυθμιστικών CD4+ CD25+ T κυττάρων, τα οποία προωθούν την αυτο-ανοχή, καταστέλλοντας τις απαντήσεις των T κυττάρων *in vivo*. Έτσι η έλλειψη του γονιδίου της IL-2 έχει συσχετιστεί με απουσία CD4+ CD25+ T_{regs} και ανώμαλο κυτταρικό θάνατο των T κυττάρων, που πιθανό να συνεισφέρουν στα αυξημένα επίπεδα αυτο-φορτισμένων λεμφοκυττάρων και στη μη-ελεγχόμενη συσσώρευση T κυττάρων στην περιφέρεια.

Απορρύθμιση του συστήματος IL-2/IL-2R μπορεί να οδηγήσει σε μια λειτουργική ή παθολογική τροποποίηση στο σύστημα ανοσίας, περιλαμβάνοντας και την αυτοανοσία (Horak I, 1995, Sadlack B, 1995, Matesanz F & Alcina A, 1999).

Στον άνθρωπο, ελαττωμένη έκκριση ή πλήρης απουσία της IL-2 σχετίζεται με πρωτοπαθείς ή δευτεροπαθείς ανοσοανεπάρκειες (DiSanto JP, 1990). Επιπλέον, σε *in vitro* μελέτες έχει φανεί ότι οι πολυμορφισμοί του γονιδίου της IL-2 επηρεάζουν τα επίπεδα παραγωγής στα περιφερικά λεμφοκύτταρα του αίματος, μετά από ερεθισμό με αντι-CD3/CD28 (Hoffmann SC, 2001).

Η απορρύθμιση της έκφρασης της IL-2 επάγει την εκδήλωση φλεγμονωδών αντιδράσεων και τη δυσλειτουργία των ανοσοποιητικών κυττάρων που παρατηρούνται σε μια σειρά παθολογικών καταστάσεων, όπως η ΕΑΕ στα ποντίκια, η νόσος του Crohn, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου Ι και ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ). Ωστόσο, οι παθογενετικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για την εκδήλωση των παθολογικών αυτών καταστάσεων δεν έχουν πλήρως διαλευκανθεί. Επιπλέον, η ανώμαλη έκφραση της IL-2 εμπλέκεται σε ορισμένες μορφές λευχαιμίας, όπως η λευχαιμία των Τ κυττάρων, που εμφανίζεται σε εφήβους και σχετίζεται με τη λευχαιμία των Τ κυττάρων τύπου 1, που προκαλείται από ιική μόλυνση.

Σημαντικό ρόλο φαίνεται ότι παίζουν τα επίπεδα του διαλυτού στον ορό υποδοχέα της IL-2 [(s)IL-2R], καθώς οι μετρήσιμες αυξήσεις της έκκρισής του σχετίζονται με τη δραστηριότητα της νόσου σε αυτοάνοσες ρευματικές διαταραχές (Campren DH, 1988, Rubin LA, 1990), όπως ο ΣΕΛ (Wolf RE, 1988), η ρευματοειδής αρθρίτιδα (Plater-Zyberk C, 1988) και η πολυμυοσίτιδα (Wolf RE, 1990), αλλά και την απόρριψη άλλο-μοσχευμάτων (Colvin RB, 1987, Adams DH, 1989). Τα επίπεδα του sIL-2R έχει φανεί να ποικίλουν αντιστρόφως με τη χρονιότητα ασθενειών (Adams DH, 1989), ενώ υπερπαραγωγή της IL-2 εμφανίζεται σε ασθενείς με χρόνια αυτοάνοση πάθηση (Kroemer G, 1989).

E) IL-2 και ΚΝΣ

Ισχυρές επιδράσεις της IL-2 στο ΚΝΣ έχουν περιγραφεί, περιλαμβάνοντας δράσεις που σχετίζονται με την κυτταρική ανάπτυξη και επιβίωση, την απελευθέρωση και μεταφορά διαβιβαστών και ορμονών και την τροποποίηση βιοηλεκτρικών δραστηριοτήτων (Hanisch UK & Quirion R, 1995). Η IL-2 πιθανόν να εμπλέκεται στη ρύθμιση του ύπνου και της αφύπνισης, τη λειτουργία της μνήμης, την αλλαγή θέσεως και τη ρύθμιση του νευροενδοκρινικού άξονα. Κυρίως ολιγοδενδροκύτταρα και νευρώνες έχει φανεί να απαντούν στην κυτταροκίνη (Benveniste EN & Merrill JE, 1986, Hanisch UK, 1996, Otero GC & Merrill JE, 1997). Από την άλλη, έχει παρατηρηθεί αξιοσημείωτη νευροτοξικότητα, ως νευροενδοκρινική συνέπεια χρονίως υψηλών επιπέδων IL-2 στο ΚΝΣ (Hanisch UK, 1996). Επιπλέον, μελέτες σε αρουραίους φανερώνουν ότι η IL-2 επάγει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των ολιγοδενδροκυττάρων εντός του ΚΝΣ, χωρίς όμως να συμβάλλει στην παραγωγή νευροτροφινών ή την αναγέννηση των νευρωνικών πληθυσμών.

Στην ΕΑΕ, τα επίπεδα της IL-2 και του mRNA της βρέθηκαν υψηλά εντός του ΚΝΣ κατά τη διάρκεια της επαγωγής και της οξείας φάσης της νόσου και χαμηλά κατά την περίοδο της αποθεραπείας (Kennedy MK, 1992, Jensen MA, 1996). Επιπλέον, η εξάλειψη του γονιδίου της IL-2 μειώνει αξιοσημείωτα την πιθανότητα εκδήλωσης ΕΑΕ σε ποντίκια C57BL/6 (Petitto JM, 2000), ενώ από την άλλη το γονίδιο της IL-2 στα ποντίκια, εντοπιζόμενο σε ένα γονιδιακό τμήμα του χρωμοσώματος 3, έχει συσχετισθεί με εκδήλωση ΕΑΕ (Encinas JA, 1999).

Τα δεδομένα σχετικά με το μοντέλο της δραστηριότητας του IL-2R στη ΣΚΠ είναι συγκρουόμενα. Μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι 70% των ασθενών με ΣΚΠ έχουν επίπεδα ορού του sIL-2R πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο (Hartung HP, 1990, Gallo P, 1991), ενώ άλλες έχουν προτείνει ένα πολύ μικρότερο ποσοστό ασθενών με ομοίως υψηλά επίπεδα (Peter JB, 1991, Chalon MP, 1993). Τα επίπεδα

ορού του sIL-2R έχουν βρεθεί να αποτελούν δείκτες υποτροπής της νόσου (Adachi K, 1990, Capra R, 1990) αλλά έχουν επίσης βρεθεί υψηλά σε κλινικά σταθερή ΣΚΠ (Bansil S, 1991) και στην PP και στην SP μορφή (Greenberg SJ, 1988, Chalon MP, 1993).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί, για πρώτη φορά σε Έλληνες ασθενείς με ΣΚΠ, η πιθανή συσχέτιση των κάτωθι γενετικών πολυμορφισμών: 1) ΤαqI +3953 C/T, του 5^{ου} εξονίου του γονιδίου της IL-1B (Kantarci OH, 2000), 2) Aval -511 C/T, του υποκινητή του γονιδίου της IL-1B (di Giovine FS, 1992), 3) 86bp VNTR πεντ-αλληλικού του 2^{ου} ιντρονίου του γονιδίου του IL-RN (Crusius JB, 1995), 4) MwoI +114 G/T, του 1^{ου} εξονίου του γονιδίου της IL-2 (Matesanz F, 2000) και 5) Bfal -384 G/T, του υποκινητή του γονιδίου της IL-2 (John S, 1998), τόσο με την επιρρέπεια προς εκδήλωση ΣΚΠ, όσο και με επιμέρους κλινικές παραμέτρους της νόσου. Όλοι οι επιλεγέντες πολυμορφισμοί πληρούν τις προϋποθέσεις για να μελετηθούν σε γενετική μελέτη συσχέτισης.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΑΡΤΥΡΕΣ

Πραγματοποιήθηκε αιμοληψία από 397 διαδοχικούς ασθενείς με ΣΚΠ που προσήλθαν στη Νευρολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, κατά το χρονικό διάστημα από τον Ιούλιο του 2002 έως τον Ιούλιο του 2007 και από 375 υγιείς μάρτυρες, με ίδια περίπου κατανομή φύλου και ηλικίας, από την ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλίας, που πρόσφατα χρησιμοποιήθηκαν σε άλλη επιδημιολογική μελέτη (Hadjigeorgiou GM, 2007). Η διάγνωση της νόσου έγινε σύμφωνα με τα διαγνωστικά κριτήρια του Mc Donald (McDonald WI, 2001) και εν συνεχεία τα αναθεωρημένα (Polman CH, 2005). Η ανικανότητα των ασθενών υπολογίσθηκε με βάση την κλίμακα EDSS του Kurtzke (Kurtzke JF, 1983), ενώ για την εκτίμηση του δείκτη της αναπηρίας σε σχέση με το χρόνο (όχι μόνο πόσο ανίκανος ένας ασθενής είναι, αλλά επίσης πόσο γρήγορα αυτό συμβαίνει), χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα MSSS (The Multiple Sclerosis Severity Score), μια δυναμική μέθοδο για τη σύγκριση της προοδευτικότητας της νόσου, με τη χρήση απλών δεδομένων (Roxburgh RH, 2005). Ενοποιεί την κλίμακα EDSS και τη διάρκεια της νόσου, δίνοντας περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη βαρύτητα της νόσου, απ' ό,τι ο δείκτης προοδευτικότητας (progression index) που έχει χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες (Kantarci OH, 2002). Τελευταία μέτρηση της αναπηρίας των ασθενών μας στην κλίμακα EDSS έγινε το Δεκέμβριο του 2007.

Οι ασθενείς με τη RR μορφή της νόσου και αυτοί με τη SP μορφή ταξινομήθηκαν μαζί ως «παροξυσμικής έναρξης» (bout-onset), καθώς τελικά η πλειονότητα των ασθενών με τη RR μορφή μεταπίπτουν στην SP μορφή, ενώ οι ασθενείς με την PP μορφή και την PR μορφή της νόσου, αναφέρονται ως «προοδευτικής έναρξης» (progressive-onset), καθώς η συμπεριφορά τους είναι παρόμοια (Kremenchutzky M, 1999). Επειδή οι δύο αυτές μορφές της ΣΚΠ, «παροξυσμικής έναρξης» και «προοδευτικής έναρξης» πιθανόν να έχουν διαφορετικό ανοσογενετικό υπόβαθρο (Oleary O, 1989), αποφασίσαμε αυθαίρετα να μελετήσουμε στη συγκεκριμένη εργασία μόνο αυτούς με την «παροξυσμικής έναρξης» μορφή της νόσου, που αποτελούσαν άλλωστε και την μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών (n=351).

Από όλους τους συμμετέχοντες (ασθενείς και μάρτυρες) στην έρευνα αποκτήθηκε έγγραφη συγκατάθεση, ενώ όλη η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Το πειραματικό μέρος της μελέτης αποτελείται από τα εξής επιμέρους τμήματα :

- **Απομόνωση γενομικού DNA από εμπύρηννα κύτταρα ολικού αίματος.**
Η απομόνωση πραγματοποιήθηκε με την κλασική τεχνική της εξαλάτωσης (Sambrook J, 1989).
- **Πολλαπλασιασμός συγκεκριμένων περιοχών του DNA με την μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR).**
Περιοχές των γονιδίων της IL-1B, του IL-1RN και της IL-2 πολλαπλασιάστηκαν με PCR, μια τεχνική που επιτυγχάνει την επιλεκτική κλωνοποίηση από το σύνολο του DNA, ενός επιθυμητού τμήματος μεταξύ δύο περιοχών γνωστής αλληλουχίας, με χρήση ζεύγους κατάλληλων εκκινητών.
- **Πέψη των κλώνων του επιθυμητού τμήματος των γονιδίων της IL-1B και της IL-2 που παρήχθησαν με την PCR, από ειδικό περιοριστικό ένζυμο.**
Τα προϊόντα της PCR των γονιδίων της IL-1B και της IL-2 υποβλήθηκαν στην επίδραση συγκεκριμένων ενδονουκλεασών περιορισμού. Πρόκειται για ένζυμα βακτηριακής προέλευσης που αναγνωρίζουν και τέμνουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA με κατεύθυνση 5'→3'. Χρησιμοποιήθηκαν ενδονουκλεάσες τύπου II, οι οποίες αναγνωρίζουν μια ειδική αλληλουχία και τέμνουν το DNA μέσα σε αυτή. Τα ένζυμα τύπου II είναι ιδιαίτερα χρήσιμα στη χαρτογράφηση και μελέτη του DNA, λόγω ειδικότητας αναγνώρισης. Η δράση τους εξαρτάται από την θερμοκρασία, τη σύσταση του διαλύματος επώασης και τη μοριακή σχέση του ενζύμου με το υπόστρωμα. Η αντίδραση έγινε σε ρυθμιστικά διαλύματα που περιέχουν ιόντα Mg^{++} που λειτουργούν ως συμπαραγοντες και ιόντα Na^+ .
- **Αναγνώριση των προϊόντων της PCR και της πέψης και αξιολόγηση των ευρημάτων.**
Η καθαρότητα και η επάρκεια των προϊόντων της PCR ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αгарόζης, όπου πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός των τμημάτων του DNA με βάση το μέγεθός τους. Η ανάδειξη των τμημάτων έγινε με χρώση τους με βρωμιούχο αιθίδιο (φθορίζουσα ουσία που διεισδύει ανάμεσα στις βάσεις του DNA).
Αναλόγως, για τα προϊόντα της πέψης πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αгарόζης. Η αναγνώριση των τμημάτων έγινε με έκθεσή τους σε υπεριώδη ακτινοβολία και ακολούθησε φωτογράφιση.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ

1) ΒΑΣΙΚΕΣ (ΚΟΙΝΕΣ) ΓΙΑ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥΣ

I. Απομόνωση (extraction) DNA με εξαλάτωση από λευκοκύτταρα ολικού αίματος

Βασικό και πρωταρχικό βήμα για την μελέτη οποιοδήποτε πολυμορφισμών αποτελεί η σωστή και αποτελεσματική απομόνωση DNA από κύτταρα του οργανισμού (δημιουργία «αποθήκης» DNA). Αναζητείται μια μέθοδος απομόνωσης DNA που να είναι αποδοτική ποσοτικά και να δίνει DNA σε καλή κατάσταση. Αυτό συμβαίνει όταν το DNA είναι ελεύθερο προσμίξεων και δεν είναι διασπασμένο σε πολύ μικρά κομμάτια που δεν μπορούν να ενισχυθούν και να αναλυθούν.

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι απομόνωσης γενομικού DNA. Η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, όπως το είδος και η ποσότητα των διαθέσιμων κυττάρων, το είδος και η ποιότητα του DNA που θέλουμε να απομονώσουμε. Στο συγκεκριμένη μελέτη εφαρμόστηκε η μέθοδος της εξαλάτωσης (Sambrook J, 1989) (συνολικά τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στον πίνακα 18), που αναλυτικά περιγράφεται κάτωθι:

1η ημέρα

1. Μετά την αιμοληψία, προσθέτουμε EDTA στο αίμα ως αντιπηκτικό, τόσο ώστε, η συγκέντρωσή του στο αίμα να είναι 5 mM.
2. Τοποθετούμε τα 2 ml αίματος από κάθε δείγμα σε σωληνάριο των 15 ml και αραιώνουμε ως 12 ml περίπου με ddH₂O (δισ - απεσταγμένο) και ανακατεύουμε με σιφώνιο pasteur (τα ερυθροκύτταρα λύνονται σε υπότονο περιβάλλον).
3. Φυγοκεντρούμε για 15 min στις 3000 rpm, στους 4 °C (καθιζάνουν τα εμπύρηννα κύτταρα).
4. Αφαιρούμε το υπερκείμενο. Το ίζημα αραιώνεται σε ddH₂O ως 12 ml περίπου. Διαλύουμε με χρήση ταλαντωτή Vortex.
5. Φυγοκεντρούμε για 15 min στις 3000 rpm στους 4 °C.
6. Αφαιρούμε το υπερκείμενο. Το ίζημα αραιώνεται σε ddH₂O ως 12 ml περίπου. Διαλύουμε σε Vortex.
7. Φυγοκεντρούμε για 15 min στις 3000 rpm στους 4 °C.
8. Αφαιρούμε το υπερκείμενο. Προσθέτουμε διάλυμα λύσης λευκοκυττάρων (lysis I) μέχρι τα 12 ml (το lysis I λύνει την κυτταρική μεμβράνη των λευκοκυττάρων).
9. Φυγοκεντρούμε για 15 min στις 3000 rpm στους 4 °C.
10. Επαναλαμβάνουμε τα στάδια 8 και 9 με lysis I.
11. Αφαιρούμε το υπερκείμενο. Προσθέτουμε διάλυμα λύσης των πυρήνων των λευκοκυττάρων (lysis II) μέχρι τα 6 ml. Ανακινούμε καλά και επωάζουμε για 30 min (το lysis II σπάει τους πυρήνες των λευκοκυττάρων και παίρνουμε DNA).
12. Προσθέτουμε 750 μl SDS 10% και 100 μl proteinase K συγκέντρωσης 10 mg/ml (το SDS «ανοίγει» την πυρηνική μεμβράνη, ενώ η proteinase K συμβάλλει στη πεπτιδική υδρόλυση και αποικοδόμηση των πρωτεϊνών).

13. Επώαση στους 37 °C έως την επόμενη ημέρα.

2η ημέρα

14. Προσθέτουμε 2 ml 6M NaCl. Αναδεύουμε ισχυρά για 15 sec (το NaCl σε μεγάλη συγκέντρωση προκαλεί κατακρήμνιση των πρωτεϊνών).
15. Φυγοκεντρούμε για 15 min στις 3500 rpm στους 4 °C.
16. Στο υπερκείμενο υπάρχει το DNA. Μεταγγίζουμε το υπερκείμενο σε καθαρό σωλήνα (falcon των 50 ml).
17. Φυγοκεντρούμε για 15 min στις 3.500 rpm στους 4 °C.
18. Μεταγγίζουμε το υπερκείμενο σε άλλο σωλήνα (falcon των 50 ml).
19. Ακολουθεί καταβύθιση (precipitation) με 2 όγκους αιθανόλης 100%. Προσθέτουμε CH₃COONa, όγκου ίσου με το 1/10 του όγκου που είχαμε πριν τη καταβύθιση (το DNA κατακρημνίζεται με ανάμειξη με αιθανόλη 100%, το άλας CH₃COONa οδηγεί σε συσσωμάτωση των μορίων του DNA μέσω εξουδετέρωσης των αρνητικών φορτίων τους).
20. Επωάζουμε στην κατάψυξη (-20 °C) έως την επόμενη ημέρα.

3η ημέρα

21. Φυγοκεντρούμε για 50 min στις 3500 rpm στους 4 °C (ή αν πιάνει η φυγόκεντρος πολλές στροφές για 30 min στις 8000 rpm).
22. Αφαιρούμε το υπερκείμενο και το ίζημα το βάζουμε σε σωλήνα eppendorf των 2 ml.
23. Ξεπλένουμε το ίζημα με 2 ml 70% αιθανόλης και φυγοκεντρούμε για 30 min στις 1200 rpm στους 4 °C.
24. Επαναλαμβάνουμε το στάδιο 23 άλλες δύο φορές, με τη διαφορά ότι η διάρκεια της φυγοκέντρωσης είναι 20 min.
25. Αφαιρούμε το υπερκείμενο και καλύπτουμε το σωληνάκι με parafilm το οποίο τρυπάμε με καρφίτσα. Το αφήνουμε έως την επόμενη ημέρα.
26. Διαλύουμε το τελικό ίζημα σε ddH₂O όγκου αναλόγως της συγκέντρωσης που επιθυμούμε να έχει το διάλυμα (δεδομένου ότι ποσοτικοποιήσαμε, όπως περιγράφεται παρακάτω, το DNA που απομονώσαμε και γνωρίζουμε τη μάζα του).

Πίνακας 18

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση του γενομικού DNA

- Διάλυμα θραύσης των πυρήνων:
Lysis I [NH_4Cl (155 mM), KHCO_3 (10 mM), EDTA (1 mM), pH 7.4]
Lysis II [Tris (10 mM), NaCl (400 mM), di-Na EDTA (2 mM), Ph 8.2]
- Διάλυμα πρωτεΐνάσης K του μύκητα *Tritichium album* (10 mg/ml)
- Διάλυμα 10% w/v SDS (n-Sodium Dodecylsulfate salt)
- Κορεσμένο διάλυμα 6 M NaCl
- Απόλυτη αιθανόλη
- CH_3COONa (3 M)
- Πηκτή αγαρόζης 1%

II. Προσδιορισμός ποιότητας και συγκέντρωσης του DNA

A) Μέτρηση συγκέντρωσης

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

Συγκεκριμένα, μετράται η οπτική πυκνότητα (OD) υδατικού διαλύματος DNA [αραιωμένο διάλυμα DNA 1:100 - 1000 μl συνολικά, δ/τος ddH₂O και ποσότητας τόσης από το επαναδιαλυμένο DNA του κάθε δείγματος, ώστε να βρισκόμαστε σε τιμές απορρόφησης > 0,1 A (A=Absorption)] σε μήκος κύματος 260 nm και 280 nm σε φωτομετρική κυψελίδα χαλαζία με διαδρομή φωτός 1cm. Η απορρόφηση στα 260 nm αντιστοιχεί στο νουκλεϊνικό οξύ που περιέχεται στο διάλυμα, ενώ η απορρόφηση στα 280 nm αντιστοιχεί στις πρωτεΐνες και άλλες προσμίξεις που έχουν παραμείνει στο διάλυμα.

Η καθαρότητα του DNA, υπό την αίρεση ότι οι απορροφήσεις βρίσκονται για λόγους αξιοπιστίας μεταξύ 0,1 και 0,9 nm, εκτιμάται με βάση το λόγο $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$. Τιμές του λόγου μεταξύ 1,7 και 1,9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA, τιμές μικρότερες του 1,7 φανερώνουν ότι το διάλυμα του DNA περιέχει πρωτεΐνες, ενώ τιμές μεγαλύτερες του 1,9 υποδηλώνουν πρόσμιξη με RNA.

Έχει αποδειχθεί ότι σε μήκος κύματος 260nm τιμή OD ίση με 1 αντιστοιχεί σε συγκέντρωση 50 μg/ml δίκλωνου DNA. Βάσει αυτού του δεδομένου μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση του DNA μετά τη φωτομέτρηση ως εξής:

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

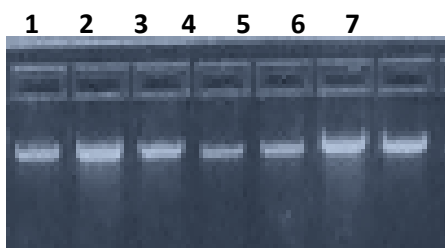
Η μέθοδος αυτή είναι αρκετά ευαίσθητη και μπορεί να ανιχνεύσει ποσότητες DNA μέχρι και 0,2 μg DNA/ml διαλύματος.

Β) Έλεγχος της ποιότητας του DNA σε πηκτή αγαρόζης

Τα αποτελέσματα της απομόνωσης ελέγχονται με ηλεκτροφόρηση (αναλυτικά η μέθοδος περιγράφεται παρακάτω) μικρής ποσότητας (~ 10 μl) διαλύματος DNA από κάθε δείγμα σε πηκτή αγαρόζης 1%, περιέχουσα βρωμιούχο αιθίδιο (EtBr), υπό σταθερή τάση 100 V και ακολουθεί φωτογράφιση της πηκτής σε συσκευή UV με υπεριώδη φωτισμό όπου οι «ζώνες» του DNA φθορίζουν και γίνονται ορατές (εικόνα 37). Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ο έλεγχος της ποιότητας του DNA.

Εικόνα 37

Ηλεκτροφόρηση γενομικού DNA σε πηκτή αγαρόζης 1%
Διαδρομές 1-7: Γενομικό DNA των ασθενών



III. Πολλαπλασιασμός του DNA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Η PCR είναι μια μέθοδος για την *in vitro* κλωνοποίηση συγκεκριμένης αλληλουχίας DNA, εκμεταλλεύομενη ορισμένα χαρακτηριστικά του *in vivo* μηχανισμού αντιγραφής του DNA. Η DNA πολυμεράση χρησιμοποιεί μονόκλωνο μόριο DNA ως εκμαγείο για τη σύνθεση ενός νέου συμπληρωματικού κλώνου, ενώ απαιτεί επίσης την παρουσία ενός μικρού τμήματος δίκλωνου DNA για την έναρξη της σύνθεσης. Το σημείο έναρξης της σύνθεσης μπορεί να καθοριστεί με τη χρήση ενός ολιγονουκλεοτιδικού εναρκτήριου μορίου (εκκινητή, primer) που συνδέεται με την μήτρα σε αυτό ακριβώς το σημείο. Ένα τυπικό πρωτόκολλο PCR περιλαμβάνει πολλούς κύκλους, ο καθένας εκ των οποίων περιλαμβάνει επώαση των δειγμάτων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες, με βάση τα ακόλουθα βήματα:

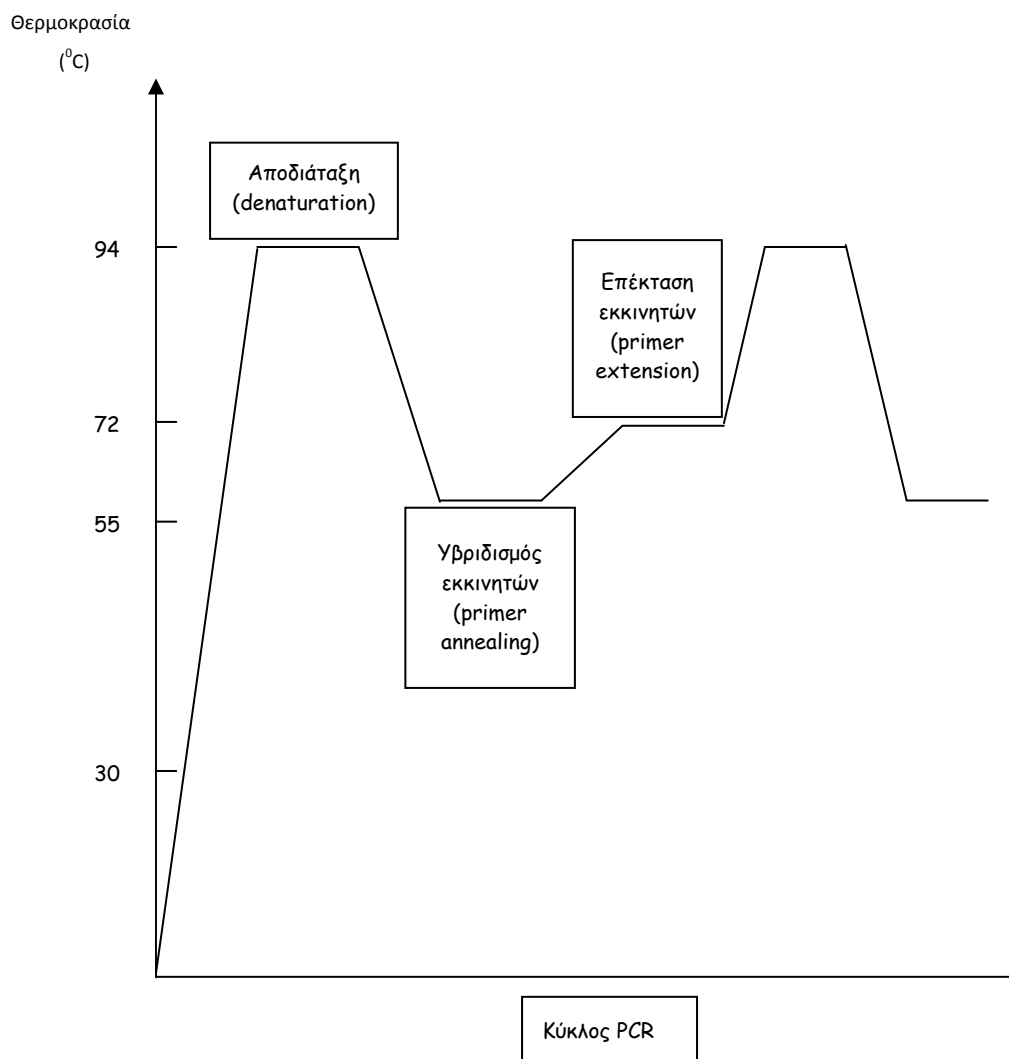
1. Θερμική αποδιάταξη του DNA-εκμαγείου, όπου το δίκλωνο DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο (denaturation).
2. υβριδοποίηση – σύζευξη των εκκινητών με τις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες στα μόρια του μονόκλωνου DNA (primer annealing).
3. Προέκταση – σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας του DNA (extension). Παρουσία Taq DNA πολυμεράσης και dNTPs, οι συμπληρωματικές βάσεις προστίθενται στα 3' άκρα των εκκινητών με βάση την αλυσίδα DNA-εκμαγείο και οι νέες πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες επεκτείνονται. Η σύνθεση DNA γίνεται πάντοτε προς την κατεύθυνση 5'→3'.

Όπως παραστατικά φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα, η τεχνική της PCR περιλαμβάνει μια επαναλαμβανόμενη εναλλαγή ανάμεσα σε μια υψηλή θερμοκρασία για το διαχωρισμό των αλυσίδων του DNA, μια σχετικά χαμηλή θερμοκρασία για τον υβριδισμό των εκκινητών με συμπληρωματικές περιοχές του

DNA-στόχου και μια ενδιάμεση θερμοκρασία για την επέκταση των εκκινητών (διάγραμμα 1).

Διάγραμμα 1

Διάγραμμα θερμοκρασιακής εναλλαγής κατά τη διάρκεια ενός κύκλου PCR



Αναμφισβήτητα, οι θερμοκρασίες για την PCR είναι κρίσιμες, οπότε σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν οι **θερμικοί κυκλοποιητές (thermal cycler)**, οι οποίοι επιτυγχάνουν ακριβή ρύθμιση της θερμοκρασίας. Έχουν την ιδιότητα να επιτρέπουν την αυτοματοποιημένη εναλλαγή της θερμοκρασίας, σύμφωνα με θερμοκρασιακό προγραμματισμό. Επίσης, οι θερμικοί κυκλοποιητές παρέχουν ομοιόμορφη θέρμανση και ψύξη και εξασφαλίζουν τις ίδιες συνθήκες σε όλα τα σωληνάρια που χρησιμοποιούνται για την αντίδραση της PCR. Έτσι, η θερμοκρασία σε κάθε σωληνάριο της αντίδρασης είναι ακριβής και επικρατούν οι κατάλληλες συνθήκες για τον υβριδισμό των εκκινητών, την αποδιάταξη και επέκταση του DNA.

Η επιλογή κατάλληλης θερμοκρασίας και χρόνου σε κάθε στάδιο της αντίδρασης σχετίζεται με την ειδικότητα της αντίδρασης. Πιο συγκεκριμένα, η επιλογή της **θερμοκρασίας και του χρόνου αποδιάταξης** εξαρτάται από το μήκος του DNA-στόχου και την περιεκτικότητά του σε G+C. Για παράδειγμα, υπόστρωμα DNA πλούσιο σε G+C απαιτεί υψηλότερη θερμοκρασία αποδιάταξης, λόγω της παρουσίας 3 δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών βάσεων (σε αντίθεση με το συμπληρωματικό ζεύγος A-T όπου αναπτύσσονται 2 δεσμοί υδρογόνου). Τυπικά, χρησιμοποιούνται θερμοκρασίες 94-95 °C για 3min πριν από τον πρώτο κύκλο για να εξασφαλιστεί η πλήρη αποδιάταξη του DNA-στόχου. Σε μεταγενέστερους κύκλους, τυπικές συνθήκες αποδιάταξης θεωρούνται οι θερμοκρασίες των 94 με 95 °C για 30 με 60 sec. Χαμηλές θερμοκρασίες αποδιάταξης οδηγούν στη μη-ολική αποδιάταξη του DNA-στόχου και/ ή του PCR προϊόντος και εμποδίζουν την ενίσχυση του επιθυμητού τμήματος του DNA. Αντίθετα, υψηλές θερμοκρασίες και/ή μεγάλη διάρκεια αποδιάταξης προκαλούν αποδιάταξη της Taq DNA πολυμεράσης και απώλεια της ενεργότητάς της.

Η επιλογή της κατάλληλης **θερμοκρασίας υβριδισμού των εκκινητών** εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους, το μήκος και την αλληλουχία των βάσεων τους. Η ιδανική θερμοκρασία υβριδισμού ρυθμίζεται γενικά 5 °C χαμηλότερα από το σημείο τήξης (T_m) των εναρκτήριων ολιγονουκλεοτιδίων. Θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 55 με 65 °C, αποδίδουν τα καλύτερα αποτελέσματα. Η αύξηση της θερμοκρασίας υβριδοποίησης, αυξάνει την ειδικότητα του τελικού προϊόντος. Αυτό συμβαίνει επειδή επιτυγχάνεται ο περιορισμός της υβριδοποίησης των εναρκτήριων ολιγονουκλεοτιδίων σε μη-ειδικές περιοχές του DNA και εμποδίζεται η προσθήκη λανθασμένων νουκλεοτιδίων στο 3' άκρο των εκκινητών. Εάν η θερμοκρασία είναι χαμηλότερη από τη βέλτιστη, τα προϊόντα της αντίδρασης συχνά περιλαμβάνουν επιπρόσθετα μη-ειδικά τμήματα DNA.

Ο χρόνος για την επέκταση των εναρκτήριων ολιγονουκλεοτιδίων εξαρτάται από το **μήκος** και τη **συγκέντρωση της αλληλουχίας-στόχου**, καθώς και τη **θερμοκρασία** που χρησιμοποιείται **για την αντίδραση επέκτασης**. Συνήθως, ο πολυμερισμός των εκκινητών επιτελείται στους 72 °C. Στη θερμοκρασία αυτή η Taq DNA πολυμεράση προσθέτει 35-100 νουκλεοτίδια ανά δευτερόλεπτο, ανάλογα με το pH, τη συγκέντρωση των ιόντων, το ρυθμιστικό διάλυμα και το είδος του υποστρώματος DNA. Το στάδιο επέκτασης των εκκινητών μπορεί να κυμαίνεται από 1 μέχρι 7 min, ανάλογα με το μήκος του DNA-στόχου που προορίζεται για ενίσχυση (> 1 Kb). Επιπλέον, διάρκεια επέκτασης μεγαλύτερη του 1 min είναι αναγκαία σε αρχικούς κύκλους πολυμερισμού αν η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι πολύ μικρή, ή στα τελικά στάδια όταν η συγκέντρωση του προϊόντος υπερτερεί της συγκέντρωσης του ενζύμου.

Για τη λειτουργία της μεθόδου είναι απαραίτητη η χρήση:

- Ειδικής DNA πολυμεράσης (Τaq DNA πολυμεράσης)
- Ενός ζεύγους συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων, τα οποία ονομάζονται μόρια-εκκινητές (primers)
- Κατάλληλου διαλύματος ελεύθερων 5' τριφωσφορικών δεοξυριβοζονουκλεοτιδίων (dNTPs)
- Κατάλληλης συγκέντρωσης διαλύματος MgCl₂
- Ειδικού ρυθμιστικού διαλύματος για την Taq DNA πολυμεράση
- Μικρής ποσότητας DNA που παίζει το ρόλο του εκμαγείου- μήτρας

Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά:

Στο μόριο του DNA-στόχου υποστηρίζεται ότι για την PCR χρειάζεται τουλάχιστον ένα αντίγραφο του γονιδίου-στόχου για να εξασφαλιστεί η αντιγραφή του. Ο μεγαλύτερος αριθμός των αντιγράφων του DNA-στόχου ενισχύει την πιθανότητα ενός επιτυχούς πολλαπλασιασμού του DNA. Κάθε βλάβη, όπως η ύπαρξη σπασμένου DNA, εμποδίζει την αντίδραση της PCR. Επιπλέον η νουκλεοτιδική αλληλουχία-στόχος μπορεί να είναι άγνωστη, αρκεί να είναι γνωστές οι αλληλουχίες των δύο άκρων της, ώστε να σχεδιαστούν οι απαραίτητοι για τη μέθοδο εκκινητές.

Οι **εκκινητές** δεν θα πρέπει να συνδέονται με ανεπιθύμητες αλληλουχίες DNA για να επιτευχθεί εξειδικευμένη ενίσχυση του DNA-στόχου. Επίσης, πρέπει να έχουν παρόμοια περιεκτικότητα σε G+C, η οποία να κυμαίνεται σε ποσοστό 40% με 60%. Συνήθως, το μήκος των εκκινητών υπολογίζεται από 15 μέχρι 30 νουκλεοτίδια χωρίς συμπληρωματική αλληλοεπικάλυψη στα 3' άκρα τους. Η συγκέντρωσή τους θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 0.1-0.2 μM. Υψηλές συγκεντρώσεις προκαλούν την παραγωγή μη-ειδικών προϊόντων και οδηγούν στη δημιουργία διμερών (primer-dimers) που χρησιμοποιούνται ως DNA-στόχοι. Τέλος, το ζεύγος των εκκινητών που απαιτείται για την ενίσχυση του DNA-στόχου θα πρέπει να διαθέτει παρόμοια θερμοκρασία τήξεως (T_m, melting temperature), ή πιο εξειδικευμένα, θερμοκρασία επαναδιάταξης (T_a, annealing temperature).

Έχει αποδειχθεί ότι η θερμοκρασία τήξεως δίκλωνου DNA είναι συνάρτηση της αλληλουχίας του μορίου και κατά προσέγγιση υπολογίζεται με βάση την περιεκτικότητα του μορίου σε πουρίνες και πυριμιδίνες ως εξής:

$$T_m = (4 \times \text{αριθμός βάσεων G+C}) + (2 \times \text{αριθμός βάσεων A+T})$$

Επιθυμητές T_m κυμαίνονται μεταξύ 55-65 °C.

Η **Taq DNA-πολυμεράση** που απομονώνεται από το θερμοφίλο βακτήριο, *Thermus aquaticus*, αντέχει επαναλαμβανόμενη έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες που απαιτούνται για την αποδιάταξη του DNA, οπότε δε χρειάζεται η προσθήκη νέου ενζύμου μετά από κάθε κύκλο PCR. Επίσης, είναι ενεργή σε θερμοκρασίες, όπου επιτελείται υβριδισμός των εκκινητών επί των συμπληρωματικών επιθυμητών αλληλουχιών. Το εύρος της συγκέντρωσης της Taq DNA πολυμεράσης θα πρέπει να κυμαίνεται στα 1-5U\100μl. Υψηλές συγκεντρώσεις οδηγούν στη δημιουργία μη-ειδικών προϊόντων, ενώ χαμηλές συγκεντρώσεις προκαλούν την παραγωγή ενός

ανεπαρκούς ποσοστού επιθυμητού προϊόντος. Η βέλτιστη θερμοκρασία δράσης του ενζύμου (temperature optimum) κυμαίνεται γύρω στους 72 °C.

Επιπλέον, **ελεύθερα 5'τριφωσφορικά δεοξυριβοζονουκλεοτίδια (dNTPs)** απαιτούνται για τη σύνθεση του DNA. Τα τέσσερα dNTPs (dATP, dTTP, dCTP και dGTP) ενδείκνυνται να χρησιμοποιούνται σε ισοδύναμες συγκεντρώσεις και ανάλογες με την αντίστοιχη της πολυμεράσης, έτσι ώστε να εμποδίζεται η λανθασμένη πρόσδεση νουκλεοτιδίων κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης. Έτσι, οι συγκεντρώσεις των dNTPs θα πρέπει να κυμαίνονται στα 20-200 μM για κάθε δεοξυριβοζονουκλεοτίδιο.

Απαραίτητα για την PCR θεωρούνται και τα **δισθενή κατιόντα μαγνησίου (Mg^{2+})**. Η συγκέντρωση των ιόντων Mg^{2+} επιδρά στον υβριδισμό-πρόσδεση των εκκινητών, στη θερμοκρασία τήξεως του DNA και στη δραστηριότητα του ενζύμου. Η βέλτιστη συγκέντρωση των ιόντων Mg^{2+} είναι 1,5-2 mM. Οι υψηλές συγκεντρώσεις των ιόντων Mg^{2+} αυξάνουν τη συχνότητα λανθασμένης πρόσδεσης νουκλεοτιδίων κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης.

Εκτός από τα αντιδραστήρια, τα οποία άμεσα περιλαμβάνονται στην αντίδραση, η PCR απαιτεί και ένα κατάλληλο **ρυθμιστικό διάλυμα (buffer)**. Το ρυθμιστικό διάλυμα περιέχει **Tris-HCl και άλατα** και καθορίζει το pH της αντίδρασης μεταξύ 8,3 και 8,9.

IV. Ηλεκτροφόρηση

Η ηλεκτροφόρηση ορίζεται ως η μετακίνηση ενός φορτισμένου μορίου υπό την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου. Περιγράφεται από τον τύπο: $v = E \times z / f$. Όπου v είναι η ταχύτητα μετακίνησης κάθε μορίου, z το καθαρό φορτίο του μορίου, E η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου και f ο συντελεστής τριβής. Είναι η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό του DNA με βάση το φορτίο και το μοριακό του βάρος. Στο συγκεκριμένο πειραματικό στάδιο πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης που αποτελεί καθιερωμένη μέθοδο για τον προσδιορισμό του μήκους και της καθαρότητας του DNA. Η μέθοδος είναι απλή, γρήγορη και ικανή να διαχωρίσει τμήματα DNA, τα οποία δεν μπορούν να διαχωριστούν ικανοποιητικά με άλλες τεχνικές.

Η αγαρόζη, που απομονώνεται από φύκη, είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης. Ο πολυσακχαρίτης συνίσταται από D-γαλακτόζη και 3,6-άνυδρο-L-γαλακτόζη που συνδέονται με 1→4 γλυκοζιτικό δεσμό. Επίσης, ο σχηματισμός των πόρων είναι μια φυσική διαδικασία που προκύπτει από την αναδιάταξη των μορίων που την αποτελούν. Συνεπώς, η χαρακτηριστική ανομοιομορφία στο μέγεθος των πόρων οδηγεί σε μικρή διαχωριστική ικανότητα. Ωστόσο, όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα της πηκτής σε αγαρόζη τόσο αυξάνεται και η ικανότητά της να διαχωρίζει μικρού μεγέθους μόρια. Οι πηκτές αγαρόζης ηλεκτροφορούνται συνήθως οριζόντια σε ηλεκτρικό πεδίο σταθερής ισχύος και κατεύθυνσης.

Η πηκτή αγαρόζης παρασκευάζεται λιώνοντας την αγαρόζη στο κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα μέχρις ότου αυτό γίνει εντελώς διαυγές. Το ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε είναι το Tris- Βορικό-EDTA (1×TBE: 10mM Tris, 0.09M Βορικό οξύ, 0.5M EDTA) και pH περίπου 8 και διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου. Είναι ευρέως αποδεκτό ότι το TBE επιτυγχάνει καλό διαχωρισμό και έχει υψηλή ρυθμιστική ικανότητα.

Στη συνέχεια το διάλυμα τοποθετείται σε κατάλληλη συσκευή-εκμαγείο όπου και πήζει. Οι συσκευές που χρησιμοποιούνται είναι οριζόντιες και παρέχουν αρκετά πλεονεκτήματα όπως: (α) δυνατότητα χρησιμοποίησης χαμηλών συγκεντρώσεων αγαρόζης, (β) εύκολη παρασκευή πηκτής με διαστάσεις που κάθε φορά απαιτούνται και (γ) εύκολη και γρήγορη κατασκευή και χρησιμοποίηση των πηκτών.

Ακολούθως, απαραίτητη θεωρείται η ανάμιξη του δείγματος DNA με μια χρωστική (βρωμοφαινόλη: 100 mM EDTA, 20% w/v Ficoll, 1% Bromophenol blue). Με τον τρόπο αυτό το δείγμα γίνεται ορατό και διευκολύνεται η εισαγωγή του στην κατάλληλη περιοχή («πηγαδάκι») της πηκτής αγαρόζης. Στη συνέχεια, όταν εφαρμοστεί το ηλεκτρικό πεδίο (90-100V) κατά μήκος της πηκτής, το DNA κατευθύνεται προς την άνοδο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το DNA καθίσταται αρνητικά φορτισμένο σε ουδέτερο pH, λόγω της παρουσίας των φωσφορικών ομάδων.

Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης οι ζώνες του DNA σε πηκτή αγαρόζης δεν είναι δυνατόν να γίνουν ορατές εκτός αν το DNA βαφεί με κάποιο τρόπο. Για το λόγο αυτό ακολουθεί εμβάπτιση της πηκτής σε διάλυμα βρωμιούχου αιθιδίου. Η ουσία αυτή παρεμβάλλεται ανάμεσα στις βάσεις του DNA. Μετά την τοποθέτηση της πηκτής σε συσκευή UV, οι ζώνες του DNA είναι ορατές, γεγονός που οφείλεται στο φθορισμό της χρωστικής κάτω από την υπεριώδη ακτινοβολία. Ακολουθεί η φωτογράφιση του DNA.

V. Πέψη με ένζυμα περιορισμού

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

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

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

- **Ένζυμα τύπου I:** από τη στιγμή που αναγνωρίζουν την αλληλουχία, μετακινούνται επάνω στο DNA, σταματούν τυχαία 1000 έως 5000 ζεύγη

βάσεων πιο μακριά από το σημείο αυτό και απελευθερώνουν μερικές δεκάδες νουκλεοτίδια.

- **Ένζυμα τύπου II:** αναγνωρίζουν την αλληλουχία και τέμνουν το DNA στο επίπεδο της αλληλουχίας αυτής.
- **Ένζυμα τύπου III:** αναγνωρίζουν μια αλληλουχία και τέμνουν το DNA είκοσι περίπου νουκλεοτίδια πιο μακριά.

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

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

- **Τμήματα με ελεύθερα ή τυφλά άκρα** (blunt ends or flush ends), δηλαδή άκρα χωρίς μονόκλωνες προεξοχές: στην περίπτωση αυτή το ένζυμο τέμνει ακριβώς στο ίδιο επίπεδο και τις δύο αλυσίδες του DNA.

Μετά από μια τέτοιου τύπου τομή, δε μπορεί να γίνει αυτόματη ένωση των δύο τμημάτων που προκύπτουν, παρά μόνο μετά τη δράση του ενζύμου T4 λιγάση, η οποία σχηματίζει έναν φωσφοδιεστερικό δεσμό ανάμεσα στην 5'-φωσφορυλ-ομάδα του ενός κομματιού και την 3'-υδροξυλ-ομάδα ενός άλλου κομματιού.

- **Τμήματα με συνεκτικά ή συμπληρωματικά άκρα**, δηλαδή άκρα με μονόκλωνες προεξοχές: σ' αυτήν την περίπτωση οι τομές μετατοπίζονται η μία σε σχέση με την άλλη στις δύο αλυσίδες.

Μετά από μια τέτοιου τύπου τομή, οι δύο μονόκλωνες συμπληρωματικές ομάδες μπορούν να συζευχθούν. Η θερμοκρασία σύζευξης ενός τετρανουκλεοτιδίου κυμαίνεται στους 12 με 15 °C.

2) ΕΙΔΙΚΕΣ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ

I. IL-1B (+3953)

A) PCR

Για τον πολλαπλασιασμό περιοχής του γονιδίου της IL-1B (στο 5ο εξόνιο) με PCR χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δύο εκκινητές (primers) (Kantarci OH, 2000):

Primer 1 (+3953 F)	5'-GCC ACA GTG AGC AGT AAT AGA-3'
Primer 2 (+3953 R)	5'-CAA CAA CAG GAA GAG AGA ACC-3'

Κατά τη διάρκεια της PCR αντίδρασης, ο primer 1 τοποθετείται προς το 5' άκρο της περιοχής που θέλουμε να πολλαπλασιάσουμε και ο primer 2 τοποθετείται προς το 3' άκρο της.

Συγκεντρωτικά, τα συστατικά της PCR αντίδρασης παρουσιάζονται στον πίνακα 19.

Πίνακας 19
Συστατικά της PCR της IL-1B (+3953)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)	Τελική συγκέντρωση
DNA (200 ng/μl)	5	20 ng/μl
10x PCR Buffer	5	1x
MgCl ₂ (50 mM)	2	2 mM
Primer F (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
Primer R (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
dNTPs (40 pmol/μl)	1,5	1,2 μM
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,5	0,05 U/μl
DdH ₂ O	34	-
Σύνολο	50	

Kantarci OH, 2000

Η PCR αντίδραση πραγματοποιείται σε ένα πρώτο στάδιο στους 95 °C για 7 min, ακολουθούμενο από 32 κύκλους σε θερμικό κυκλοποιητή (Perkin, Elmer). Κάθε κύκλος περιλαμβάνει ένα στάδιο αποδιάταξης (30 sec στους 95 °C), ένα στάδιο σύζευξης των εκκινητών με την μητρική αλυσίδα (30 sec στους 55 °C) και ένα στάδιο επέκτασης των εκκινητών (90 sec στους 72 °C). Μετά το τέλος των κύκλων ακολουθεί το στάδιο προέκτασης με στόχο τη σταθεροποίηση του προϊόντος της αντίδρασης (7 min στους 72 °C) (πίνακας 20).

Πίνακας 20
Συνθήκες της PCR της IL-1B (+3953)

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος	} → 32 κύκλοι
95	7 min	
95	30 sec	
55	30 sec	
72	90 sec	
72	7 min	

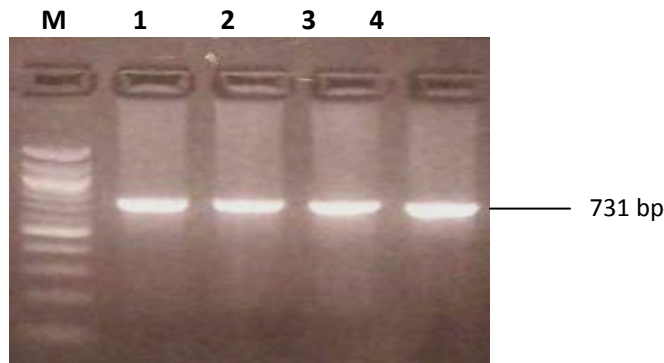
Kantarci OH, 2000

B) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR

Τα προϊόντα της PCR ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης 1,5% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου συγκέντρωσης 1 μg/ml (15 μl προϊόν PCR + 3 μl πυκνή) και έγιναν ορατά με υπεριώδη ακτινοβολία στα 80 V. Ο έλεγχος του μεγέθους του προϊόντος της PCR που ενισχύθηκε έγινε εφικτός μετά από σύγκριση με το μέγεθος των ζωνών γνωστού DNA (marker: 100 bp DNA ladder, BioLabs, 1 μl + 3 μl πυκνή) (εικόνα 38). Το προϊόν της PCR ήταν το αναμενόμενο, στα 731 bp.

Εικόνα 38

Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR της IL-1B (+3953) σε πηκτή αгарόζης 1,5%
Διαδρομή 1-4: προϊόντα της PCR, διαδρομή M: Marker (100 bp DNA ladder)

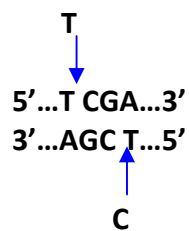


Γ) Πέψη με περιοριστικό ένζυμο

Το προϊόν της PCR του γονιδίου της IL-1B (+3953) υποβλήθηκε σε πέψη από την ενδονουκλεάση περιορισμού TaqI (BioLabs), μέλος μιας ομάδας ενζύμων βακτηριακής προέλευσης που αναγνωρίζουν και τέμνουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA, με κατεύθυνση 5'→3'. Το ένζυμο TaqI αναγνωρίζει και τέμνει την αλληλουχία που παρουσιάζεται στην εικόνα 39.

Εικόνα 39

Αλληλουχία που αναγνωρίζει και τέμνει (στα μπλε βέλη) το ένζυμο TaqI



Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την πέψη παρουσιάζονται στον πίνακα 21.

Πίνακας 21

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την πέψη του προϊόντος της PCR της IL-1B (+3953)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)
Προϊόν PCR	30
Ένζυμο TaqI (10 u/μl)	1
10x Buffer R (Na ⁺ , Mg ²⁺)	4
ddH ₂ O	5
Τελικός όγκος	40

Kantarci OH, 2000

Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία 65 °C έως την επόμενη ημέρα.

Δ) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης

Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα της πέψης, καθώς και το μέγεθος των τμημάτων ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση 10 μl διαλύματος έκαστου εκ των προϊόντων της πέψης, σε πηκτική αгарόζης 2% περιέχουσα βρωμιούχο αιθίδιο συγκέντρωσης 1 μg/ml, υπό σταθερή τάση 80 V και ακολούθησε φωτογράφιση της πηκτής υπό υπεριώδη φωτισμό, όπου οι «ζώνες» του DNA φθορίζουν και γίνονται ορατές. Ως marker χρησιμοποιήθηκε ο 100 bp DNA ladder (BioLabs).

Με τη χρήση του περιοριστικού ενζύμου TaqI αναγνωρίστηκαν δύο αλληλόμορφα:

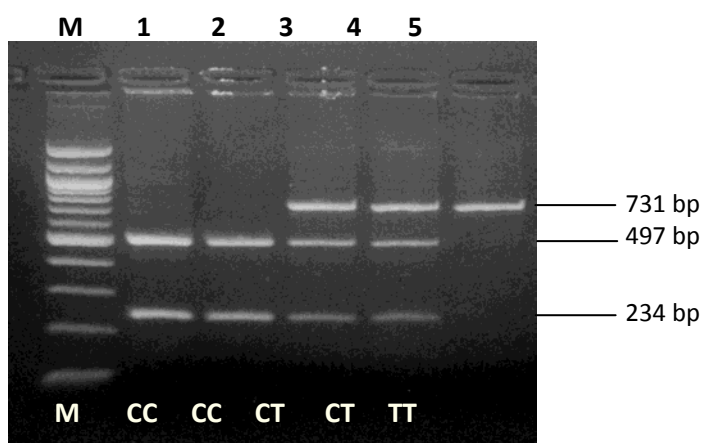
- Αλληλόμορφο 1 ή IL-1B (+3953)*C με νουκλεοτίδιο C στη θέση 3953 του γονιδίου.
- Αλληλόμορφο 2 ή IL-1B (+3953)*T με νουκλεοτίδιο T στη θέση 3953 του γονιδίου.

Η παρουσία του αλληλόμορφου 1 κατόπιν της πέψεως, διαπιστώνεται από τη διάσπαση του κλωνοποιημένου, κατά την PCR, τμήματος DNA, μεγέθους 731 bp, σε δύο μέρη, μεγέθους 234 bp και 497 bp. Αντιθέτως η παρουσία του αλληλόμορφου 2 διαπιστώνεται από τη μη-διάσπασή του. Έτσι, αν μετά την πέψη εμφανισθούν δύο “ζώνες”, μεγέθους 234 bp και 497 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 1 (αλληλόμορφο C), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων C (γονότυπος C/C). Αν εμφανισθεί μόνο μία “ζώνη” μεγέθους 731 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 2 (αλληλόμορφο T), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων T (γονότυπος T/T). Τέλος, αν εμφανισθούν τρεις “ζώνες”, μεγέθους 234 bp, 497 bp και 731 bp, πρόκειται για ετεροζυγωτία, δηλαδή παρουσία ενός αλληλόμορφου C και ενός αλληλόμορφου T (γονότυπος C/T) (εικόνα 40).

Εικόνα 40

Παραδείγματα πολυμορφισμών του γονιδίου της IL-1B (+3953) σε πηκτή αγαρόζης 2%

1,2: CC γονότυπος, 3,4: CT γονότυπος, 5: TT γονότυπος
M: Marker (100 bp DNA Ladder)



II. IL-1B (-511)

A) PCR

Για τον πολλαπλασιασμό τμήματος του υποκινητή του γονιδίου της IL-1B με PCR χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δύο εκκινητές (primers) (di Giovine FS, 1992):

Primer 1 (-511 F)	5' - TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC - 3'
Primer 2 (-511 R)	5' - GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT- 3'

Κατά τη διάρκεια της PCR αντίδρασης, ο primer 1 τοποθετείται προς το 5' άκρο της περιοχής που θέλουμε να πολλαπλασιάσουμε και ο primer 2 τοποθετείται προς το 3' άκρο της.

Συνολικά, τα συστατικά της PCR αντίδρασης παρουσιάζονται στον πίνακα 22.

Πίνακας 22

Συστατικά της PCR της IL-1B (-511)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)	Τελική συγκέντρωση
DNA (200 ng/μl)	5	20 ng/μl
10x PCR Buffer	5	1x
MgCl ₂ (50 mM)	2	2 mM
Primer F (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
Primer R (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
dNTPs (40 pmol/μl)	1,5	1,2 μM
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,5	0,05 U/μl
DdH ₂ O	34	-
Σύνολο	50	

di Giovine FS, 1992

Η PCR αντίδραση πραγματοποιείται σε ένα πρώτο στάδιο στους 95 °C για 3 min, ακολουθούμενο από 35 κύκλους σε θερμικό κυκλοποιητή (Perkin, Elmer). Κάθε κύκλος περιλαμβάνει ένα στάδιο αποδιάταξης (1 min στους 95 °C), ένα στάδιο σύζευξης των εκκινητών με την μητρική αλυσίδα (1 min στους 55 °C) και ένα στάδιο επέκτασης των εκκινητών (1 min στους 74 °C). Μετά το τέλος των κύκλων ακολουθεί το στάδιο προέκτασης με στόχο τη σταθεροποίηση του προϊόντος της αντίδρασης (6 min στους 74 °C) (πίνακας 23).

Πίνακας 23

Συνθήκες της PCR της IL-1B (-511)

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος	
95	3 min	} → 35 κύκλοι
95	1 min	
55	1 min	
74	1 min	
74	6 min	

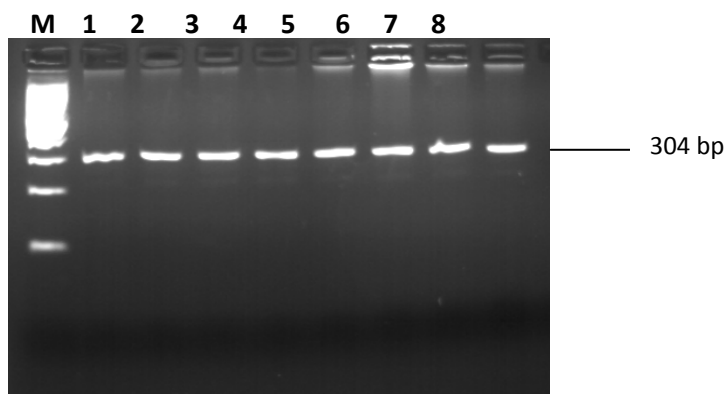
di Giovine FS, 1992

Β) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR

Τα προϊόντα της PCR ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης 1,5% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου συγκέντρωσης 1 μg/ml (15 μl προϊόν PCR + 3 μl πυκνή) και έγιναν ορατά με υπεριώδη ακτινοβολία στα 80 V. Για τον έλεγχο του μεγέθους του προϊόντος της PCR που ενισχύθηκε, χρησιμοποιήθηκε ως marker ο 100bp DNA ladder (BioLabs) (εικόνα 41). Το προϊόν της PCR ήταν το αναμενόμενο, στα 304 bp.

Εικόνα 41

Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR της IL-1B (-511) σε πηκτή αγαρόζης 1,5% Διαδρομή 1-8: προϊόντα της PCR, διαδρομή M: Marker (100bp DNA ladder)

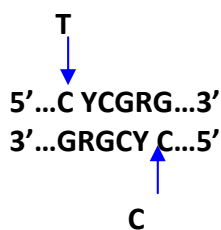


Γ) Πέψη με περιοριστικό ένζυμο

Το προϊόν της PCR του γονιδίου της IL-1B (-511) υποβλήθηκε σε πέψη από την ενδονουκλεάση περιορισμού *Ava*I, μέλος μιας ομάδας ενζύμων βακτηριακής προέλευσης που αναγνωρίζουν και τέμνουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA, με κατεύθυνση 5'→3'. Το ένζυμο *Ava*I αναγνωρίζει και τέμνει την αλληλουχία που παρουσιάζεται στην εικόνα 42.

Εικόνα 42

Αλληλουχία που αναγνωρίζει και τέμνει (στα μπλε βέλη) το ένζυμο *Ava*I



Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την πέψη παρουσιάζονται στον πίνακα 24.

Πίνακας 24

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν
για την πέψη του προϊόντος της PCR της IL-1B (-511)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)
Προϊόν PCR	30
Ένζυμο Aval (10 u/μl)	1
10x Buffer R (Na ⁺ , Mg ²⁺)	4
ddH ₂ O	5
Τελικός όγκος	40

di Giovine FS, 1992

Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία 37 °C έως την επόμενη ημέρα.

Δ) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης

Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα της πέψης, καθώς και το μέγεθος των τμημάτων ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση 10 μl διαλύματος έκαστου εκ των προϊόντων της πέψης, σε πηκτική αгарόζης 3,5% περιέχουσα βρωμιούχο αιθίδιο συγκέντρωσης 1 μg/ml, υπό σταθερή τάση 80 V και ακολούθησε φωτογράφιση της πηκτής υπό υπεριώδη φωτισμό, όπου οι «ζώνες» του DNA φθορίζουν και γίνονται ορατές. Ως marker χρησιμοποιήθηκε ο 100 bp DNA ladder (BioLabs).

Με τη χρήση του περιοριστικού ενζύμου Aval αναγνωρίστηκαν δύο αλληλόμορφα:

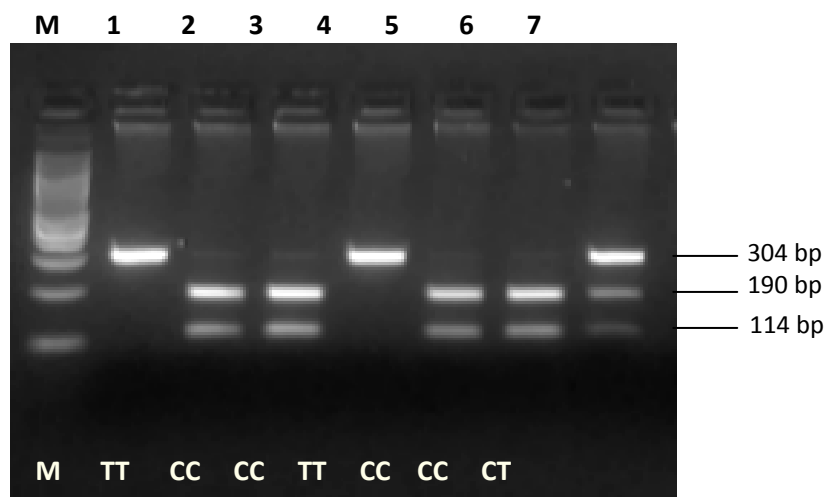
- Αλληλόμορφο 1 ή IL-1B (-511)*C με νουκλεοτίδιο C στη θέση -511 του γονιδίου.
- Αλληλόμορφο 2 ή IL-1B (-511)*T με νουκλεοτίδιο T στη θέση -511 του γονιδίου.

Η παρουσία του αλληλόμορφου 1 κατόπιν της πέψεως, διαπιστώνεται από τη διάσπαση του κλωνοποιημένου, κατά την PCR, τμήματος DNA, μεγέθους 304 bp, σε δύο μέρη, μεγέθους 114 bp και 190 bp. Αντιθέτως η παρουσία του αλληλόμορφου 2 διαπιστώνεται από τη μη-διάσπασή του. Έτσι, αν μετά την πέψη εμφανισθούν δύο «ζώνες», μεγέθους 114 bp και 190 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 1 (αλληλόμορφο C), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων C (γονότυπος C/C). Αν εμφανισθεί μόνο μία «ζώνη» μεγέθους 304 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 2 (αλληλόμορφο T), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων T (γονότυπος T/T). Τέλος, αν εμφανισθούν τρεις «ζώνες», μεγέθους 114 bp, 190 bp και 304 bp, πρόκειται για ετεροζυγωτία, δηλαδή παρουσία ενός αλληλόμορφου C και ενός αλληλόμορφου T (γονότυπος C/T) (εικόνα 43).

Εικόνα 43

Παραδείγματα πολυμορφισμών του γονιδίου της IL-1B (-511) σε πηκτή αγαρόζης 3,5%

2,3,5,6: CC γονότυπος, 7: CT γονότυπος, 1,4: TT γονότυπος
M: Marker (100 bp DNA Ladder)



III. IL-1RN

A) PCR

Για τον πολλαπλασιασμό περιοχής του γονιδίου IL-1RN (στο 2^ο ιντρόνιο) με PCR χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δύο εκκινητές (primers) (Crusius JB, 1995):

Primer 1 (IL-1RN-F)	5' – GCC CCT CAG CAA CAC TCC TAT – 3'
Primer 2 (IL-1RN-R)	5' – CCC TGG TCC CCA CAA AAC TA – 3'

Κατά τη διάρκεια της PCR αντίδρασης, ο primer 1 τοποθετείται προς το 5' άκρο της περιοχής που θέλουμε να πολλαπλασιάσουμε και ο primer 2 τοποθετείται προς το 3' άκρο της.

Συνολικά, τα συστατικά της PCR αντίδρασης παρουσιάζονται στον πίνακα 25.

Πίνακας 25
Συστατικά της PCR του IL-RN

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)	Τελική συγκέντρωση
DNA (200 ng/μl)	2,5	20 ng/μl
10x PCR Buffer	2,5	1x
MgCl ₂ (50 mM)	1	2 mM
Primer F (10 pmol/μl)	0,25	0,1 μM
Primer R (10 pmol/μl)	0,25	0,1 μM
dNTPs (40 pmol/μl)	0,5	0,8 μM
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,25	0,05 U/μl
DdH ₂ O	17,75	-
Σύνολο	25	

Crusius JB, 1995

Η PCR αντίδραση πραγματοποιείται σε ένα πρώτο στάδιο στους 95 °C για 7 λεπτά, ακολουθούμενο από 32 κύκλους σε θερμικό κυκλοποιητή (Perkin, Elmer). Κάθε κύκλος περιλαμβάνει ένα στάδιο αποδιάταξης (30 sec στους 95 °C), ένα στάδιο σύζευξης των εκκινητών με τη μητρική αλυσίδα (30 sec στους 56 °C) και ένα στάδιο επέκτασης των εκκινητών (90 sec στους 72 °C). Μετά το τέλος των κύκλων ακολουθεί το στάδιο προέκτασης με στόχο τη σταθεροποίηση του προϊόντος της αντίδρασης (7 λεπτά στους 72 °C), (πίνακας 26).

Πίνακας 26
Συνθήκες της PCR του IL-1RN

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος	
95	7 min	} → 32 κύκλοι
95	30 sec	
56	30 sec	
72	90 sec	
72	7 min	

Crusius JB, 1995

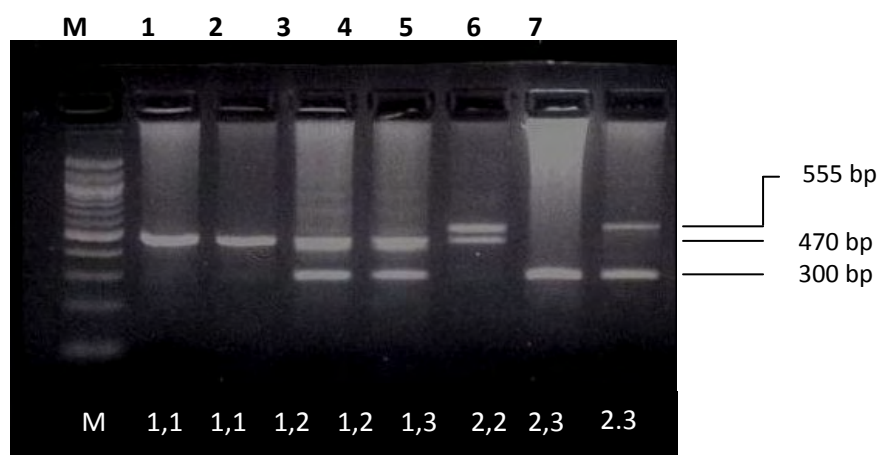
B) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR

Τα προϊόντα της PCR ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 2% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου συγκέντρωσης 1 μg/ml (20 μl προϊόν PCR + 5 μl πυκνή) και έγιναν ορατά με υπεριώδη ακτινοβολία στα 80 V. Ο έλεγχος του μεγέθους του προϊόντος της PCR που ενισχύθηκε έγινε εφικτός μετά από σύγκριση με το μέγεθος των ζωνών του marker 100bp DNA ladder (BioLabs, 2,5 μl + 3 μl πυκνή). Ανάλογα με τον αριθμό των επαναλαμβανόμενων 86bp περιοχών (Variable Number Tandem Repeats, VNTR) διαπιστώθηκαν 4 αλληλόμορφα, μεγέθους 300bp, 385bp, 470bp και 555bp (2 επαναλήψεις στο αλληλόμορφο 2, 3 στο αλληλόμορφο 4, 4 στο αλληλόμορφο 1 και 5 στο αλληλόμορφο 3 αντίστοιχα). Δεν ανιχνεύθηκε το αλληλόμορφο 5 με 6 επαναλήψεις. Ενδεικτικά αποτελέσματα των προϊόντων της PCR 7 δειγμάτων DNA, αναφορικά ως προς τον 86bp VNTR πολυμορφισμό παρουσιάζονται στην εικόνα 44.

Εικόνα 44

Παραδείγματα πολυμορφισμών του γονιδίου του IL-1RN σε πηκτική αγαρόζη 2%

1,2: 1,1 γονότυπος, 3,4: 1,2 γονότυπος, 5: 1,3 γονότυπος,
6: 2,2 γονότυπος, 7: 2,3 γονότυπος
M: Marker (100 bp DNA Ladder)



IV. IL-2 (+114)

A) PCR

Για τον πολλαπλασιασμό περιοχής του γονιδίου της IL-2 (στο 1^ο εξόνιο) με PCR χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δύο εκκινητές (primers) (Matesanz F, 2000):

Primer 1 (+114 F)	5' - ATG TAC AGG ATG CAA CTC CT- 3'
Primer 2 (+114 R)	5' -TGG TGA GTT TGG GAT TCT TG- 3'

Κατά τη διάρκεια της PCR αντίδρασης, ο primer 1 τοποθετείται προς το 5' άκρο της περιοχής που θέλουμε να πολλαπλασιάσουμε και ο primer 2 τοποθετείται προς το 3' άκρο της.

Τα συστατικά της PCR αντίδρασης παρουσιάζονται στον πίνακα 27.

Πίνακας 27
Συστατικά της PCR της IL-2 (+114)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)	Τελική συγκέντρωση
DNA (200 ng/μl)	5	20 ng/μl
10x PCR Buffer	5	1x
MgCl ₂ (50 mM)	3	3 mM
Primer F (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
Primer R (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
dNTPs (40 pmol/μl)	1,5	1,2 μM
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,5	0,05 U/μl
DdH ₂ O	33	-
Σύνολο	50	

Matesanz F, 2000

Η PCR αντίδραση πραγματοποιείται σε ένα πρώτο στάδιο στους 94 °C για 2 min, ακολουθούμενο από 35 κύκλους σε θερμικό κυκλοποιητή (Perkin, Elmer). Κάθε κύκλος περιλαμβάνει ένα στάδιο αποδιάταξης (20 sec στους 94 °C), ένα στάδιο σύζευξης των εκκινητών με την μητρική αλυσίδα (40 sec στους 52 °C) και ένα στάδιο επέκτασης των εκκινητών (20 sec στους 72 °C). Μετά το τέλος των κύκλων ακολουθεί το στάδιο προέκτασης με στόχο τη σταθεροποίηση του προϊόντος της αντίδρασης (10 min στους 72 °C) (πίνακας 28).

Πίνακας 28
Συνθήκες της PCR της IL-2 (+114)

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος	} → 35 κύκλοι
94	2 min	
94	20 sec	
52	40 sec	
72	20 sec	
72	10 min	

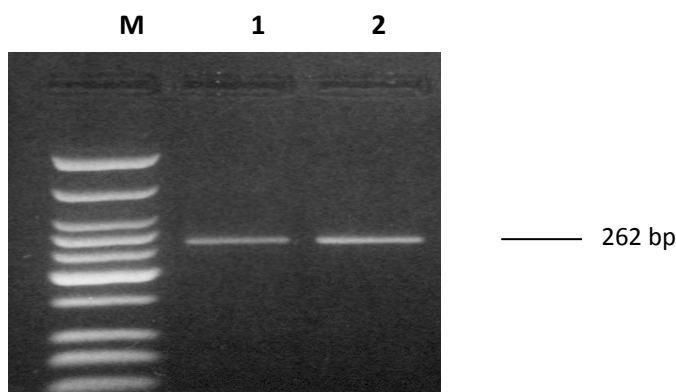
Matesanz F, 2000

Β) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR

Τα προϊόντα της PCR ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 2% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου συγκέντρωσης 1μg/ml (15 μl προϊόν PCR + 3 μl πυκνή) και έγιναν ορατά με υπεριώδη ακτινοβολία στα 80 V. Για τον έλεγχο του μεγέθους του προϊόντος της PCR που ενισχύθηκε χρησιμοποιήθηκε ως marker ο low molecular weight DNA ladder (BioLabs) (εικόνα 45). Το προϊόν της PCR ήταν το αναμενόμενο, στα 262 bp.

Εικόνα 45

Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR της IL-2 (+114) σε πηκτή αгарόζης 2%
Διαδρομή 1-2: προϊόντα της PCR, διαδρομή M: Marker (low molecular weight DNA ladder)

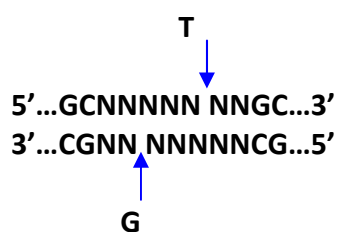


Γ) Πέψη με περιοριστικό ένζυμο

Το προϊόν της PCR του γονιδίου της IL-2 (+114) υποβλήθηκε σε πέψη από την ενδονουκλεάση περιορισμού MwoI, μέλος μιας ομάδας ενζύμων βακτηριακής προέλευσης που αναγνωρίζουν και τέμνουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA, με κατεύθυνση 5'→3'. Το ένζυμο MwoI αναγνωρίζει και τέμνει την αλληλουχία που παρουσιάζεται στην εικόνα 46.

Εικόνα 46

Αλληλουχία που αναγνωρίζει και τέμνει
(στα μπλε βέλη) το ένζυμο MwoI



Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την πέψη παρουσιάζονται στον πίνακα 29.

Πίνακας 29

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν
για την πέψη του προϊόντος της PCR της IL-2 (+114)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)
Προϊόν PCR	30
Ένζυμο MwoI (10 u/μl)	1

10x Buffer R (Na ⁺ , Mg ²⁺)	4
ddH ₂ O	5
Τελικός όγκος	40

Matesanz F, 2000

Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία 60 °C έως την επόμενη ημέρα.

Δ) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης

Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα της πέψης, καθώς και το μέγεθος των τμημάτων ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση 10 μl διαλύματος έκαστου εκ των προϊόντων της πέψης, σε πηκτή αгарόζης 3% περιέχουσα βρωμιούχο αιθίδιο συγκέντρωσης 1μg/ml, υπό σταθερή τάση 80 V και ακολούθησε φωτογράφιση της πηκτής υπό υπεριώδη φωτισμό, όπου οι «ζώνες» του DNA φθορίζουν και γίνονται ορατές. Ως marker χρησιμοποιήθηκε ο low molecular weight DNA ladder (BioLabs).

Με τη χρήση του περιοριστικού ενζύμου MwoI αναγνωρίστηκαν δύο αλληλόμορφα:

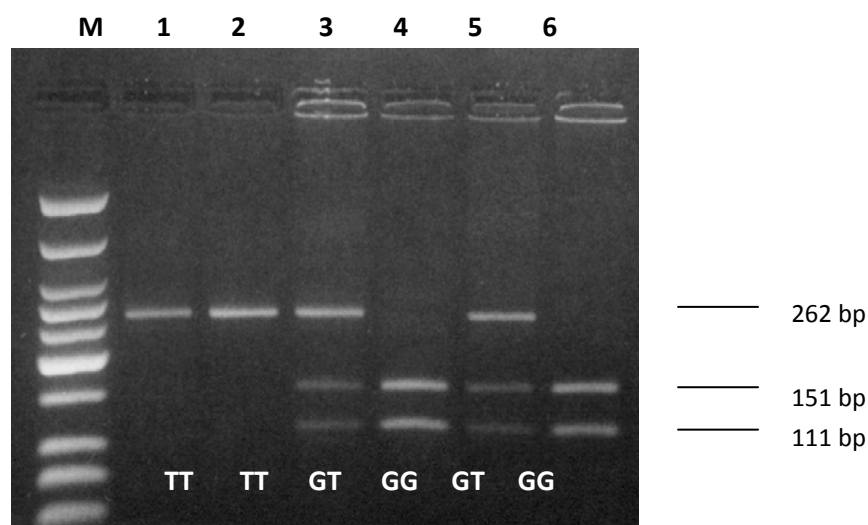
- Αλληλόμορφο 1 ή IL-2 (+114)*G με νουκλεοτίδιο G στη θέση 114 του γονιδίου.
- Αλληλόμορφο 2 ή IL-2 (+114)*T με νουκλεοτίδιο T στη θέση 114 του γονιδίου.

Η παρουσία του αλληλόμορφου 1 κατόπιν της πέψεως, διαπιστώνεται από τη διάσπαση του κλωνοποιημένου, κατά την PCR, τμήματος DNA, μεγέθους 262 bp, σε δύο μέρη, μεγέθους 111 bp και 151 bp. Αντιθέτως η παρουσία του αλληλόμορφου 2 διαπιστώνεται από τη μη διάσπασή του. Έτσι, αν μετά την πέψη εμφανισθούν δύο «ζώνες», μεγέθους 111 bp και 151 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 1 (αλληλόμορφο G), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων G (γονότυπος G/G). Αν εμφανισθεί μόνο μία «ζώνη» μεγέθους 262 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 2 (αλληλόμορφο T), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων T (γονότυπος T/T). Τέλος, αν εμφανισθούν τρεις «ζώνες», μεγέθους 111 bp, 151 bp και 262 bp, πρόκειται για ετεροζυγωτία, δηλαδή παρουσία ενός αλληλόμορφου G και ενός αλληλόμορφου T (γονότυπος G/T) (εικόνα 47).

Εικόνα 47

Παραδείγματα πολυμορφισμών του γονιδίου της IL-2 (+114) σε πηκτή αγαρόζης 3%

1,2: TT γονότυπος, 3,5: GT γονότυπος, 4,6: GG γονότυπος
M: Marker (low molecular weight DNA ladder)



V. IL-2 (-384)

A) PCR

Για τον πολλαπλασιασμό τμήματος του υποκινητή του γονιδίου της IL-2 με PCR χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δύο εκκινητές (primers) (John S, 1998):

Primer 1 (-384 F)	5'-ATT CAC ATG TTC AGT GTA GTT CT-3'
Primer 2 (-384 R)	5'- GTG ATA GCT CTA ATT CAT GC-3'

Κατά τη διάρκεια της PCR αντίδρασης, ο primer 1 τοποθετείται προς το 5' άκρο της περιοχής που θέλουμε να πολλαπλασιάσουμε και ο primer 2 τοποθετείται προς το 3' άκρο της.

Τα συστατικά της PCR αντίδρασης παρουσιάζονται στον πίνακα 30.

Πίνακας 30
Συστατικά της PCR της IL-2 (-384)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)	Τελική συγκέντρωση
DNA (200 ng/μl)	5	20 ng/μl
10x PCR Buffer	5	1x
MgCl ₂ (50 mM)	3	3 mM
Primer F (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
Primer R (10 pmol/μl)	1	0,2 μM
dNTPs (40 pmol/μl)	1,5	1,2 μM
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0,5	0,05 U/μl
DdH ₂ O	33	-
Σύνολο	50	

John S, 1998

Η PCR αντίδραση πραγματοποιείται σε ένα πρώτο στάδιο στους 94 °C για 2 min, ακολουθούμενο από 35 κύκλους σε θερμικό κυκλοποιητή (Perkin, Elmer). Κάθε κύκλος περιλαμβάνει ένα στάδιο αποδιάταξης (20 sec στους 94 °C), ένα στάδιο σύζευξης των εκκινητών με την μητρική αλυσίδα (40 sec στους 66 °C) και ένα στάδιο επέκτασης των εκκινητών (20 sec στους 72 °C). Μετά το τέλος των κύκλων ακολουθεί το στάδιο προέκτασης με στόχο τη σταθεροποίηση του προϊόντος της αντίδρασης (10 min στους 72 °C) (πίνακας 31).

Πίνακας 31
Συνθήκες της PCR της IL-2 (-384)

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος	} → 35 κύκλοι
94	2 min	
94	20 sec	
66	40 sec	
72	20 sec	
72	10 min	

John S, 1998

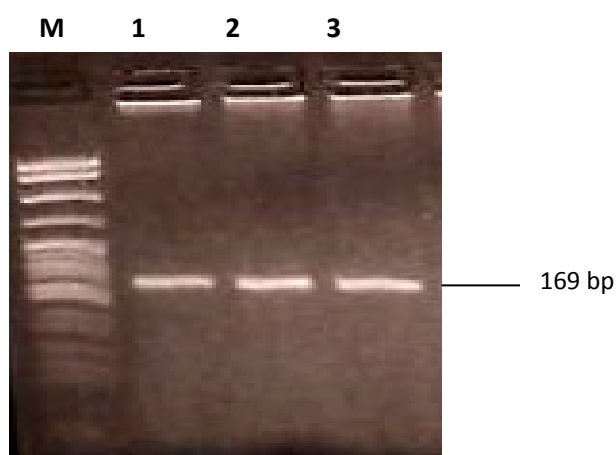
Β) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της PCR

Τα προϊόντα της PCR ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 3,5% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου συγκέντρωσης 1μg/ml (15 μl προϊόν PCR + 3 μl πυκνή) και έγιναν ορατά με υπεριώδη ακτινοβολία στα 80 V. Ο έλεγχος του μεγέθους του προϊόντος της PCR που ενισχύθηκε έγινε εφικτός μετά από σύγκριση

με το μέγεθος των ζωνών του marker PBR 322 DNA Msp I Digest (BioLabs, 2,5 μl + 3 μl πυκνή) (εικόνα 48). Το προϊόν της PCR ήταν το αναμενόμενο, στα 169 bp.

Εικόνα 48

Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR της IL-2 (-384) σε πηκτή αγαρόζης 3,5% Διαδρομή 1-3: προϊόντα της PCR, διαδρομή M: Marker (PBR 322 DNA Msp I Digest)

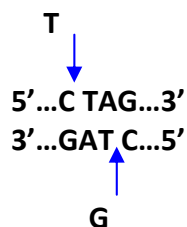


Γ) Πέψη με περιοριστικό ένζυμο

Το προϊόν της PCR του γονιδίου της IL-2 (-384) υποβλήθηκε σε πέψη από την ενδονουκλεάση περιορισμού BfaI, μέλος μιας ομάδας ενζύμων βακτηριακής προέλευσης που αναγνωρίζουν και τέμνουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA, με κατεύθυνση 5'→3'. Το ένζυμο BfaI αναγνωρίζει και τέμνει την αλληλουχία που παρουσιάζεται στην εικόνα 49.

Εικόνα 49

Αλληλουχία που αναγνωρίζει και τέμνει (στα μπλε βέλη) το ένζυμο BfaI



Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την πέψη παρουσιάζονται στον πίνακα 32.

Πίνακας 32

Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν

για την πέψη του προϊόντος της PCR της IL-2 (-384)

Αντιδραστήριο	Ποσότητα (μl)
Προϊόν PCR	25
Ένζυμο Bfal (10 u/μl)	3
10x Buffer R (Na ⁺ , Mg ²⁺)	4
ddH ₂ O	8
Τελικός όγκος	40

John S, 1998

Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία 37 °C έως την επόμενη ημέρα.

Δ) Ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της πέψης

Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα της πέψης, καθώς και το μέγεθος των τμημάτων ελέγχθηκαν με ηλεκτροφόρηση 10 μl διαλύματος έκαστου εκ των προϊόντων της πέψης, σε πηκτή αγαρόζης 3,5% περιέχουσα βρωμιούχο αιθίδιο συγκέντρωσης 1μg/ml, υπό σταθερή τάση 80 V και ακολούθησε φωτογράφιση της πηκτής υπό υπεριώδη φωτισμό, όπου οι «ζώνες» του DNA φθορίζουν και γίνονται ορατές. Ως marker χρησιμοποιήθηκε ο low molecular weight DNA ladder (BioLabs, 2,5 μl + 3 μl πυκνή).

Με τη χρήση του περιοριστικού ενζύμου Bfal αναγνωρίστηκαν 2 αλληλόμορφα:

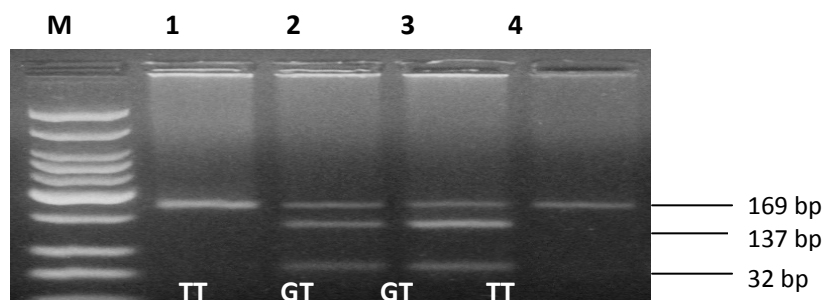
- Αλληλόμορφο 1 ή IL-2 (-384)*T με νουκλεοτίδιο T στη θέση -384 του γονιδίου.
- Αλληλόμορφο 2 ή IL-2 (-384)*G με νουκλεοτίδιο G στη θέση -384 του γονιδίου.

Η παρουσία του αλληλόμορφου 1 κατόπιν της πέψεως, διαπιστώνεται από τη μη διάσπαση του κλωνοποιημένου, κατά την PCR, τμήματος DNA, μεγέθους 169 bp. Αντιθέτως η παρουσία του αλληλόμορφου 2 διαπιστώνεται από τη διάσπασή του σε δύο μέρη, μεγέθους 32 bp και 137 bp. Έτσι, αν μετά την πέψη εμφανισθεί μόνο μία «ζώνη», μεγέθους 169 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 1 (αλληλόμορφο T), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων T (γονότυπος T/T). Αν εμφανισθούν δύο «ζώνες», μεγέθους 32 bp και 137 bp, πρόκειται για ομοζυγωτία ως προς το αλληλόμορφο 2 (αλληλόμορφο G), δηλαδή παρουσία 2 αλληλόμορφων G (γονότυπος G/G). Τέλος, αν εμφανισθούν τρεις «ζώνες» μεγέθους 32 bp, 137 bp και 169 bp, πρόκειται για ετεροζυγωτία, δηλαδή παρουσία ενός αλληλόμορφου G και ενός αλληλόμορφου T (γονότυπος G/T) (εικόνα 50).

Εικόνα 50

Παραδείγματα πολυμορφισμών του γονιδίου της IL-2 (-384) σε πηκτή αγαρόζης 3,5%

1,4: TT γονότυπος, 2,3: GT γονότυπος
M: Marker (low molecular weight DNA ladder)



ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η Hardy–Weinberg (H–W) ισορροπία εκτιμήθηκε υπό την έννοια ενός ακριβούς H–W test, που εφαρμόσθηκε στο πρόγραμμα της GENEPOP στην 3.4 έκδοση (<http://www.genepop.curtin.edu.au>). Η δύναμη της μελέτης υπολογίσθηκε, χρησιμοποιώντας τον CaTS υπολογιστή δύναμης για γενετικές μελέτες (Power Calculator for Genetic Studies) (Center for Statistical Genetics, University of Michigan, MI). Οι συνεχείς μεταβλητές συγκρίθηκαν (ασθενείς με ΣΚΠ έναντι υγιών μαρτύρων) με τη χρήση του μη-παραμετρικού Mann-Whitney U test, ενώ οι επιμέρους μεταβλητές σε κάθε κατηγορία με τη χρήση του χ^2 test. Οι διαφορές στην κατανομή των αλληλόμορφων και των γονοτύπων αναλύθηκαν με τη χρήση της απόκλισης της εξαρτημένης στατιστικής μεταβλητής (logistic regression analysis). Ο λόγος πιθανοτήτων (odds ratio, OR) και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (confidence interval, CI) χρησιμοποιήθηκαν ως μέτρα υπολογισμού της δύναμης της συσχέτισης μεταξύ των πολυμορφισμών και της ασθένειας. Σε όλα τα μοντέλα της απόκλισης της εξαρτημένης στατιστικής μεταβλητής, η κατάσταση της νόσου (ασθενείς με ΣΚΠ έναντι υγιών μαρτύρων) χρησιμοποιήθηκε ως διχοτομική έκβαση, ενώ τα αλληλόμορφα ή οι γονότυποι χρησιμοποιήθηκαν ως προγνωστικοί παράγοντες. Επιπλέον, ελέγξαμε για ενδεχόμενους παράγοντες σύγχυσης, όπως η ηλικία και το φύλο, με τη βοήθεια του regression analysis. Μετά από τη διόρθωση Bonferroni (<http://home.clara.net/sisa/bonfer.htm>) για τους συγκεκριμένους πολυμορφισμούς το επίπεδο σημαντικότητας (p) ήταν < 0.05 . Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του SPSS v. 12.0 (SPSS, Chicago, IL).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Απομονώθηκε DNA από 351 ασθενείς με «παροξυσμικής έναρξης» μορφή της ΣΚΠ και 375 υγιείς μάρτυρες σύμφωνα με το πρωτόκολλο το οποίο περιγράφεται στη Μεθοδολογία. Ο λόγος των απορροφήσεων 260/280 ήταν μέσα στα αποδεκτά όρια για όλα τα δείγματα και το DNA ήταν υψηλής καθαρότητας και υψηλού μοριακού βάρους. Τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών και των υγιών μαρτύρων φαίνονται στον πίνακα 33.

Πίνακας 33

Κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με «παροξυσμικής έναρξης» μορφή της ΣΚΠ και των υγιών μαρτύρων

Παράμετρος	ΣΚΠ	Μάρτυρες	p
Φύλλο (θήλυ/άρρεν)	231/120	237/138	0.49
Ηλικία (έτη)	40.8 ± 10.9	40.1 ± 10.8	0.86
Ηλικία έναρξης	32.1 ± 9.4	-	-
Διάρκεια (έτη)	8.4 ± 7.9	-	-
EDSS	3.9 ± 2.1	-	-
MSSS	5.8 ± 2.4	-	-

1) ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ IL-1RN (VNTR), IL-1B (-511) ΚΑΙ IL-1B (+3953)

Ο πληθυσμός μας ήταν σε H-W ισορροπία για τους ασθενείς και τους υγιείς μάρτυρες. Δεν ανιχνεύσαμε κανένα αλληλόμορφο 5 του IL-1RN (VNTR) πολυμορφισμού και επίσης δεν υπήρξε ομοζυγωτία των, ούτως ή άλλως, σπάνιων αλληλόμορφων 3 και 4 σε ασθενείς και υγιείς μάρτυρες (πίνακας 34). Συνολικά, δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για κανέναν πολυμορφισμό ($P > 0.05$ για όλους τους πολυμορφισμούς) (πίνακες 34 και 35).

Πίνακας 34

Κατανομή των γονοτύπων και των αλληλόμορφων ως προς τον IL-1RN (VNTR) πολυμορφισμό στους ασθενείς με «παροξυσμικής έναρξης» μορφή της ΣΚΠ και στους υγιείς μάρτυρες

Συγκεντρωτικά, δεν ανευρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$)

	IL-1RN (VNTR)									
	Γονότυποι						Αλληλόμορφα			
	1/1	1/2	1/3	2/2	2/3	2/4	1	2	3	4
Μάρτυρες (n=375) (%)	211 (56.3)	130 (34.7)	5 (1.3)	21 (5.6)	6 (1.6)	2 (0.5)	557 (74.2)	180 (24)	11 (1.5)	2 (0.3)
Ασθενείς (n=351) (%)	203 (57.8)	116 (33.1)	5 (1.4)	22 (6.3)	4 (1.1)	1 (0.3)	527 (75.1)	165 (23.5)	9 (1.3)	1 (0.1)

Πίνακας 35

Κατανομή των γονοτύπων και των αλληλόμορφων ως προς τους IL-1B (-511) και IL-1B (+3953) πολυμορφισμούς στους ασθενείς με «παροξυσμικής έναρξης» μορφή της ΣΚΠ και στους υγιείς μάρτυρες

Συγκεντρωτικά, δεν ανευρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$)

	IL-1B (-511)	IL-1B (+3953)
--	--------------	---------------

	Γονότυποι			Αλληλόμορφα		Γονότυποι			Αλληλόμορφα	
	1/1 (CC)	1/2 (CT)	2/2 (TT)	1 (C)	2 (T)	1/1 (CC)	1/2 (CT)	2/2 (TT)	1 (C)	2 (T)
Μάρτυρες (n=375) (%)	158 (42.2)	167 (44.5)	50 (13.3)	483 (64.4)	267 (35.6)	201 (53.6)	147 (39.2)	27 (7.2)	549 (73.2)	201 (26.8)
Ασθενείς (n=351) (%)	133 (37.9)	174 (49.6)	44 (12.5)	440 (62.7)	262 (37.3)	200 (57)	126 (35.9)	25 (7.1)	526 (74.9)	176 (25.1)

Δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ των γονοτύπων, βασισμένη στην κατάσταση των φορέων του κινδύνου των αλληλόμορφων και της νόσου, είτε κάτω από κυρίαρχο, είτε κάτω από υπολειπόμενο μοντέλο κληρονομικότητας (πίνακες 36 και 37).

Πίνακας 36

Επίδραση των γονοτύπων στην πιθανότητα εμφάνισης της ΣΚΠ βασισμένης στην κατάσταση των φορέων του κινδύνου του αλληλόμορφου 2 για τον IL-1RN (VNTR) πολυμορφισμό

IL-1RN (VNTR)				
Κυρίαρχο μοντέλο	2/-	-/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	159	216	1	0.65
Ασθενείς (n=351)	143	208	0.93 (0.69-1.25)	
Υπολειπόμενο μοντέλο	2/2	2/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	21	354	1	0.70
Ασθενείς (n=351)	22	329	0.89 (0.48-1.64)	

Πίνακας 37

Επίδραση των γονοτύπων στην πιθανότητα εμφάνισης της ΣΚΠ βασισμένης στην κατάσταση των φορέων του κινδύνου του αλληλόμορφου 2 για τους IL-1B (-511) και IL-1B (+3953) πολυμορφισμούς χωρίς και με σταθεροποίηση για ενδεχόμενους παράγοντες που θα επηρέαζαν το αποτέλεσμα

Χωρίς σταθεροποίηση	IL-1B (-511)				IL-1B (+3953)			
Κυρίαρχο μοντέλο	2/-	-/-	OR (95% CI)	p	2/-	-/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	217	158	1	0.27	174	201	1	0.38
Ασθενείς (n=351)	218	133	1.18 (0.89-1.58)		151	200	0.88 (0.66-1.18)	
Υπολειπόμενο μοντέλο	2/2	2/-	OR (95% CI)	p	2/2	2/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	50	325	1	0.73	27	348	1	0.92
Ασθενείς (n=351)	44	307	1.08 (0.70-1.67)		25	326	0.97 (0.56-1.70)	

Με σταθεροποίηση	IL-1B (-511)				IL-1B (+3953)			
Κυρίαρχο μοντέλο	2/-	-/-	OR (95% CI)	p	2/-	-/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	217	158	1	0.25	174	201	1	0.39
Ασθενείς (n=351)	218	133	1.16 (0.91-1.55)		151	200	0.89 (0.65-1.13)	
Υπολειπόμενο μοντέλο	2/2	2/-	OR (95% CI)	p	2/2	2/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	50	325	1	0.77	27	348	1	0.98
Ασθενείς (n=351)	44	307	1.13 (0.81-1.66)		25	326	0.94 (0.57-1.79)	

Επιπρόσθετα, η κατάσταση των φορέων του κινδύνου των αλληλόμορφων (φορείς έναντι μη-φορείς) για όλους τους πολυμορφισμούς δεν επηρέασε τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται το φύλο, η ηλικία έναρξης, η διάρκεια της νόσου, ο βαθμός ανικανότητας στην κλίμακα EDSS και η διαβάθμιση της κλίμακας MSSS (πίνακες 38 και 39). Ασθενείς φορείς του αλληλόμορφου 2 του IL-1RN πολυμορφισμού δείχνουν να έχουν χαμηλότερο βαθμό στην κλίμακα MSSS (5.46 ± 2.39) σε σύγκριση με τους μη-φορείς (6.15 ± 2.38) ($P = 0.037$, U test, two tailed), αλλά το αποτέλεσμα αυτό θεωρήθηκε μη σημαντικό μετά από τη διόρθωση Bonferroni.

Πίνακας 38

Επίδραση των γονοτύπων στα κλινικά χαρακτηριστικά της ΣΚΠ βασισμένης στην κατάσταση των φορέων του κινδύνου του αλληλόμορφου 2 για τον IL-1RN (VNTR) πολυμορφισμό

	IL-1RN (VNTR)		
	2/-	-/-	p
Θήλυ/Άρρεν	99/44	132/76	0.26
Ηλικία έναρξης, έτη (SD)	31.1 (9.3)	30.7 (7.9)	0.79
Διάρκεια, έτη (SD)	8.7 (7.2)	8.7 (7.9)	0.98
EDSS (SD)	4.2 (2.0)	4.4 (2.2)	0.14
MSSS (SD)	5.46 (2.39)	6.15 (2.38)	0.037

Πίνακας 39

Επίδραση των γονοτύπων στα κλινικά χαρακτηριστικά της ΣΚΠ βασισμένης στην κατάσταση των φορέων του κινδύνου του αλληλόμορφου 2 για τους IL-1B (-511) και IL-1B (+3953) πολυμορφισμούς

	IL1B (-511)			IL1B (+3953)		
	2/-	-/-	p	2/-	-/-	p
Θήλυ/Άρρεν	140/78	91/42	0.42	98/53	133/67	0.75
Ηλικία έναρξης, έτη (SD)	31.5 (9.0)	29.9 (7.7)	0.25	31.2 (8.3)	30.3 (8.3)	0.37
Διάρκεια, έτη (SD)	8.8 (8.0)	8.1 (6.8)	0.55	9.4 (6.5)	7.9 (8.3)	0.22
EDSS (SD)	3.9 (2.2)	4.2 (2.1)	0.41	4.3 (2.1)	3.7 (2.2)	0.09

2) ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ IL-2 (-384) ΚΑΙ IL-2 (+114)

Ο πληθυσμός μας ήταν σε H-W ισορροπία για τους ασθενείς και τους υγιείς μάρτυρες. Συνολικά, δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για κανέναν πολυμορφισμό ($P > 0.05$ και για τους δύο πολυμορφισμούς) (πίνακας 40).

Πίνακας 40

Κατανομή των γονοτύπων και των αλληλόμορφων ως προς τους IL-2 (-384) και IL-2 (+114) πολυμορφισμούς στους ασθενείς με «παροξυσμικής έναρξης» μορφή της ΣΚΠ και στους υγιείς μάρτυρες

Συγκεντρωτικά, δεν ανευρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$)

	IL-2 (-384)					IL-2 (+114)				
	Γονότυποι			Αλληλόμορφα		Γονότυποι			Αλληλόμορφα	
	TT	GT	GG	T	G	GG	GT	TT	G	T
Μάρτυρες (n=375) (%)	168 (44.8)	161 (42.9)	46 (12.3)	497 (66.2)	253 (33.8)	182 (48.5)	168 (44.8)	25 (6.7)	532 (70.9)	218 (29.1)
Ασθενείς (n=351) (%)	162 (46.2)	147 (41.9)	42 (11.9)	471 (67.1)	231 (32.9)	167 (47.6)	158 (45)	26 (7.4)	492 (70.1)	210 (29.9)

Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των γονοτύπων, βασισμένη στην κατάσταση των φορέων του κινδύνου των αλληλόμορφων και της νόσου ακόμα και κάτω από κυρίαρχο ή υπολειπόμενο μοντέλο κληρονομικότητας (πίνακας 41).

Πίνακας 41

Επίδραση των γονοτύπων στον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου με βάση την παρουσία με την μικρότερη συχνότητα χωρίς και με σταθεροποίηση για ενδεχόμενους παράγοντες που θα επηρέαζαν το αποτέλεσμα

Χωρίς σταθεροποίηση	IL-2 (-384)				IL-2 (+114)			
Κυρίαρχο μοντέλο	G/-	-/-	OR (95% CI)	p	T/-	-/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	207	168	1	0.71	193	182	1	0.79
Ασθενείς (n=351)	189	162	0.94 (0.70-1.26)		184	167	1.03 (0.77-1.39)	
Υπολειπόμενο μοντέλο	G/G	T/-	OR (95% CI)	p	T/T	T/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	46	329	1	0.90	25	350	1	0.69
Ασθενείς (n=351)	42	309	1,02 (0.65-1.60)		33	318	0.89 (0.50-1.57)	

Με σταθεροποίηση	IL-2 (-384)				IL-2 (+114)			
Κυρίαρχο μοντέλο	G/-	-/-	OR (95% CI)	p	T/-	-/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	207	168	1	0.68	193	182	1	0.82
Ασθενείς (n=351)	189	162	0.92 (0.69-1.28)		184	167	1.07 (0.70-1.41)	
Υπολειπόμενο μοντέλο	G/G	T/-	OR (95% CI)	p	T/T	T/-	OR (95% CI)	p
Μάρτυρες (n=375)	46	329	1	0.91	25	350	1	0.65
Ασθενείς (n=351)	42	309	1,08 (0.69-1.63)		33	318	0.84 (0.55-1.59)	

Επιπρόσθετα, η κατάσταση των φορέων του κινδύνου των αλληλόμορφων (φορείς έναντι μη-φορείς) και για τους δύο πολυμορφισμούς δεν επηρέασε τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται το φύλο, η ηλικία έναρξης, η διάρκεια της νόσου, ο βαθμός ανικανότητας στην κλίμακα EDSS και η διαβάθμιση της κλίμακας MSSS (πίνακας 42).

Πίνακας 42

Επίδραση των αλληλόμορφων με τη μικρότερη συχνότητα (φορείς έναντι μη-φορέων) στα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου

	IL-2 (-384)			IL-2 (+114)		
	G/-	-/-	p	T/-	-/-	p
Θήλυ/Άρρεν	121/68	110/52	0.45	119/65	96/71	0.20
Ηλικία έναρξης (έτη)	30.8 (9.1)	32.1 (8.2)	0.79	31.3 (9.1)	30.8 (8.4)	0.35
Διάρκεια, έτη (SD)	8.6 (6.9)	8.7 (7.5)	0.85	9.1 (6.7)	8.3 (8.2)	0.49
EDSS (SD)	4.1 (2.4)	4.3 (2.2)	0.19	4.2 (2.1)	4.3 (2.1)	0.67
MSSS (SD)	5.7 (2.7)	5.9 (2.2)	0.89	5.8 (2.4)	5.9 (2.1)	0.76

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σήμερα, είναι γενικά αποδεκτό ότι τόσο άγνωστοι, μέχρι τώρα, περιβαλλοντικοί, όσο και γενετικοί παράγοντες ευθύνονται για την εμφάνιση της ΣΚΠ. Αρκετά γονίδια, σύνοψη των οποίων (πλην αυτών που αποτελούν αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης διατριβής) παρατίθεται στον πίνακα 43, έχουν μελετηθεί για την πιθανή αιτιοπαθογενετική συσχέτισή τους με τη νόσο, αλλά τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά για τα περισσότερα, αντιφατικά για πολλά και θετικά για λίγα μόνο. Πολυμορφισμοί σε γονίδια κυτταροκινών έχει βρεθεί ότι ενδεχομένως αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες για την εμφάνιση της ΣΚΠ, καθώς ανιχνεύονται με αυξημένη συχνότητα σε ασθενείς, παρά στο γενικό πληθυσμό. Δεδομένου ότι οι κυτταροκίνες που παράγονται από Th1 και Th2 κύτταρα θεωρείται ότι επηρεάζουν την έναρξη της ΣΚΠ και φαίνεται να ασκούν καθοριστικό ρόλο στις διακυμάνσεις της κλινικής πορείας της νόσου, είναι λογικό να αναμένουμε ότι πολυμορφισμοί στα γονίδια των ιντερλευκινών πιθανόν να ευθύνονται για κάποιες από τις φαινοτυπικές παραλλαγές στην έκφραση των κυτταροκινών. Έτσι, ακόμα κι αν τα γονίδια επιρρέπειας έχουν μια μικρή προσωπική συμβολή στην ασθένεια, ο προσδιορισμός τους είναι σημαντικός, δεδομένου ότι μπορούν να παρέχουν ενδείξεις σχετικά με την παθογένεση των διαφορετικών κλινικών τύπων και να βοηθήσουν στο σχεδιασμό της αποτελεσματικότερης θεραπείας για κάθε ασθενή (Zintzaras E, 2008).

Πίνακας 43

Σύνοψη μελετών συσχέτισης γονιδίων με την εμφάνιση ή/και την πορεία και σοβαρότητα της ΣΚΠ

Γονίδιο	Γενετικός δείκτης (είδος/θέση)	Μελέτη	Χώρα προέλευσης	Πληθυσμός	Ευρήματα
ApoE	ApoE 5' (-491) SNP	Ferri et al., 1999	Ιταλία	RR	Μη-συσχετισμός
ApoE	ApoE (e2, e3, e4) ALTP	Chapman et al., 2001	Ισραήλ	RR, SP	ApoE*e4 αλληλόμορφο μη-ευνοϊκό
		Dousset et al., 1998	Γαλλία	RR, SP, PP	ApoE*e4 αλληλόμορφο μη-ευνοϊκό (τάση)
		Evangelou et al., 1999	Μ. Βρετανία	RR, SP, PP	ApoE*e4 αλληλόμορφο μη-ευνοϊκό
		Fazekas et al., 2000	Αυστρία	RR, SP	ApoE*e3/e4, ApoE*e4 αλληλόμορφο μη-ευνοϊκό (τάση)

		Fazekas et al., 2001	Αυστρία	RR, SP, PP	ΑροΕ*ε3/ε4, ΑροΕ*ε4 αλληλόμορφο μη ευνοϊκό
		Ferri et al., 1999	Ιταλία	RR	Μη-συσχετισμός
		Haines et al., 2001	ΗΠΑ	RR, SP	Μη-συσχετισμός
		Hamilton et al., 1999	Ιρλανδία	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
		Hogh et al., 2000	Δανία	RR, SP, PP	Ομοζυγωτία ΑροΕ*ε4 μη-ευνοϊκή
		Kantarci et al., 2000b	ΗΠΑ	RR, SP, PP	ΑροΕ*ε2 αλληλόμορφο ευνοϊκό
		Masterman et al., 2000b	Σουηδία	ΔΑ	ΑροΕ*ε3/ε4 μη-ευνοϊκό
		Weatherby et al., 2000a	Μ. Βρετανία	RR, SP, PP	Ομοζυγωτία ΑροΕ*ε3 μη-ευνοϊκή
		Weatherby et al., 2000b	Μ. Βρετανία	PP	Μη-συσχετισμός
B71	B71 E2 (-56) SNP	Weinshenker et al., 2000b	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
B71	B71 E3 (138) SNP	Weinshenker et al., 2000b	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
B71	B71 E6 (424) DEL	Weinshenker et al., 2000b	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
CTLA-4	CTLA-4 3' (541) MST	Kantarci et al., 2001b	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
CTLA-4	CTLA-4 E1 (-318) SNP	Kantarci et al., 2001b	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
CTLA-4	CTLA-4 E1 (49) SNP	Kantarci et al., 2001b	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
		Fukazawa et al., 1999	Ιαπωνία	RR, SP	Ομοζυγωτία CTLA-4*A μη-ευνοϊκή
ESR1	ESR1 E2 (-397) SNP	Niino et al., 2000	Ιαπωνία	RR, SP	Μη-συσχετισμός
GSTM1	GSTM1 GDEL	Mann et al., 2000	Μ. Βρετανία	RR, SP, PP	Συνδυασμός GSTM1*0 και ομοζυγωτίας GSTP1*A μη-ευνοϊκός
GSTM3	GSTM3 I6 (22) DEL	Mann et al., 2000	Μ. Βρετανία	RR, SP, PP	Ομοζυγωτία GSTM3*A μη-ευνοϊκή
GSTP1	GSTP1 E5 (90)	Mann et al., 2000	Μ. Βρετανία	RR, SP, PP	Ομοζυγωτία

	SNP				GSTP1*A μη-ευνοϊκή
GSTT1	GSTT1 GDEL	Mann et al., 2000	Μ. Βρετανία	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
IFNγ	IFN γ 3' (325) SNP	Kantarci et al., 2000d	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
IFNγ	IFN γ I1 (1236) INS	Kantarci et al., 2000d	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
IFNγ	IFN γ I1 (761) MST	Kantarci et al., 2000d	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
IgG	IgG (Gm and Km) ALTP	Berr et al., 1989	Γαλλία	RR, SP, PP	IgG*Km1 μη-ευνοϊκό και επίσης συσχετίζεται με προϊούσα πορεία και μεγαλύτερη ηλικία έναρξης
		Raknes et al., 2000	Νορβηγία	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
		Salier et al., 1986	Γαλλία	RR, SP, PP	Συνδυασμός IgG*Gm1 και φορείας HLA B7 μη-ευνοϊκός
IgG FcγRIIA	IgG Fc γ RIIA E4 (134) SNP	Myhr et al., 1999	Νορβηγία	RR, SP, PP	IgG Fc γ RIIA*H αλληλόμορφο ευνοϊκό
IgG FcγRIIIB	IgG Fc γ RIIIB (NA) ALTP	Myhr et al., 1999	Νορβηγία	RR, SP, PP	IgG Fc γ RIIIB*NA1 αλληλόμορφο ευνοϊκό
IL-10	IL-10 5' (-519) SNP	Pickard et al., 1999	Μ. Βρετανία	RR, SP	Μη-συσχετισμός
IL-10	IL-10 5' (-819) SNP	Pickard et al., 1999	Μ. Βρετανία	RR, SP	Μη-συσχετισμός
IL-4	IL-4 I3 (691) VNTR	Vandenbroeck et al., 1997	Σαρδήνιοι και Καυκάσιοι (γενικά)	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός, IL-4*B1 αλληλόμορφο σχετίζεται με την ηλικία έναρξης
MPO	MPO 5' (-463) SNP	Kantarci et al., 2000a	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
PECAM1	PECAM1 I3 (186) MST	Sciacca et al., 2000	Ιταλία	RR	Μη-συσχετισμός
TGFβ1	TGF β 15' (-800) SNP	Green et al., 2001	ΗΠΑ	RR, SP	Μη-συσχετισμός
TGFβ1	TGF β 15' (-509) SNP	Green et al., 2001	ΗΠΑ	RR, SP	TGF β 15' (-509)* C αλληλόμορφο ευνοϊκό

TGFβ1	TGFβ1 (codon 10) SNP	Green et al., 2001	ΗΠΑ	RR, SP	TGFβ1 (codon 10)*T αλληλόμορφο ευνοϊκό
TGFβ1	TGFβ1 (codon 25) SNP	Green et al., 2001	ΗΠΑ	RR, SP	Μη-συσχετισμός
TGFβ1	TGFβ1 (codon 263) SNP	Green et al., 2001	ΗΠΑ	RR, SP	Μη-συσχετισμός
TNFα	TNFα 5' (-308) SNP	Mann et al., 1998	Μ. Βρετανία	ΔΑ	Μη-συσχετισμός
		Maurer et al., 2000	Γερμανία	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός
		Weinshenker et al., 1997	ΗΠΑ	RR, SP, PP	Μη-συσχετισμός

Kantarci OH, 2002, J NeuroImmunol

SNP=Απλός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός, VNTR=Πολλαπλός αριθμός επαναλήψεων βάσεων, MST=Μικροδορυφορικός, INS=Προσθήκη, DEL=Απαλοιφή, GDEL=ολική ή μερική απαλειφή γονιδίου, ln=ιντρόνιο, εξ=εξώνιο, ALTP=απλότυπος, I=αριθμός ιντρονίου, E=αριθμός εξωνίου.

Υπό το φως λοιπόν των ενδείξεων της ύπαρξης γενετικής συνιστώσας στην αιτιοπαθογένεια της ΣΚΠ, όπως προκύπτει μέσω των μελετών σε οικογένειες και διδύμους, τα αντιφατικά αποτελέσματα για πολλά υποψήφια γονίδια του ανοσοποιητικού συστήματος που έχουν μελετηθεί, καθώς και τα μη-αποκαλυπτικά αποτελέσματα των μελετών ανάλυσης σύνδεσης σε όλο το γονιδίωμα, εγείρουν τρία θεμελιώδη ζητήματα που αφορούν τη γενετική της ΣΚΠ.

Πρώτον, τη μαθηματική προσέγγιση που χρησιμοποιείται και τον τρόπο που αυτή εφαρμόζεται. Πρέπει να συγκριθούν οι μέθοδοι ευρείας προσέγγισης της ανακάλυψης γονιδίων επιρρέπειας, όπως οι μέθοδοι μελέτης ανάλυσης σύνδεσης και οι μέθοδοι μελέτης συσχετισμού (Devlin B, 1999, Ioannidis JP, 2001). Δεδομένης της ασθενούς γενετικής συμβολής του κάθε γενετικού τόπου στα πολυπαραγοντικά νοσήματα, ένας πολύ υψηλός αριθμός δεικτών σε κοντινές αποστάσεις μεταξύ τους απαιτείται, ώστε να επιτευχθεί μέγιστη αναλυτική δύναμη. Για παράδειγμα, για να επιτύχουν οι μελέτες συσχέτισης μια δύναμη προσδιορισμού >80% μιας μέτριας γενετικής επίδρασης (OR 1.2) ενός πολυμορφισμού παρόντος σε 10% των ατόμων, απαιτείται ένα μέγεθος δειγμάτων 10.000 ή περισσότερων (Zintzaras E, 2008, Zintzaras E, 2008). Επομένως, το μέγεθος των δειγμάτων που απαιτείται για την πρόβλεψη μιας συσχέτισης πρέπει να είναι πολύ μεγαλύτερο από αυτό που είναι σήμερα διαθέσιμο και κανένα ίδρυμα ή ερευνητική ομάδα από μόνη της, δεν είναι εύκολο να παρέχει έναν τέτοιο αριθμό ασθενών. Εντούτοις, μια μελλοντική μετα-ανάλυση πολλαπλών μελετών έχει σαφώς έναν σημαντικό ρόλο στην προσφορά μιας ανάλυσης με τη δυνατότητα για υψηλότερη δύναμη (Zintzaras E, 2008). Μελλοντικές μελέτες σε συνεργασία ίσως επιτρέψουν τη συγκέντρωση στοιχείων, παρέχοντας περισσότερη δύναμη ως προς την ανίχνευση σημαντικών συσχετίσεων. Επιπλέον, κοινοπραξίες που εκτελούν μελέτες συσχέτισης υποψήφιων γονιδίων ή ευρέος γονιδιώματος θα είναι σε θέση να αναπαράγουν την ισχύ των παρόντων

συμπερασμάτων (Zintzaras E, 2008, Zintzaras E, 2008, Kitsios GD, 2009, Kitsios GD 2009). Απαιτείται επίσης, υπερβολικά μεγάλος όγκος δεδομένων ώστε να ανιχνευθεί σύνδεση με τόπους με μικρότερη επήρεια από αυτή του HLA, για παράδειγμα, ώστε οι μέθοδοι σύνδεσης φαίνεται να είναι καταλληλότερες για εφαρμογή σε σχετικά λίγες, αλλά μεγάλες, σειρές συγγενών πολλών γενεών και με πολλά προσβεβλημένα μέλη, τόσο για τις παραμετρικές αναλύσεις της μεθόδου, όσο και για τις μη-παραμετρικές. Στις μελέτες συσχετισμού, η συλλογή μεγάλου αριθμού δειγμάτων είναι ευκολότερη, καθώς δεν απαιτούνται σπάνιες οικογενείς περιπτώσεις. Αυτές οι μελέτες φαίνονται πιο ευέλικτες για χρήση στη διερεύνηση των πολυπαραγοντικών νοσημάτων. Εφαρμόζονται όμως, κυρίως, για υποψήφια γονίδια παρά για έλεγχο ολόκληρου του γονιδιώματος για εύρεση υποψήφιων τόπων. Επίσης, μείζονος σημασίας είναι η εθνική ομοιογένεια των ατόμων που περιλαμβάνονται σε αυτές τις μελέτες και αποτελεί το μεγαλύτερο περιορισμό τους. Εύκολα μπορεί να προκύψουν ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα συσχετισμού, όταν δεν δοθεί επαρκής σημασία στο εθνικό υπόβαθρο του πληθυσμού. Οποιαδήποτε στατιστική διαδικασία κι αν χρησιμοποιηθεί, πρέπει να υπολογισθεί σωστά ο απαιτούμενος αριθμός δειγμάτων ώστε αυτή να είναι αποδοτική.

Δεύτερον, τη μεθοδολογία που εφαρμόζεται αναφορικά με την ταξινόμηση των ασθενών που συμμετέχουν στις μελέτες. Δεν υφίσταται πάντα ακολουθία στον τρόπο ταξινόμησης των ασθενών ως προς τις μορφές της νόσου, ενώ και η ταξινόμησή τους αναφορικά με την πορεία της νόσου και τη σοβαρότητά της περιέχουν κάποιου βαθμού ανακολουθία μεταξύ των μελετών. Είναι δυνατόν μεταβολές στην πορεία της νόσου μέσα στο χρόνο, όπως μετάπτωση από τη RR μορφή στη SP, να διαφεύγουν της παρατήρησης. Έτσι, είναι δυνατόν η μαθηματική προσέγγιση να είναι ορθή, εντούτοις, να προκύπτουν εσφαλμένα αποτελέσματα λόγω σφάλματος στη μεθοδολογία επιλογής και ταξινόμησης των ασθενών. Ένας συσχετισμός που αφορά σε μία μορφή της νόσου και όχι στο σύνολό της, θα μπορούσε να διαφύγει, όπως επίσης θα μπορούσε και να προκύπτει εσφαλμένα, λόγω αδυναμιών ταξινόμησης.

Τρίτον, την ετερογένεια της νόσου. Η τεράστια κλινική ετερογένεια της ΣΚΠ είναι οικεία στους νευρολόγους, ενώ η αίσθηση της ύπαρξης γενετικής ετερογένειας στην πολυπαραγοντική αυτή νόσο γίνεται διαρκώς εντονότερη. Ακόμη και μεταξύ ομοιογενούς πληθυσμού είναι δυνατόν διάφοροι περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες να οδηγούν σε φαινότυπο διαγιγνωσκόμενο ως ΣΚΠ. Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι έξοχο παράδειγμα μιας ετερογενούς ομάδας καταστάσεων στις οποίες για την ανίχνευση γονιδίων της νόσου απαιτήθηκε πολύ προσεκτική κλινική διάγνωση αλλά και ταξινόμηση των ασθενών σε υποσύνολα, με βάση μεταβολικές παραμέτρους ή εύρεση του τύπου HLA. Παρομοίως, μία μελλοντική πρόκληση για την έρευνα στη ΣΚΠ, φαίνεται να είναι η αποσαφήνιση της ύπαρξης ειδικών υποσυνόλων της.

Υπό τη σκέπη λοιπόν των ανωτέρω παρατηρήσεων, στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε, για πρώτη φορά σε Έλληνες ασθενείς με ΣΚΠ, η πιθανή συσχέτιση των γενετικών πολυμορφισμών +3953 C/T του 5^{ου} εξονίου του γονιδίου της IL-1B, -511 C/T τμήματος του υποκινητή του γονιδίου της IL-1B, 86bp VNTR πεντ-αλληλικού του 4^{ου} ιντρονίου του γονιδίου της IL-1RN, +114 G/T του 1^{ου} εξονίου του γονιδίου της IL-2 και -384 G/T τμήματος του υποκινητή του γονιδίου της IL-2, με την επιρρέπεια

προς εκδήλωση ΣΚΠ, τη σοβαρότητα της νόσου και αρκετά άλλα κλινικά χαρακτηριστικά, χωρίς όμως τα ευρήματά μας να αγγίζουν το όριο της στατιστικής σημαντικότητας. Εντούτοις, τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με τις περισσότερες από τις προηγούμενες μελέτες.

Το δείγμα των ασθενών μας ήταν σχετικά μικρό, αλλά οι μελέτες συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων, όπως αναφέρθηκε, έχουν την τάση να στερούν τη δύναμη ανίχνευσης μιας στατιστικά σημαντικής συσχέτισης. Εντούτοις, η μελέτη μας πληρεί όλες σχεδόν τις ελάχιστες προϋποθέσεις, ώστε μια μελέτη συσχέτισης να είναι πληροφοριακή. Αυτές περιλαμβάνουν τους ελεγμένους υγιείς μάρτυρες αντιστοιχημένους στον πληθυσμό, καλό επιστημονικό συλλογισμό, χαμηλή συχνότητα ασθενών που αρνήθηκαν τη συμμετοχή, παρουσία της Η-W ισορροπίας στους γονότυπους και παρόμοιο υπόβαθρο ηθικής-συγκατάθεσης-δεοντολογίας. Έχει επίσης όλους τους περιορισμούς που ισχύουν στις γενετικές μελέτες συσχέτισης (Cardon LR, 2001). Επειδή το Π.Γ.Ν. Λάρισας είναι το μόνο τριτοβάθμιο νοσοκομείο που καλύπτει μια αγροτική και αστική περιοχή με σχεδόν 1 εκατομμύριο κατοίκους, οι ασθενείς που συμμετέχουν σε αυτή την μελέτη είναι ασθενείς με ΣΚΠ βασισμένοι στον πληθυσμό. Για το λόγο αυτό, περισσότεροι ασθενείς προχωρημένου σταδίου παραπέμπονται συνήθως στο νοσοκομείο μας και επομένως, δεν μπορούμε να αποκλείσουμε την πιθανότητα ότι μια επιλογή προκατάληψης έχει συμβεί.

1) IL-1

Οι IL-1α και IL-1β ανήκουν στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και αποτελούν ενδιαφέροντα στόχο μελέτης, λόγω του κεντρικού τους ρόλου στη φλεγμονώδη και ανοσιακή απάντηση, δεδομένου ότι η ΣΚΠ χαρακτηρίζεται παθολογικά από πολλαπλές περιοχές φλεγμονής και ανοσολογικώς ρυθμιζόμενης απομυελίνωσης. Στοιχεία που συνηγορούν υπέρ της σκοπιμότητας διερεύνησης του ρόλου της IL-1 στη νόσο, αποτελούν η ανεύρεσή της εντός και περιμετρικά των ορίων των βλαβών της νόσου, όπου παράγεται από τα μακροφάγα και τα κύτταρα της μικρογλοίας, οι ενδείξεις ενεργής συμμετοχής της στην εμφάνιση των απομυελινωτικών πλακών στο ΚΝΣ, η διέγερση προς πολλαπλασιασμό των Β-λεμφοκυττάρων και Τ-λεμφοκυττάρων, ο συσχετισμός της με πολλές χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις και πολλά άλλα στοιχεία της δράσης της.

I. Πολυμορφισμοί της IL-1 σε άλλα νοσήματα

Η παρουσία πολυμορφισμών των γονιδίων της IL-1 σε ασθενείς με νόσο Alzheimer (AD), υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η φλεγμονή είναι σημαντική στην εκδήλωση αλλά και την κλινική πορεία της νόσου (Rogers J, 2000). Η φλεγμονή ίσως συμβάλλει στην παθοφυσιολογία της AD και δυναμικοί νευροτοξικοί διαμεσολαβητές της φλεγμονής, όπως η IL-1, εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα από τα γλοιακά κύτταρα ασθενών με AD και πιθανώς οδηγούν σε νευρωνικό τραυματισμό. Πολυμορφισμοί της IL-1 αυξάνουν πράγματι τον κίνδυνο εμφάνισης AD και ειδικότερα ο πολυμορφισμός στη θέση -889 του εκκινητή (Du Y, 2000). Σε άλλες εργασίες (McGeer PL, 2001), πολυμορφισμοί της IL-1B περιλαμβάνονται σε

μια ομάδα από πολυμορφισμούς και άλλων γονιδίων όπως IL-1A, IL-6, TNF, α-2-μακροσφαιρίνη και α-1-αντιχυμοθρυψίνη, το σύνολο των οποίων αποτελούν ένα προφίλ προδιάθεσης προς AD (Yucesoy B, 2006), καθώς η συνδυασμένη επίδραση πολλαπλών υψηλού κινδύνου αλληλόμορφων αντανακλάται μέσα από την αυξημένη πιθανότητα των φορέων να αναπτύξουν AD. Παράλληλα, έχει βρεθεί ότι η κατανομή του αλληλόμορφου T, όσον αφορά στον +3953 IL-1B πολυμορφισμό, διέφερε σημαντικά μεταξύ ασθενών με πρώιμη και όψιμη έναρξη AD (Sciacca FL, 2003).

Επιπλέον, η ο πολυμορφισμός του γονιδίου της IL-1B στη θέση +3953 έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται με διάφορα νοσήματα, όπως ο όγκος του λιπώδους ιστού, καθώς και η κατανομή του λιπώδους ιστού, έτσι ώστε φορείς του αλληλόμορφου T (ομοζυγώτες και ετεροζυγώτες) είχαν σημαντικά λιγότερο συνολικό όγκο σωματικού λίπους και λιγότερο λίπος στα χέρια, τα πόδια και τον κορμό τους (Strandberg L, 2006). Άλλα νοσήματα ή καταστάσεις με τα οποία φαίνεται να συσχετίζεται ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός του γονιδίου της IL-1B είναι η νεφρική ανεπάρκεια (Manchanda P, 2006), η ελκώδης κολίτιδα, ο ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης, η νόσος Αδαμαντιάδη-Bechet's (Coskun M, 2005), η ρευματοειδής αρθρίτιδα (Dinarello CA, 1993, Cox A, 1999, Arman A, 2006), η ψωριασική αρθρίτιδα (Ravindran JS, 2004), ο πρόωρος τοκετός (Varner MW, 2005), η χρόνια περιοδοντίτιδα (Kornman KS, 1997, Tian YG, 2006) παρ'ότι υπάρχουν και αρνητικές βιβλιογραφικές αναφορές (Hodge PJ, 2001), ενώ φαίνεται να σχετίζεται με την αρνητική έκβαση αποθεραπείας ασθενών μετά από κρανιοεγκεφαλική κάκωση (Hadjigeorgiou GM, 2005).

Αντιθέτως ο πολυμορφισμός αυτός δεν φαίνεται να συσχετίζεται με το συνολικό σωματικό λίπος σε ηλικιωμένους (Strandberg L, 2008), με τον κίνδυνο καρκίνου της στοματικής κοιλότητας (Vairaktaris E, 2007) ή του μαστού σε γυναίκες της Καυκάσιας φυλής (Hefler LA, 2005), τη χρόνια θρομβοκυτταρική πορφύρα (Sato T, 2004), τον κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης (Pieroni F, 2007), το γλαύκωμα (How AC, 2007, Wang CY, 2007), τη σχιζοφρένεια (Pawlik A, 2005, Saiz PA, 2006), τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (Tolusso B, 2006) και την περιφερική αρτηριακή αποφρακτική νόσο (Potaczek D, 2005).

Όσον αφορά στην πιθανή συσχέτιση των γνωστών πολυμορφισμών των γονιδίων της IL-1B με την εμφάνιση της οστεοπόρωσης, έχει δειχθεί ότι ο VNTR πολυμορφισμός των επαναλαμβανόμενων 86bp συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων, ενώ οι άλλοι πολυμορφισμοί δεν βρέθηκαν να εμπλέκονται.

II. Πολυμορφισμοί της IL-1 και ΣΚΠ

Όσον αφορά στον 86bp IL-1RN (VNTR) πολυμορφισμό, ενώ απαντώνται πέντε αλληλόμορφα γονίδια, μόνο το αλληλόμορφο γονίδιο 1 (IL-1RN*1, 4 επαναλήψεις) και το αλληλόμορφο γονίδιο 2 (IL-1RN*2, 2 επαναλήψεις) έχουν μια πιθανή κλινική συσχέτιση, δεδομένου ότι αυτά τα δύο αλληλόμορφα αποτελούν περίπου το 99% όλων των προσδιορισμένων IL-1RN (VNTR) πολυμορφισμών (Tarlou JK, 1993). Το IL-1RN*2 αλληλόμορφο εμφανίζεται να έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία, δεδομένου ότι έχει αποδειχθεί ότι οι IL-1RN*2 φορείς έχουν αυξημένα IL-1Rα επίπεδα πλάσματος και αυξημένη IL-1β παραγωγή, μειωμένη IL-1α παραγωγή και

μειωμένη τοπική παραγωγή IL-1Ra σε διάφορους ιστούς (Danis VA, 1995, Arend WP, 2002). Ο +3953 πολυμορφισμός στο γονίδιο της IL-1B έχει φανεί να επηρεάζει την παραγωγή της IL-1β (Pociot F, 1992), με το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο γονίδιο της IL-1B να αποτελεί δείκτη του IL-1B φαινοτύπου υψηλής εκκριτικότητας (Pociot F, 1992). Επίσης, έχει φανεί ότι ο απλότυπος -511T/-31C (TC) σχετίζεται με ελαττωμένα επίπεδα IL-1β στην κυκλοφορία (Smith AJ, 2009).

Πολυάριθμες μελέτες (πίνακας 44) έχουν ερευνήσει την πιθανή συσχέτιση των προαναφερθέντων πολυμορφισμών με την επιρρέπεια προς εκδήλωση ΣΚΠ ή με κλινικά χαρακτηριστικά με αμφισβητούμενα αποτελέσματα, προτείνοντας μια ανοσογενετική ετερογένεια της ασθένειας. Μια σχετική εξήγηση για τις αποκλίσεις αυτές, μπορεί, όπως αναφέρθηκε, να είναι οι δημογραφικές διαφορές και το διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο των πληθυσμών που μελετήθηκαν, που έχουν αποδειχθεί πολύ σημαντικές στην διακύμανση της σοβαρότητας της νόσου και της πορείας της (Kira J, 1996).

Πίνακας 44

Μελέτες συσχέτισης του γονιδίου της IL-1 με την επιρρέπεια προς εκδήλωση της ΣΚΠ και της βαρύτητας της νόσου

Μελέτη	Πληθυσμός	Επίδραση στη βαρύτητα της νόσου	Επίδραση στην εμφάνιση της νόσου
Πολυμορφισμός IL-1RN VNTR			
Crusius et al, 1994, J Interfer Res, Netherlands	RR, SP, PP	(-)	IL-1RN*2 αλληλόμορφο
Crusius et al, 1995, Lancet, Netherlands	RR, SP, PP	(-)	IL-1RN*2 αλληλόμορφο
Huang et al, 1996, J Neuroimmunol, Sweden	RR, PP	(-)	(-)
de la Concha et al, J Neuroimmunol, 1997, Spain	RR, SP, PP	IL-1RN*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό, ειδικά σε γυναίκες με RR μορφή	IL-1RN*2 αλληλόμορφο στη RR μορφή
Epplen et al, 1997, Ann Neurol, Germany	RR, SP, PP	(-)	(-)
Wansen et al, 1997, J Neuroimmunol, Finland	Οικογένειες με 1 ασθενή και 2 υγιείς γονείς	(-)	(-)
Semana et al, 1997, Lancet, France	1) Σποραδική, 2) Μάρτυρες με βάση την οικογένεια	(-)	(-)
Quelvennec et al, 1998, J Neurol, France	Μάρτυρες με βάση την οικογένεια	(-)	(-)
Sciacca et al, 1999, Neurology, Italy	RR, SP	IL-1RN*1 αλληλόμορφο μη ευνοϊκό, IL-1RN*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό	IL-1RN*1 αλληλόμορφο
Schrijver et al, 1999, Neurology, Netherlands	RR, SP, PP	IL-1RN*2 αλληλόμορφο μη ευνοϊκό μόνο όταν επίσης μη φορέας για το ευνοϊκό IL-1B	(-)

		(+3953)*2 αλληλόμορφο (τάση)	
Kantarci et al, 2000, J Neuroimmunol, USA	RR, SP, PP	IL-1RN*3 αλληλόμορφο ευνοϊκό	(-)
Feakes et al, 2000, J Neuroimmunol, Britain	Οικογένειες με 1 ασθενή και τους 2 γονείς, RR, SP, PP	IL-1RN*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό (τάση) (διάρκεια νόσου ≥ 10 χρόνια)	
Niino et al, J Neuroimmunol, 2001, Japan	RR, SP	(-)	(-)
Luomala et al, 2001, J Neurol Sci, Finland	RR, SP, PP	IL-1RN*2 αλληλόμορφο μη ευνοϊκό μόνο όταν επίσης μη φορέας για το IL-1B (+3953)*2 αλληλόμορφο	IL-1RN*2 αλληλόμορφο σε γυναίκες
de Jong, 2002, J Neuroimmunol, Netherlands	Οικογενής (ασθενείς και τουλάχιστον 2 πρώτου βαθμού συγγενείς) RR, SP, PP	(-)	(-)
Mann et al, 2002, J Neuroimmunol, Britain	RR, PP, PR	IL-1RN*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό (όλες οι περιπτώσεις με διάρκεια νόσου ≥ 10 χρόνια και PP μορφή χωριστά), συνδυασμός της μη φορέας του IL-1B (+3953)*1 αλληλόμορφου και της φορέας του IL-1RN (VNTR)*2 αλληλόμορφου: ευνοϊκός	IL-1RN*2 αλληλόμορφο (τάση)
Hooper-van Veen et al, 2003, Mult Scler, Netherlands	RR, SP, PP	(-)	(-)
Dinčić, et al, 2006, J Neuroimmunol, Serbia	RR, SP, PP	(-)	Μη φορεία για το IL-1RN*2 αλληλόμορφο
Borzani I et al, 2010, Eur J Neurol, Italy	RR, SP, PP	(-)	(-)
Πολυμορφισμός IL-1B (-511)			
Quelvennec et al, 1998, J Neurol, France	Μάρτυρες με βάση την οικογένεια	(-)	(-)
Ferri et al, 2000, J Neurol Neurosurg Psychiatry, Italy	RR	IL-1B (-511)*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό (τάση)	(-)
Feakes et al, 2000, J Neuroimmunol, Britain	Οικογένειες με 1 ασθενή και τους 2 γονείς, RR, SP, PP	IL-1B (-511)*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό (τάση) (διάρκεια νόσου ≥ 10 χρόνια)	(-)
Luomala et al, 2001, J Neurol Sci, Finland	RR, SP, PP	(-)	(-)
Mann et al, 2002, J Neuroimmunol, Britain	RR, PP, PR	IL-1B (-511)*1 αλληλόμορφο μη ευνοϊκό, IL-1B (-511)*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό (όλες οι περιπτώσεις με διάρκεια νόσου ≥ 10 χρόνια και PP χωριστά)	(-)
Hooper-van Veen et al, 2003, Mult Scler, Netherlands	RR, SP, PP	(-)	(-)
Mustafina OE et al, 2008, Russian J	Δεν αναφέρεται	(-)	Συνδυασμός IL-1B

Genetics, Russia			(-511)*T*T γονότυπου και APOE*4 αλληλόμορφου: μη ευνοϊκός
Borzani I et al, 2010, Eur J Neurol, Italy	RR, SP, PP	(-)	IL-1B (-511)*T αλληλόμορφο ευνοϊκό
Πολυμορφισμός IL-1B (+3953)			
Wansen et al, 1997, J Neuroimmunol, Finland	Οικογένειες με 1 ασθενή και 2 υγιείς γονείς	(-)	(-)
Quelvennec et al, 1998, J Neurol, France	Μάρτυρες με βάση την οικογένεια	(-)	(-)
Schrijver et al, 1999, Neurology, Netherlands	RR, SP, PP	IL-1B (+3953)*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό	(-)
Kantarci et al, 2000, J Neuroimmunol, USA	RR, SP, PP	IL-1B (+3953)*2 αλληλόμορφο ευνοϊκό	(-)
Niino et al, J Neuroimmunol, 2001, Japan	RR, SP	(-)	(-)
Luomala et al, 2001, J Neurol Sci, Finland	RR, SP, PP	Μη φορεία του IL-1B (+3953)*2 αλληλόμορφου μη ευνοϊκή μόνο όταν συνυπάρχει με φορεία του IL-1RN*2 αλληλόμορφου	(-)
de Jong, 2002, J Neuroimmunol, Netherlands	Οικογενής (ασθενείς και τουλάχιστον 2 πρώτου βαθμού συγγενείς) RR, SP, PP	(-)	(-)
Mann et al, 2002, J Neuroimmunol, Britain	RR, PP, PR	IL-1B (+3953)*2 αλληλόμορφο μη ευνοϊκό (διάρκεια νόσου ≥ 10 χρόνια) (τάση), συνδυασμός της μη φορείας του IL-1B (+3953)*1 αλληλόμορφου και της φορείας του IL-1RN (VNTR)*2 αλληλόμορφου: ευνοϊκός	(-)
Hooper-van Veen et al, 2003, Mult Scler, Netherlands	RR, SP, PP	(-)	(-)
Dinčić, et al, 2006, J Neuroimmunol, Serbia	RR, SP, PP	(-)	(-)

Μέχρι σήμερα, συσχέτιση του IL-1RN (VNTR) γενετικού πολυμορφισμού και της επιρρέπειας προς εκδήλωση ΣΚΠ έχει καταδειχθεί σε επτά μελέτες (Crusius JB, 1995, de la Concha EG, 1997, Sciacca FL, 1999, Luomala M, 2001, Mann CL, 2002, Dincic E, 2006). Ο Crusius και οι συνεργάτες του (Crusius JB, 1995) ανέφεραν συσχέτιση του IL-1RN*2 με τη ΣΚΠ στην Ολλανδία. Αντίθετα, η Dincic και οι συνεργάτες της (Dincic E, 2006) παρουσίασαν στοιχεία της συσχέτισης μεταξύ των μη-φορέων IL-1RN*2 και της ΣΚΠ στη Σερβία Μαυροβούνιο, ενώ ο Sciacca και οι συνεργάτες του (Sciacca FL, 1999) βρήκαν συσχέτιση του IL-1RN*1 με τη ΣΚΠ στην

Ιταλία. Επιπλέον, άλλες δύο μελέτες παρουσίασαν δεδομένα που προτείνουν συσχέτιση μεταξύ αυτού του πολυμορφισμού και ενός υποπληθυσμού της ΣΚΠ (de la Concha EG, 1997, Luomala M, 2001). Συγκεκριμένα, ο Luomala και οι συνεργάτες του στη Φινλανδία, βρήκαν συσχέτιση του αλληλόμορφου IL-1RN*2 με την επιρρέπεια προς εκδήλωση ΣΚΠ σε γυναίκες, ενώ ο de la Concha και οι συνεργάτες του στην Ισπανία, βρήκαν συσχέτιση του ίδιου αλληλόμορφου με τη RR μορφή της νόσου. Ο συγκεκριμένος συσχετισμός στη μελέτη του de la Concha και των συνεργατών του έγινε ισχυρότερος όταν εξετάστηκε η φορεία του αλληλόμορφου-2 του IL-1RN σε συνδυασμό με την φορεία του υποτύπου DRB1*1501 του DR2 του αλληλόμορφου του HLA. Ο συσχετισμός ήταν ακόμη πιο ισχυρός όταν εξετάστηκε μόνο το γυναικείο φύλο. Φαίνεται ότι η συνδυασμένη κληρονόμηση του αλληλόμορφου-2 του IL-1RN και του DRB1*1501 αλληλόμορφου του HLA αυξάνει αθροιστικά την επιρρέπεια προς εκδήλωση της RR μορφής της ΣΚΠ, εντούτοις η αύξηση αυτή δεν αρκεί για να εξηγήσει τον αυξημένο κίνδυνο που προκύπτει μέσα από τις μελέτες οικογενειών.

Όσον αφορά στη βαρύτητα της νόσου, η παρουσία ενός συγκεκριμένου αλληλόμορφου του IL-1RN (VNTR) γενετικού πολυμορφισμού βρέθηκε να συνδέεται με τη βαρύτητα της νόσου σε επτά μελέτες (de la Concha EG, 1997, Sciacca FL, 1999, Schrijver HM, 1999 & 2003, Feakes R, 2000, Kantarci OH, 2000, Luomala M, 2001, Mann CL, 2002), σε τρεις από τις οποίες μόνο σε συνδυασμό φορείας με την IL-1B. Συγκεκριμένα, ασθενείς με το συνδυασμό φορέας IL-1RN*2/μη φορέας IL-1B (+3953)*2 παρουσίαζαν υψηλότερο ρυθμό επιδείνωσης και προόδου της αναπηρίας τους, όπως αυτή μετράται με την κλίμακα EDSS στη μελέτη του Schrijver και των συνεργατών του (Ολλανδία) και στη μελέτη του Luomala και των συνεργατών του (Φινλανδία), ενώ στη μελέτη του Mann και των συνεργατών του (Μ. Βρετανία) μικρότερη επιδείνωση εμφάνιζαν οι ασθενείς με το συνδυασμό φορέας IL-1RN*2/μη φορέας IL-1B (+3953)*1. Προτείνεται η πιθανή χρήση αυτών των πολυμορφισμών για τη διάκριση υποσυνόλων ασθενών με χειρότερη πρόγνωση.

Από την άλλη, καμία συσχέτιση δεν έχει καταδειχθεί από τις υπάρχουσες μελέτες μεταξύ του +3953 γενετικού πολυμορφισμού του γονιδίου της IL-1B και της επιρρέπειας προς εκδήλωση ΣΚΠ, ενώ όσον αφορά στον -511 πολυμορφισμό του γονιδίου της IL-1B, υπάρχει μία αναφορά (Borzani I, 2010) για μειωμένη πιθανότητα εκδήλωσης της νόσου στους φορείς του αλληλόμορφου T [IL-1B (-511)*T] στην Ιταλία, αλλά και αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης της ΣΚΠ σε ασθενείς που φέρουν το γονότυπο TT [IL-1B (-511)*T*T] και είναι φορείς του αλληλόμορφου 4, όσον αφορά στο γονίδιο της APOE (APOE*4) (Mustafina OE, 2008) στη Ρωσία. Αντίθετα, συσχετισμός με τη βαρύτητα της νόσου έχει αναφερθεί σε τρεις μελέτες (Feakes R, 2000, Ferri C, 2000, Mann CL, 2002) για τον IL-1B (-511) πολυμορφισμό και σε τέσσερις μελέτες (Schrijver HM, 1999 & 2003, Kantarci OH, 2000, Luomala M, 2001, Mann CL, 2002) για τον IL-1B (+3953) πολυμορφισμό.

2) IL-2

Όπως αναφέρθηκε, η IL-2 θεωρείται σήμερα μία από τις κύριες ανοσορυθμιστικές κυτταροκίνες με προφλεγμονώδη και αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα, προάγοντας τον πολλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων κατά τη διάρκεια όλων των διαμεσολαβητικών αντιδράσεων και προωθώντας την επιβίωση και διαφοροποίηση των Th1 και Th2 κυττάρων. Αποτελεί λοιπόν, ενδιαφέροντα στόχο μελέτης, δεδομένης της αυτοάνοσης φύσης της ΣΚΠ και το συσχετισμό της IL-2 με πολλές χρόνιες φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες παθήσεις, μεταξύ των οποίων ο σακχαρώδη διαβήτης τύπου I (Qu HQ, 2009, Wang J, 2009, Kawasaki E, 2009, Klinker MW, 2010), η ρευματοειδής αρθρίτιδα (Daha NA, 2009, Trajkon D, 2009), η κοιλιοκάκη και η ελκώδης κολίτιδα (Glas J, 2009), η ψωρίαση (Liu Y, 2008), η νεανική ιδιοπαθής αρθρίτιδα (Hinks A, 2010), η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (Márquez A, 2009), ο ΣΕΛ (Lu ZM, 2009), η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (Weetman AP, 2009) το ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα (Wei YS, 2010), οι λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος (Belisle SE, 2010), η AD (Ribizzi G, 2010), η χρόνια περιοδοντίτιδα (Reichert S, 2009) κ.α.

I. Πολυμορφισμοί της IL-2 και ΣΚΠ

Μέχρι σήμερα, υπάρχουν λίγες μόνο αναφορές για πιθανή συσχέτιση του γονιδίου της IL-2 και της ΣΚΠ. Σε μια μελέτη συσχέτισης γονιδίων σε Καυκάσιο πληθυσμό στην οποία χρησιμοποιήθηκαν χωριστοί πολυμορφικοί μικρο-δορυφορικοί δείκτες για το γονίδιο της IL-2 (McDonnell GV, 2000), καμία σημαντική διαφορά δεν υπήρξε στις συχνότητες των αλληλόμορφων γονιδίων μεταξύ των ασθενών με ΣΚΠ και των υγιών μαρτύρων, ούτε παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην PP μορφή της νόσου έναντι της RR ή της SP μορφής για το μικρο-δορυφορικό δείκτη της IL-2. Το test μετάδοσης ανισορροπίας (TDT) ενός στενά κωδικοποιημένου IL-2 μικρο-δορυφορικού δείκτη σε 502 οικογένειες τριών μελών (και οι γονείς και ένας επηρεασθείς απόγονος) στη Μεγάλη Βρετανία δεν αποκάλυψε κανένα σημαντικό στοιχείο για την ανισορροπία διασύνδεσης (Feakes R, 2000).

Όσον αφορά στον +114 πολυμορφισμό στο γονίδιο της IL-2, που αφορά σε μια σιωπηλή μεταλλαγή στο οδηγό πεπτιδίο και επομένως καμίας λειτουργικής σημασίας και στις δύο υπάρχουσες αναφορές (Matesanz F, 2001, Kikuchi S, 2002) φαίνεται ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός δεν σχετίζεται με την επιρρέπεια προς εκδήλωση ΣΚΠ. Από την άλλη, ο δεύτερος πολυμορφισμός (-384) συμβαίνει στην περιοχή του εκκινητή και μπορεί επομένως να έχει μια επίδραση στα επίπεδα παραγωγής της IL-2. Σε προγενέστερη μελέτη για την παραγωγή κυτταροκίνης στα αντι-CD3/CD28-ερεθισμένα περιφερικά λεμφοκύτταρα αίματος (PBL), τα άτομα που ήταν ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο γονίδιο G (GG) στην περιοχή -384 στην περιοχή του εκκινητή του γονιδίου της IL-2 παρήγαγαν περισσότερο από τρεις φορές περισσότερη IL-2 από αυτούς με το γονότυπο GT ή TT (Hoffmann SC, 2001). Οι μελέτες αυτές δείχνουν ότι ο πολυμορφισμός στη θέση -384 στην περιοχή του εκκινητή έχει μια διαφορετική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα από τον πολυμορφισμό +114. Στη μελέτη του Matesanz και των συνεργατών του σε Ισπανικό πληθυσμό (Matesanz F, 2001), φάνηκε ότι δύο από τους -384 γονότυπους (GT και

ΤΤ) σχετίζονταν με την επιρρέπεια προς εκδήλωση της SP μορφή της νόσου. Εντούτοις, η μελέτη του Kikuchi (Kikuchi S, 2002) δεν έδειξε καμία σημαντική συσχέτιση αυτού του πολυμορφισμού σε Ιάπωνες ασθενείς με ΣΚΠ.

Αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν και για άλλους πολυμορφισμούς στο γονίδιο της IL-2, ιδίως για τον -330 G/T, παρέχοντας αντιφατικά αποτελέσματα (Matesanz F, 2004, Amirzargar A, 2007, Shokrgozar MA, 2009, Fedetz M, 2009), ενώ αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο το έντονο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια για την άλφα αλυσίδα του γονιδίου του υποδοχέα της IL-2 (IL2RA), καταδεικνύοντας με τον τρόπο αυτό την IL-2 ως ενδιαφέροντα στόχο μελέτης και ανοσολογικής σπουδαιότητας.

Στη συγκεκριμένη διατριβή, η κατανομή των γονοτύπων και των αλληλόμορφων είναι σε συνάφεια με τα αποτελέσματα της μελέτης του Matesanz και των συνεργατών του, με τους γονότυπους GG, όσον αφορά στον IL-2 (-384) πολυμορφισμό και ΤΤ, όσον αφορά στο IL-2 (+114) πολυμορφισμό, να ανιχνεύονται σε αρκετά χαμηλό ποσοστό και τους άλλους γονότυπους σχετικά «μοιρασμένους», χωρίς όμως τα αποτελέσματα να αγγίζουν τα όρια της στατιστικής σημαντικότητας. Αντιθέτως, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης δεν φαίνεται να συμφωνούν με τα ευρήματα του Kikuchi και των συνεργατών του (Ιάπωνες ασθενείς), γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι οι φυλετικές και εθνικές διαφορές μπορούν να έχουν επιπτώσεις όχι μόνο στην επιρρέπεια προς εκδήλωση της νόσου, αλλά και στη φαινοτυπική έκφραση της ΣΚΠ, συμπεριλαμβανομένων των κλινικών εκδηλώσεων, της ανατομικής περιοχής των βλαβών, της πορείας της νόσου και της πρόγνωσης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, τα ευρήματά μας δείχνουν ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν την IL-1B, τον IL-1RN και την IL-2 δεν σχετίζονται με την πιθανότητα εκδήλωσης της ΣΚΠ, ούτε με επιμέρους κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου σε Έλληνες ασθενείς της Κεντρικής Ελλάδας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 1996 Oct 31;383(6603):787-93.
- Abbott F, Ryan JJ, Ceska M, Matsushima K, Sarraf CE, Rees AJ. Interleukin-1 beta stimulates human mesangial cells to synthesize and release interleukins-6 and -8. *Kidney Int*. 1991 Oct;40(4):597-605.
- Achiron A, Gabbay U, Gilad R, Hassin-Baer S, Barak Y, Gornish M, Elizur A, Goldhammer Y, Sarova-Pinhas I. Intravenous immunoglobulin treatment in multiple sclerosis. Effect on relapses. *Neurology*. 1998 Feb;50(2):398-402.
- Achiron A, Pras E, Gilad R, Ziv I, Mandel M, Gordon CR, Noy S, Sarova-Pinhas I, Melamed E. Open controlled therapeutic trial of intravenous immune globulin in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1992 Dec;49(12):1233-6.
- Achiron A, Rotstein Z, Noy S, Mashiach S, Dulitzky M, Achiron R. Intravenous immunoglobulin treatment in the prevention of childbirth-associated acute exacerbations in multiple sclerosis: a pilot study. *J Neurol*. 1996 Jan;243(1):25-8.
- Achiron A, Ziv I, Djaldetti R, Goldberg H, Kuritzky A, Melamed E. Aphasia in multiple sclerosis: clinical and radiologic correlations. *Neurology*. 1992 Nov;42(11):2195-7.
- Adachi K, Kumamoto T, Araki S. Elevated soluble interleukin-2 receptor levels in patients with active multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1990 Nov;28(5):687-91.
- Adams CW, Poston RN, Buk SJ. Pathology, histochemistry and immunocytochemistry of lesions in acute multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 1989 Sep;92(2-3):291-306.
- Adams DH, Wang L, Hubscher SG, Elias E, Neuberger JM. Soluble interleukin-2 receptors in serum and bile of liver transplant recipients. *Lancet*. 1989 Mar 4;1(8636):469-71.
- Adams RD, Victor M, Ropper AH. *Principles of Neurology*. 7th ed. McGraw-Hill 2001:957-8.
- Alam J, Goelz S, Rioux P, Scaramucci J, Jones W, McAllister A, Campion M, Rogge M. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of two recombinant human interferon beta-1a (IFN beta-1 a) products administered intramuscularly in healthy male and female volunteers. *Pharm Res*. 1997 Apr;14(4):546-9.
- Alba A, Puertas MC, Carrillo J, Planas R, Ampudia R, Pastor X, Bosch F, Pujol-Borrell R, Verdager J, Vives-Pi M. IFN beta accelerates autoimmune type 1 diabetes in nonobese diabetic mice and breaks the tolerance to beta cells in nondiabetes-prone mice. *J Immunol*. 2004 Dec 1;173(11):6667-75.
- Allen M, Sandberg-Wollheim M, Sjögren K, Erlich HA, Petterson U, Gyllensten U. Association of susceptibility to multiple sclerosis in Sweden with HLA class II DRB1 and DQB1 alleles. *Hum Immunol*. 1994 Jan;39(1):41-8.
- Alter M, Kahana E, Loewenson R. Migration and risk of multiple sclerosis. *Neurology*. 1978 Nov;28(11):1089-93.
- Alter M, Leibowitz U, Speer J. Risk of multiple sclerosis related to age at immigration to Israel. *Arch Neurol*. 1966 Sep;15(3):234-7.
- Altintas A, Kantarci O, Hekim N, et al. 1997. (Abstract) Multiple Sclerosis. *Clinical and Laboratory research*. 3(5);313:119.
- Amirzargar A, Khosravi F, Dianat S, Hushmand F, Maryousef P, Foroushani AR, Lotfi J, Nikbin B. Profile of cytokine gene polymorphisms in Iranian multiple sclerosis patients. *Mult Scler*. 2007 Mar;13(2):253-5.
- Andermann F, Cosgrove JB et al. Facial myokymia in MS. *Brain* 1961;84:31-44.
- Anonymous Guy's Hospital. Two cases of insular sclerosis of the brain and spinal cord. *Lancet* 1875;i:609.
- Archelos JJ, Storch MK, Hartung HP. The role of B cells and autoantibodies in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2000 Jun;47(6):694-706. Review.
- Arend WP. Interleukin 1 receptor antagonist. A new member of the interleukin 1 family. *J Clin Invest*. 1991 Nov;88(5):1445-51. Review.
- Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv Immunol*. 1993;54:167-227. Review.
- Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002 Aug-Oct;13(4-5):323-40. Review.
- Arman A, Yilmaz B, Coker A, Inanc N, Direskeneli H. Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RN) and interleukin-1B gene polymorphisms in Turkish patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2006 Nov-Dec;24(6):643-8.
- Arnason BG. Immunologic therapy of multiple sclerosis. *Annu Rev Med*. 1999;50:291-302. Review.
- Arnason BG, Dayal A, Qu ZX, Jensen MA, Genç K, Reder AT. Mechanisms of action of interferon-beta in multiple sclerosis. *Springer Semin Immunopathol*. 1996;18(1):125-48. Review.
- Ascherio A, Zhang SM, Hernán MA, Olek MJ, Coplan PM, Brodovicz K, Walker AM. Hepatitis B vaccination and the risk of multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2001 Feb 1;344(5):327-32.
- Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, Dinarello CA. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984 Dec;81(24):7907-11.

- Babinski JFF. Du phenomene des orteils et sa valeur semiologique. *La Semaine Medicale*. 1898;321.
- Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2002 Sep 19;347(12):911-20.
- Badovinac V, Mostarica-Stojković M, Dinarello CA, Stosić-Grujčić S. Interleukin-1 receptor antagonist suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in rats by influencing the activation and proliferation of encephalitogenic cells. *J Neuroimmunol*. 1998 May 1;85(1):87-95.
- Baker D, Pryce G et al. Cannabinoids control spasticity and tremor in a MS model. *Nature* 2000;404(6773):84-87
- Bakke A, Myhr KM, Grønning M, Nyland H. Bladder, bowel and sexual dysfunction in patients with multiple sclerosis--a cohort study. *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 1996;179:61-6.
- Balavoine JF, de Rochemonteix B, Williamson K, Seckinger P, Cruchaud A, Dayer JM. Prostaglandin E2 and collagenase production by fibroblasts and synovial cells is regulated by urine-derived human interleukin 1 and inhibitor(s). *J Clin Invest*. 1986 Oct;78(4):1120-4.
- Baltus JA, Boersma JW, Hartman AP, Vandenbroucke JP. The occurrence of malignancies in patients with rheumatoid arthritis treated with cyclophosphamide: a controlled retrospective follow-up. *Ann Rheum Dis*. 1983 Aug;42(4):368-73.
- Bansil S, Cook SD, Rohowsky-Kochan C. Multiple sclerosis: immune mechanism and update on current therapies. *Ann Neurol*. 1995 May;37 Suppl 1:S87-101. Review.
- Bansil S, Troiano R, Cook SD, Rohowsky-Kochan C. Serum soluble interleukin-2 receptor levels in chronic progressive, stable and steroid-treated multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1991 Oct;84(4):282-5.
- Barbeau A, Roy M, Chouza C. Pilot study of threonine supplementation in human spasticity. *Can J Neurol Sci*. 1982 May;9(2):141-5.
- Barkhof F, Rocca M, Francis G, Van Waesberghe JH, Uitdehaag BM, Hommes OR, Hartung HP, Durelli L, Edan G, Fernández O, Seeltrayers P, Sørensen P, Margrie S, Rovaris M, Comi G, Filippi M; Early Treatment of Multiple Sclerosis Study Group. Validation of diagnostic magnetic resonance imaging criteria for multiple sclerosis and response to interferon beta1a. *Ann Neurol*. 2003 Jun;53(6):718-24.
- Barnes D, McDonald WI. The ocular manifestations of multiple sclerosis. 2. Abnormalities of eye movements. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992 Oct;55(10):863-8. Review.
- Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol*. 2004 Apr;55(4):458-68.
- Bassiri H, Carding SR. A requirement for IL-2/IL-2 receptor signaling in intrathymic negative selection. *J Immunol*. 2001 May 15;166(10):5945-54.
- Bateson W. Discussion on the Influence of Heredity on Disease, with special Reference to Tuberculosis, Cancer, and Diseases of the Nervous System: Introductory Address. *Proc R Soc Med*. 1909;2(Gen Rep):22-30.
- Bauer HJ. Problems of symptomatic therapy in multiple sclerosis. *Neurology*. 1978 Sep;28(9 Pt 2):8-20.
- Bauer HJ, Hanefeld FA. Multiple sclerosis: its impact from childhood to old age. Saunders, London 1993, όπως αναφέρεται στο Matthews B. Symptoms and signs of Multiple Sclerosis. In Compston A et al (Eds): McAlpine's Multiple Sclerosis. Churchill Livingstone, London 1998:145-90.
- Beatty WW, Goodkin DE, Monson N, Beatty PA, Hertsgaard D. Anterograde and retrograde amnesia in patients with chronic progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1988 Jun;45(6):611-9.
- Beck PR, Warren KG, Whitman P. Urodynamic studies in female patients with multiple sclerosis. *Am J Obstet Gynecol* 1981;139:273.
- Beck RW, Arrington J, Murtagh FR, Cleary PA, Kaufman DI. Brain magnetic resonance imaging in acute optic neuritis. Experience of the Optic Neuritis Study Group. *Arch Neurol*. 1993 Aug;50(8):841-6.
- Beck RW, Cleary PA, Trobe JD, Kaufman DI, Kupersmith MJ, Paty DW, Brown CH. The effect of corticosteroids for acute optic neuritis on the subsequent development of multiple sclerosis. The Optic Neuritis Study Group. *N Engl J Med*. 1993 Dec 9;329(24):1764-9.
- Beck S, Trowsdale J. The human major histocompatibility complex: lessons from the DNA sequence. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2000;1:117-37. Review.
- Belisle SE, Hamer DH, Leka LS, Dallal GE, Delgado-Lista J, Fine BC, Jacques PF, Ordovas JM, Meydani SN. IL-2 and IL-10 gene polymorphisms are associated with respiratory tract infection and may modulate the effect of vitamin E on lower respiratory tract infections in elderly nursing home residents. *Am J Clin Nutr*. 2010 Jul;92(1):106-14.
- Benoist C, Mathis D. Autoimmunity provoked by infection: how good is the case for T cell epitope mimicry? *Nat Immunol*. 2001 Sep;2(9):797-801. Review.
- Ben-Shlomo Y, Davey Smith G, Marmot MG. Dietary fat in the epidemiology of multiple sclerosis: has the situation been adequately assessed? *Neuroepidemiology*. 1992;11(4-6):214-25. Review.
- Bensi G, Raugei G, Palla E, Carinci V, Tornese Buonamassa D, Melli M. Human interleukin-1 beta gene. *Gene*. 1987;52(1):95-101.
- Benveniste EN, Merrill JE. Stimulation of oligodendroglial proliferation and maturation by interleukin-2. *Nature*. 1986 Jun 5-11;321(6070):610-3.
- Bernton EW, Beach JE, Holaday JW, Smalldridge RC, Fein HG. Release of multiple hormones by a direct action of interleukin-1 on pituitary cells. *Science*. 1987 Oct 23;238(4826):519-21.

- Bessey A, Chetrit M, Carlander B, Billiard M. Use of modafinil in the treatment of narcolepsy: a long term follow-up study. *Neurophysiol Clin.* 1996;26(1):60-6.
- Bever CT Jr, Anderson PA, Leslie J, Panitch HS, Dhib-Jalbut S, Khan OA, Milo R, Hebel JR, Conway KL, Katz E, Johnson KP. Treatment with oral 3,4 diaminopyridine improves leg strength in multiple sclerosis patients: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Neurology.* 1996 Dec;47(6):1457-62.
- Bever CT Jr, Young D et al. The pharmacokinetics and tolerability of slow-release formulation of 4-aminopyridine in MS patients. *Neurology* 1995;45(Suppl 4):A351.
- Bielekova B, Goodwin B, Richert N, Cortese I, Kondo T, Afshar G, Gran B, Eaton J, Antel J, Frank JA, McFarland HF, Martin R. Encephalitogenic potential of the myelin basic protein peptide (amino acids 83-99) in multiple sclerosis: results of a phase II clinical trial with an altered peptide ligand. *Nat Med.* 2000 Oct;6(10):1167-75.
- Bielekova B, Richert N, Howard T, Blevins G, Markovic-Plese S, McCartin J, Frank JA, Würfel J, Ohayon J, Waldmann TA, McFarland HF, Martin R. Humanized anti-CD25 (daclizumab) inhibits disease activity in multiple sclerosis patients failing to respond to interferon beta. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Jun 8;101(23):8705-8. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Dec 14;101(50):17565.
- Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Brück W. Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain.* 2000 Jun;123 (Pt 6):1174-83.
- Bjartmar C, Trapp BD. Axonal and neuronal degeneration in multiple sclerosis: mechanisms and functional consequences. *Curr Opin Neurol.* 2001 Jun;14(3):271-8. Review.
- Bjartmar C, Wujek JR, Trapp BD. Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease. *J Neurol Sci.* 2003 Feb 15;206(2):165-71.
- Blaivas JG, Bhimani G, Labib KB. Vesicourethral dysfunction in multiple sclerosis. *J Urol.* 1979 Sep;122(3):342-7.
- Bobowick AR, Kurtzke JF, Brody JA, Hrubec Z, Gillespie M. Twin study of multiple sclerosis: an epidemiologic inquiry. *Neurology.* 1978 Oct;28(10):978-87.
- Bodel P, Ralph P, Wenc K, Long JC. Endogenous pyrogen production by Hodgkin's disease and human histiocytic lymphoma cell lines in vitro. *J Clin Invest.* 1980 Feb;65(2):514-8.
- Bolton WK, Innes DJ Jr, Sturgill BC, Kaiser DL. T-cells and macrophages in rapidly progressive glomerulonephritis: clinicopathologic correlations. *Kidney Int.* 1987 Dec;32(6):869-76.
- Boolell M, Gopi-Attee S, Gingell JC, Allen MJ. Sildenafil, a novel effective oral therapy for male erectile dysfunction. *Br J Urol.* 1996 Aug;78(2):257-61.
- Bornstein MB, Miller A, Slagle S, Weitzman M, Drexler E, Keilson M, Spada V, Weiss W, Appel S, Rolak L, et al. A placebo-controlled, double-blind, randomized, two-center, pilot trial of Cop 1 in chronic progressive multiple sclerosis. *Neurology.* 1991 Apr;41(4):533-9.
- Borodic GE, Ferrante R, Wiegner AW, Young RR. Treatment of spasticity with botulinum toxin. *Ann Neurol.* 1992 Jan;31(1):113.
- Borzani I, Tola MR, Caniatti L, Collins A, De Santis G, Luiselli D, Mamolini E, Scapoli C. The interleukin-1 cluster gene region is associated with multiple sclerosis in an Italian Caucasian population. *Eur J Neurol.* 2010 Jul;17(7):930-8.
- Bothwell M. Functional interactions of neurotrophins and neurotrophin receptors. *Annu Rev Neurosci.* 1995;18:223-53. Review.
- Boullerne AI, Nedelkoska L, Benjamins JA. Synergism of nitric oxide and iron in killing the transformed murine oligodendrocyte cell line N20.1. *J Neurochem.* 1999 Mar;72(3):1050-60.
- Boutros T, Croze E, Yong VW. Interferon-beta is a potent promoter of nerve growth factor production by astrocytes. *J Neurochem.* 1997 Sep;69(3):939-46.
- Bozek CB, Kastrukoff LF, Wright JM, Perry TL, Larsen TA. A controlled trial of isoniazid therapy for action tremor in multiple sclerosis. *J Neurol.* 1987 Jan;234(1):36-9.
- Bradbury D, Bowen G, Kozłowski R, Reilly I, Russell N. Endogenous interleukin-1 can regulate the autonomous growth of the blast cells of acute myeloblastic leukemia by inducing autocrine secretion of GM-CSF. *Leukemia.* 1990 Jan;4(1):44-7.
- Breder CD, Dinarello CA, Saper CB. Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus. *Science.* 1988 Apr 15;240(4850):321-4.
- Brenneisen R, Egli A, Elsohly MA, Henn V, Spiess Y. The effect of orally and rectally administered delta 9-tetrahydrocannabinol on spasticity: a pilot study with 2 patients. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 1996 Oct;34(10):446-52.
- British and Dutch Multiple Sclerosis Azathioprine Trial Group. Double-masked trial of azathioprine in multiple sclerosis. *Lancet.* 1988 Jul 23;2(8604):179-83.
- Brod SA, Marshall GD Jr, Henninger EM, Sriram S, Khan M, Wolinsky JS. Interferon-beta 1b treatment decreases tumor necrosis factor-alpha and increases interleukin-6 production in multiple sclerosis. *Neurology.* 1996 Jun;46(6):1633-8.
- Brønnum-Hansen H, Koch-Henriksen N, Hyllested K. Survival of patients with multiple sclerosis in Denmark: a nationwide, long-term epidemiologic survey. *Neurology.* 1994 Oct;44(10):1901-7. Review.

- Brosnan CF, Cannella B, Battistini L, Raine CS. Cytokine localization in multiple sclerosis lesions: correlation with adhesion molecule expression and reactive nitrogen species. *Neurology*. 1995 Jun;45(6 Suppl 6):S16-21. Review.
- Brosnan CF, Raine CS. Mechanisms of immune injury in multiple sclerosis. *Brain Pathol*. 1996 Jul;6(3):243-57.
- Broughton RJ, Fleming JA, George CF, Hill JD, Kryger MH, Moldofsky H, Montplaisir JY, Morehouse RL, Moscovitch A, Murphy WF. Randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial of modafinil in the treatment of excessive daytime sleepiness in narcolepsy. *Neurology*. 1997 Aug;49(2):444-51.
- Burt RK, Kozak T. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: finding equipoise. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Aug;32 Suppl 1:S45-8. Review.
- Callegaro D, de Lolio CA, Radvany J, Tilbery CP, Mendonça RA, Melo AC. Prevalence of multiple sclerosis in the city of São Paulo, Brazil, in 1990. *Neuroepidemiology*. 1992;11(1):11-4.
- Campbell FG, Graham JG, Zilkha KJ. Clinical trial of carbamazepine (tegretol) in trigeminal neuralgia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1966 Jun;29(3):265-7.
- Campen DH, Horwitz DA, Quismorio FP Jr, Ehresmann GR, Martin WJ. Serum levels of interleukin-2 receptor and activity of rheumatic diseases characterized by immune system activation. *Arthritis Rheum*. 1988 Nov;31(11):1358-64.
- Cannella B, Raine CS. The adhesion molecule and cytokine profile of multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol*. 1995 Apr;37(4):424-35.
- Capra R, Mattioli F, Marciandò N, Vignolo LA, Bettinzioli M, Airò P, Cattaneo R. Significantly higher levels of soluble interleukin 2 in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis compared with healthy subjects. *Arch Neurol*. 1990 Mar;47(3):254.
- Cardon LR, Bell JI. Association study designs for complex diseases. *Nat Rev Genet*. 2001 Feb;2(2):91-9. Review.
- Carswell R. *Pathological anatomy; illustrations of the elementary forms of disease*. London, Longman, Orme, Brown, Green and Longman, 1838.
- Chabas D, Baranzini SE, Mitchell D, Bernard CC, Rittling SR, Denhardt DT, Sobel RA, Lock C, Karpuj M, Pedotti R, Heller R, Oksenberg JR, Steinman L. The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease. *Science*. 2001 Nov 23;294(5547):1731-5.
- Challoner PB, Smith KT, Parker JD, MacLeod DL, Coulter SN, Rose TM, Schultz ER, Bennett JL, Garber RL, Chang M, et al. Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Aug 1;92(16):7440-4.
- Chalon MP, Sindic CJ, Laterre EC. Serum and CSF levels of soluble interleukin-2 receptors in MS and other neurological diseases: a reappraisal. *Acta Neurol Scand*. 1993 Feb;87(2):77-82.
- Chancellor MB, Rivas DA, Panzer DE, Freedman MK, Staas WE Jr. Prospective comparison of topical minoxidil to vacuum constriction device and intracorporeal papaverine injection in treatment of erectile dysfunction due to spinal cord injury. *Urology*. 1994 Mar;43(3):365-9.
- Chantry D, Turner M, Abney E, Feldmann M. Modulation of cytokine production by transforming growth factor-beta. *J Immunol*. 1989 Jun 15;142(12):4295-300.
- Charcot JM. *Comptes rendus des séances et mémoires lus à la société de Biologie* 1868.
- Charcot JM. *Histologie de la sclérose en plaque*. *Gazette des Hôpitaux* 1868;41:554-66.
- Charcot JM. *Leçons sur les maladies du système nerveux/faites à la Salpêtrière, (Huitième leçon)*, Paris 1875:248-71, 2nd Edition.
- Charcot JM. *Lectures on the diseases of the nervous system*. The new Sydenham Society. London, United Kingdom 1877:157-222.
- Cheng LE, Ohlén C, Nelson BH, Greenberg PD. Enhanced signaling through the IL-2 receptor in CD8+ T cells regulated by antigen recognition results in preferential proliferation and expansion of responding CD8+ T cells rather than promotion of cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Mar 5;99(5):3001-6.
- Cirelli R, Herne K, Tying SK. Interferons – an overview of their pharmacology. *Clin Immunother*. 1996;5(Suppl 1):22-30.
- Claudio L, Martiney JA, Brosnan CF. Ultrastructural studies of the blood-retina barrier after exposure to interleukin-1 beta or tumor necrosis factor-alpha. *Lab Invest*. 1994 Jun;70(6):850-61.
- Clifford DB, Trotter JL. Pain in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1984 Dec;41(12):1270-2.
- Coffey JR, Cahill D, Steers W, Park TS, Ordia J, Meythaler J, Herman R, Shetter AG, Levy R, Gill B, et al. Intrathecal baclofen for intractable spasticity of spinal origin: results of a long-term multicenter study. *J Neurosurg*. 1993 Feb;78(2):226-32.
- Cogle CR, Yachnis AT, Laywell ED, Zander DS, Wingard JR, Steindler DA, Scott EW. Bone marrow transdifferentiation in brain after transplantation: a retrospective study. *Lancet*. 2004 May 1;363(9419):1432-7.
- Cohen MM, Lessell S, Wolf PA. A prospective study of the risk of developing multiple sclerosis in uncomplicated optic neuritis. *Neurology*. 1979 Feb;29(2):208-13.
- Cohen RA, Fisher M. Amantadine treatment of fatigue associated with multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1989 Jun;46(6):676-80.
- Coleman MP, Perry VH. Axon pathology in neurological disease: a neglected therapeutic target. *Trends Neurosci*. 2002 Oct;25(10):532-7. Review.

- Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH, Norris K, Tandon PK, CAMMS223 Trial Investigators. Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2008 Oct 23;359(17):1786-801.
- Colotta F, Dower SK, Sims JE, Mantovani A. The type II 'decoy' receptor: a novel regulatory pathway for interleukin 1. *Immunol Today.* 1994 Dec;15(12):562-6. Review.
- Colvin RB, Fuller TC, MacKeen L, Kung PC, Ip SH, Cosimi AB. Plasma interleukin 2 receptor levels in renal allograft recipients. *Clin Immunol Immunopathol.* 1987 May;43(2):273-6.
- Comi G, O'Connor P, Montalban X, Antel J, Radue EW, Karlsson G, Pohlmann H, Aradhye S, Kappos L; FTY720D2201 Study Group. Phase II study of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis: 3-year results. *Mult Scler.* 2010 Feb;16(2):197-207.
- Comi G, Pulizzi A, Rovaris M, Abramsky O, Arbizu T, Boiko A, Gold R, Havrdova E, Komoly S, Selmaj K, Sharrack B, Filippi M; LAQ/5062 Study Group. Effect of laquinimod on MRI-monitored disease activity in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled phase IIb study. *Lancet.* 2008 Jun 21;371(9630):2085-92.
- Compston A. The genetic epidemiology of multiple sclerosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1999 Oct 29;354(1390):1623-34. Review.
- Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet.* 2002 Apr 6;359(9313):1221-31.
- Compston A (ed), Ebers GC, Lassman H, et al. 1998. In: *McAlpine's multiple sclerosis.* London : Churchill Livingstone.
- Compston DA. The dissemination of multiple sclerosis. The Langdon-Brown lecture 1989. *J R Coll Physicians Lond.* 1990 Jul;24(3):207-18.
- Compston DA. Genetics and Immunology. In: Matthews WB (ed). *McAlpine's Multiple sclerosis 2nd ed.* Edinburgh: Churchill Livingstone, 1991;301-39.
- Compston DA, Batchelor JR, Earl CJ, McDonald WI. Factors influencing the risk of multiple sclerosis developing in patients with optic neuritis. *Brain.* 1978 Sep;101(3):495-511.
- Confavreux C, Aimard G, Devic M. Course and prognosis of multiple sclerosis assessed by the computerized data processing of 349 patients. *Brain.* 1980 Jun;103(2):281-300.
- Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM, Cortinovis-Tourniaire P, Moreau T. Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. *Pregnancy in Multiple Sclerosis Group.* *N Engl J Med.* 1998 Jul 30;339(5):285-91.
- Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000 Nov 16;343(20):1430-8.
- Consroe P, Musty R, Rein J, Tillery W, Pertwee R. The perceived effects of smoked cannabis on patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol.* 1997;38(1):44-8.
- Cook SD. Multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 1998 Mar;55(3):421-3.
- Cook SD, Cromarty JJ, Tapp W, Poskanzer D, Walker JD, Dowling PC. Declining incidence of multiple sclerosis in the Orkney Islands. *Neurology.* 1985 Apr;35(4):545-51.
- Cook SD, MacDonald J, Tapp W, Poskanzer D, Dowling PC. Multiple sclerosis in the Shetland Islands: an update. *Acta Neurol Scand.* 1988 Feb;77(2):148-51.
- Coraddu F, Reyes-Yanez MP, Parra A, Gray J, Smith SI, Taylor CJ, Compston DA. HLA associations with multiple sclerosis in the Canary Islands. *J Neuroimmunol.* 1998 Jul 1;87(1-2):130-5.
- Corbett M, Frankel HL, Michaelis L. A double blind, cross-over trial of Valium in the treatment of spasticity. *Paraplegia.* 1972 May;10(1):19-22.
- Correale J, Lund B, McMillan M, Ko DY, McCarthy K, Weiner LP. T cell vaccination in secondary progressive multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2000 Jul 24;107(2):130-9.
- Coskun M, Bacanlı A, Sallakci N, Alpsoy E, Yavuzer U, Yegin O. Specific interleukin-1 gene polymorphisms in Turkish patients with Behçet's disease. *Exp Dermatol.* 2005 Feb;14(2):124-9.
- Courville CB. Concentric sclerosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW (Eds). *Handbook of Clinical Neurology.* North Holland Publishing. Amsterdam, 1970:437-51.
- Cox A, Camp NJ, Cannings C, di Giovine FS, Dale M, Worthington J, John S, Ollier WE, Silman AJ, Duff GW. Combined sib-TDT and TDT provide evidence for linkage of the interleukin-1 gene cluster to erosive rheumatoid arthritis. *Hum Mol Genet.* 1999 Sep;8(9):1707-13.
- Cozzolino F, Torcia M, Aldinucci D, Rubartelli A, Miliani A, Shaw AR, Lansdorp PM, Di Guglielmo R. Production of interleukin-1 by bone marrow myeloma cells. *Blood.* 1989 Jul;74(1):380-7.
- Crawford MA, Budowski P, Hassam AG. Dietary management in multiple sclerosis. *Proc Nutr Soc.* 1979 Dec;38(3):373-89.
- Cross AH, Antel JP. Antibodies to beta-interferons in multiple sclerosis: can we neutralize the controversy? *Neurology.* 1998 May;50(5):1206-8.
- Croxford JL, Olson JK, Miller SD. Epitope spreading and molecular mimicry as triggers of autoimmunity in the Theiler's virus-induced demyelinating disease model of multiple sclerosis. *Autoimmun Rev.* 2002 Oct;1(5):251-60.
- Crusius JB, Peña AS, Van Oosten BW, Bioque G, Garcia A, Dijkstra CD, Polman CH. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and multiple sclerosis. *Lancet.* 1995 Oct 7;346(8980):979.

- Cruveilhier J. Anatomie pathologique du corps humain; descriptions avec figures lithographiées et coloriées: des diverses alterations morbides dont le corps humain est susceptible. Paris, JB Bailliere, 1842.
- Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, Murphy CA, Joyce B, Seymour B, Lucian L, To W, Kwan S, Churakova T, Zurawski S, Wiekowski M, Lira SA, Gorman D, Kastelein RA, Sedgwick JD. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*. 2003 Feb 13;421(6924):744-8.
- Currier RD, Haerer AF, Meydrecht EF. Low dose oral methotrexate treatment of multiple sclerosis: a pilot study. Source Department of Neurology, University of Mississippi Medical Center, Jackson 39216. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993 Nov;56(11):1217-8.
- Cursiefen S, Flachenecker P, Rieckmann P, Toyka KV. Mitoxantrone (Novantron) in therapy of severe multiple sclerosis. A retrospective study of 15 patients. *Nervenarzt*. 1999 Aug;70(8):723-31. Review.
- Curtis BM, Widmer MB, deRoos P, Qvarnstrom EE. IL-1 and its receptor are translocated to the nucleus. *J Immunol*. 1990 Feb 15;144(4):1295-303.
- Cutter NC, Scott DD, Johnson JC, Whiteneck G. Gabapentin effect on spasticity in multiple sclerosis: a placebo-controlled, randomized trial. *Arch Phys Med Rehabil*. 2000 Feb;81(2):164-9.
- Daha NA, Kurreeman FA, Marques RB, Stoeken-Rijsbergen G, Verduijn W, Huizinga TW, Toes RE. Confirmation of STAT4, IL2/IL21, and CTLA4 polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009 May;60(5):1255-60.
- Danis VA, Millington M, Hyland VJ, Grennan D. Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol*. 1995 Feb;99(2):303-10.
- Daugherty WT, Lederman RJ, Nodar RH, Conomy JP. Hearing loss in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1983 Jan;40(1):33-5.
- Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med*. 2001 Aug 2;345(5):340-50.
- Davidson J, Milton AS, Rotondo D. A study of the pyrogenic actions of interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta: interactions with a steroidal and a non-steroidal anti-inflammatory agent. *Br J Pharmacol*. 1990 Jul;100(3):542-6.
- Dayer JM, de Rochemonteix B, Burrus B, Demczuk S, Dinarello CA. Human recombinant interleukin 1 stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells. *J Clin Invest*. 1986 Feb;77(2):645-8.
- Dayer-Métroz MD, Wollheim CB, Seckinger P, Dayer JM. A natural interleukin 1 (IL-1) inhibitor counteracts the inhibitory effect of IL-1 on insulin production in cultured rat pancreatic islets. *J Autoimmun*. 1989 Apr;2(2):163-71.
- Dean G. Annual incidence, prevalence, and mortality of multiple sclerosis in white South-African-born and in white immigrants to South Africa. *Br Med J*. 1967 Jun 17;2(5554):724-30.
- Dean G. How many people in the world have multiple sclerosis? *Neuroepidemiology*. 1994;13(1-2):1-7.
- Dean G, Kurtzke JF. On the risk of multiple sclerosis according to age at immigration to South Africa. *Br Med J*. 1971 Sep 25;3(5777):725-9.
- Dejana E, Breviario F, Erroi A, Bussolino F, Mussoni L, Gramse M, Pintucci G, Casali B, Dinarello CA, Van Damme J, et al. Modulation of endothelial cell functions by different molecular species of interleukin 1. *Blood*. 1987 Feb;69(2):695-9.
- De Keyser J, Zeinstra E, Frohman E. Are astrocytes central players in the pathophysiology of multiple sclerosis? *Arch Neurol*. 2003 Jan;60(1):132-6.
- de la Concha EG, Arroyo R, Crusius JB, Campillo JA, Martin C, Varela de Seijas E, Peña AS, Clavería LE, Fernandez-Arquero M. Combined effect of HLA-DRB1*1501 and interleukin-1 receptor antagonist gene allele 2 in susceptibility to relapsing/remitting multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 1997 Dec;80(1-2):172-8.
- Demczuk S, Baumberger C, Mach B, Dayer JM. Expression of human IL 1 alpha and beta messenger RNAs and IL 1 activity in human peripheral blood mononuclear cells. *J Mol Cell Immunol*. 1987;3(5):255-65.
- Devlin B, Roeder K. Genomic control for association studies. *Biometrics*. 1999 Dec;55(4):997-1004.
- di Giovine FS, Duff GW. Interleukin 1: the first interleukin. *Immunol Today*. 1990 Jan;11(1):13-20. Review.
- di Giovine FS, Takhsh E, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism at -511 in the human interleukin-1 beta gene (IL1 beta). *Hum Mol Genet*. 1992 Sep;1(6):450.
- Dinarello CA. Interleukin-1. In: Tompson A (eds). *The cytokine handbook*, London, Academic Press Harcourt Jovanovich, 1991; (Chapter 3): 47-82.
- Dinarello CA. The interleukin-1 family: 10 years of discovery. *FASEB J*. 1994 Dec;8(15):1314-25.
- Dinarello CA. Interleukin-1 antagonists. *J Interferon Res*. 1994 Oct;14(5):307.
- Dinarello CA. Interleukin-1 in disease. *Keio J Med*. 1994 Sep;43(3):131-6. Review.
- Dinarello CA. The biological properties of interleukin-1. *Eur Cytokine Netw*. 1994 Nov-Dec;5(6):517-31. Review.
- Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996 Mar 15;87(6):2095-147. Review.
- Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med*. 1993 Jan 14;328(2):106-13. Review.
- Dincić E, Zivković M, Stanković A, Obradović D, Alavantić D, Kostić V, Raicević R. Association of polymorphisms in CTLA-4, IL-1ra and IL-1beta genes with multiple sclerosis in Serbian population. *J Neuroimmunol*. 2006 Aug;177(1-2):146-50.
- DiSanto JP, Keever CA, Small TN, Nicols GL, O'Reilly RJ, Flomenberg N. Absence of interleukin 2 production in a severe combined immunodeficiency disease syndrome with T cells. *J Exp Med*. 1990 May 1;171(5):1697-704.

- Du Y, Dodel RC, Eastwood BJ, Bales KR, Gao F, Lohmüller F, Müller U, Kurz A, Zimmer R, Evans RM, Hake A, Gasser T, Oertel WH, Griffin WS, Paul SM, Farlow MR. Association of an interleukin 1 alpha polymorphism with Alzheimer's disease. *Neurology*. 2000 Aug 22;55(4):480-3.
- Dunevsky A, Perel AB. Gabapentin for relief of spasticity associated with multiple sclerosis. *Am J Phys Med Rehabil*. 1998 Sep-Oct;77(5):451-4.
- Duquette P, Pleines J, Girard M, Charest L, Senecal-Quevillon M, Masse C. The increased susceptibility of women to multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci*. 1992 Nov;19(4):466-71.
- Dyment DA, Ebers GC, Sadovnick AD. Genetics of multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2004 Feb;3(2):104-10. Review.
- Dyment DA, Sadovnick AD, Ebers GC. Genetics of multiple sclerosis. *Hum Mol Genet*. 1997;6(10):1693-8.
- Ebers GC. Optic neuritis and multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1985 Jul;42(7):702-4.
- Ebers GC. Multiple sclerosis and other demyelinating diseases. In Asbury AK, McKhann GM, McDonald WI (Eds) : *Diseases of the nervous system*. Saunders, Philadelphia, 1986 (Vol I): 1268-81.
- Ebers GC, Bulman DE, Sadovnick AD, Paty DW, Warren S, Hader W, Murray TJ, Seland TP, Duquette P, Grey T, et al. A population-based study of multiple sclerosis in twins. *N Engl J Med*. 1986 Dec 25;315(26):1638-42.
- Ebers GC, Cousin HK, Feasby TE, Paty DW. Optic neuritis in familial MS. *Neurology*. 1981 Sep;31(9):1138-42.
- Ebers GC, Sadovnick AD, Risch NJ. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. *Nature*. 1995 Sep 14;377(6545):150-1.
- 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 Dec;48(6):927-31.
- Edan G, Miller D, Clanet M, Confavreux C, Lyon-Caen O, Lubetzki C, Brochet B, Berry I, Rolland Y, Froment JC, Cabanis E, Iba-Zizen MT, Gandon JM, Lai HM, Moseley I, Sabouraud O. Therapeutic effect of mitoxantrone combined with methylprednisolone in multiple sclerosis: a randomised multicentre study of active disease using MRI and clinical criteria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997 Feb;62(2):112-8.
- Eichhorst H. Veber infantile und hereditary multiple sclerosis. *Arch Pathol Anat Physiol Klin Med*. 1896;146:173-92.
- El-behi M, Rostami A, Ciric B. Current views on the roles of Th1 and Th17 cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2010 Jun;5(2):189-97. Review.
- Elian M, Dean G. Multiple sclerosis among the United Kingdom-born children of immigrants from the West Indies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1987 Mar;50(3):327-32.
- Ellis KO, Bryant SH. Excitation-contraction uncoupling in skeletal muscle by dantrolene sodium. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 1972;274(1):107-9.
- Encinas JA, Kuchroo VK. Genetics of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Curr Dir Autoimmun*. 1999;1:247-72. Review.
- Encinas JA, Wicker LS, Peterson LB, Mukasa A, Teuscher C, Sobel R, Weiner HL, Seidman CE, Seidman JG, Kuchroo VK. QTL influencing autoimmune diabetes and encephalomyelitis map to a 0.15-cM region containing IL2. *Nat Genet*. 1999 Feb;21(2):158-60.
- Epplen C, Jäckel S, Santos EJ, D'Souza M, Pöhlau D, Dotzauer B, Sindern E, Haupts M, Rüdte KP, Weber F, Stöver J, Poser S, Gehler W, Malin JP, Przuntek H, Epplen JT. Genetic predisposition to multiple sclerosis as revealed by immunoprinting. *Ann Neurol*. 1997 Mar;41(3):341-52.
- European Study Group on interferon beta-1b in secondary progressive MS. Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. *Lancet*. 1998 Nov 7;352(9139):1491-7.
- Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kapinas K, Sakellari I, Kimiskidis V, Smias C, Eleftheriadis N, Tsimourtou V. Autologous stem cell transplantation in progressive multiple sclerosis--an interim analysis of efficacy. *J Clin Immunol*. 2000 Jan;20(1):24-30.
- Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kapinas K, Sakellari I, Kimiskidis V, Tsompanakou A. Peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of progressive multiple sclerosis: first results of a pilot study. *Bone Marrow Transplant*. 1997 Oct;20(8):631-8.
- Fassas A, Kazis A. High-dose immunosuppression and autologous hematopoietic stem cell rescue for severe multiple sclerosis. *J Hematother Stem Cell Res*. 2003 Dec;12(6):701-11. Review.
- Fazekas F, Deisenhammer F, Strasser-Fuchs S, Nahler G, Mamoli B. Randomised placebo-controlled trial of monthly intravenous immunoglobulin therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis. Austrian Immunoglobulin in Multiple Sclerosis Study Group. *Lancet*. 1997 Mar 1;349(9052):589-93.
- Feakes R, Sawcer S, Broadley S, Coraddu F, Roxburgh R, Gray J, Clayton D, Compston A. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2000 Jun 1;105(1):96-101.
- Fedetz M, Ndagire D, Fernandez O, Leyva L, Guerrero M, Arnal C, Lucas M, Izquierdo G, Delgado C, Alcina A, Matesanz F. Multiple sclerosis association study with the TENR-IL2-IL21 region in a Spanish population. *Tissue Antigens*. 2009 Sep;74(3):244-7.
- Feige U, Karbowski A, Rordorf-Adam C, Pataki A. Arthritis induced by continuous infusion of hr-interleukin-1 alpha into the rabbit knee-joint. *Int J Tissue React*. 1989;11(5):225-38.
- Feingold KR, Grunfeld C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes*. 1992 Oct;41 Suppl 2:97-101.

- Feingold KR, Doerfler W, Dinarello CA, Fiers W, Grunfeld C. Stimulation of lipolysis in cultured fat cells by tumor necrosis factor, interleukin-1, and the interferons is blocked by inhibition of prostaglandin synthesis. *Endocrinology*. 1992 Jan;130(1):10-6.
- Feldon SE. Optic neuritis and the risk of multiple sclerosis--what can we learn from a brain MRI scan? *Nat Clin Pract Neurol*. 2008 Oct;4(10):532-3.
- Fenton MJ, Clark BD, Collins KL, Webb AC, Rich A, Auron PE. Transcriptional regulation of the human prointerleukin 1 beta gene. *J Immunol*. 1987 Jun 1;138(11):3972-9.
- Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain*. 1997 Mar;120 (Pt 3):393-9.
- Ferri C, Sciacca FL, Grimaldi LE, Veglia F, Magnani G, Santuccio G, Comi G, Canal N, Grimaldi LM. Lack of association between IL-1A and IL-1B promoter polymorphisms and multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000 Oct;69(4):564-5.
- Fidler JM, DeJoy SQ, Gibbons JJ Jr. Selective immunomodulation by the antineoplastic agent mitoxantrone. I. Suppression of B lymphocyte function. *J Immunol*. 1986 Jul 15;137(2):727-32.
- Fidler JM, DeJoy SQ, Smith FR 3rd, Gibbons JJ Jr. Selective immunomodulation by the antineoplastic agent mitoxantrone. II. Nonspecific adherent suppressor cells derived from mitoxantrone-treated mice. *J Immunol*. 1986 Apr 15;136(8):2747-54.
- Filippi M, Horsfield MA, Morrissey SP, MacManus DG, Rudge P, McDonald WI, Miller DH. Quantitative brain MRI lesion load predicts the course of clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Neurology*. 1994 Apr;44(4):635-41.
- Firth D. The case of Augustus d' Este. Cambridge, 1948.
- Fisher M, Long RR, Drachman DA. Hand muscle atrophy in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1983 Dec;40(13):811-5.
- Fitzgerald G, Harbige LS, Forti A, Crawford MA. The effect of nutritional counselling on diet and plasma EFA status in multiple sclerosis patients over 3 years. *Hum Nutr Appl Nutr*. 1987 Oct;41(5):297-310.
- Fowler CJ, Henry MM. Gastrointestinal dysfunction in multiple sclerosis. *Semin Neurol*. 1996 Sep;16(3):277-9. Review.
- Fowler TJ. Demyelinating disease of the nervous system. In Marsden CD, Fowler TJ (Eds): *Clinical Neurology*. Arnold, London 1989;344-52.
- Francis GS, Freedman MS, Antel JP. Failure of intravenous immunoglobulin to arrest progression of multiple sclerosis: a clinical and MRI based study. *Mult Scler*. 1997 Dec;3(6):370-6.
- Fredrikson S, Kam-Hansen S. The 150-year anniversary of multiple sclerosis: does its early history give an etiological clue? *Perspect Biol Med*. 1989 Winter;32(2):237-43.
- Frei K, Malipiero UV, Leist TP, Zinkernagel RM, Schwab ME, Fontana A. On the cellular source and function of interleukin 6 produced in the central nervous system in viral diseases. *Eur J Immunol*. 1989 Apr;19(4):689-94.
- Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules--Part 1. *N Engl J Med*. 1996 Jun 6;334(23):1526-9.
- Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules--Part II: Blood vessels and blood cells. *N Engl J Med*. 1996 Jul 4;335(1):43-5.
- Frerichs FT. Uber hirsclerose. *Arch Ges Med*. 1849;10:334.
- Fryling C, Dombalagian M, Burgess W, Hollander N, Schreiber AB, Haimovich J. Purification and characterization of tumor inhibitory factor-2: its identity to interleukin 1. *Cancer Res*. 1989 Jun 15;49(12):3333-7.
- Gallo P, Piccinno MG, Tavalato B, Sidén A. A longitudinal study on IL-2, sIL-2R, IL-4 and IFN-gamma in multiple sclerosis CSF and serum. *J Neurol Sci*. 1991 Feb;101(2):227-32.
- Garthwaite G, Goodwin DA, Batchelor AM, Leeming K, Garthwaite J. Nitric oxide toxicity in CNS white matter: an in vitro study using rat optic nerve. *Neuroscience*. 2002;109(1):145-55.
- Gasparini C, Pozzilli C, Bastianello S, Koudriavtseva T, Galgani S, Millefiorini E, Paolillo A, Horsfield MA, Bozzao L, Fieschi C. Effect of steroids on Gd-enhancing lesions before and during recombinant beta interferon 1a treatment in relapsing remitting multiple sclerosis. *Neurology*. 1998 Feb;50(2):403-6.
- Ge Y, Grossman RI, Udupa JK, Fulton J, Constantinescu CS, Gonzales-Scarano F, Babb JS, Mannon LJ, Kolson DL, Cohen JA. Glatiramer acetate (Copaxone) treatment in relapsing-remitting MS: quantitative MR assessment. *Neurology*. 2000 Feb 22;54(4):813-7.
- Geisler MW, Sliwinski M, Coyle PK, Masur DM, Doscher C, Krupp LB. The effects of amantadine and pemoline on cognitive functioning in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1996 Feb;53(2):185-8.
- Gery I, Waksman BH. Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. II. The cellular source of potentiating mediator(s). *J Exp Med*. 1972 Jul 1;136(1):143-55.
- Gillis S, Ferm MM, Ou W, Smith KA. T cell growth factor: parameters of production and a quantitative microassay for activity. *J Immunol*. 1978 Jun;120(6):2027-32.
- Glas J, Stallhofer J, Ripke S, Wetzke M, Pfennig S, Klein W, Epplen JT, Griga T, Schiemann U, Lacher M, Koletzko S, Folwaczny M, Lohse P, Göke B, Ochsenkühn T, Müller-Myhsok B, Brand S. Novel genetic risk markers for ulcerative colitis in the IL2/IL21 region are in epistasis with IL23R and suggest a common genetic background for ulcerative colitis and celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2009 Jul;104(7):1737-44.

- Goldring MB, Birkhead J, Sandell LJ, Kimura T, Krane SM. Interleukin 1 suppresses expression of cartilage-specific types II and IX collagens and increases types I and III collagens in human chondrocytes. *J Clin Invest*. 1988 Dec;82(6):2026-37.
- Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med*. 1998 May 14;338(20):1397-404.
- Goldstein I, Sikory MB, Sax DS, Krane RJ. Neurourologic abnormalities in multiple sclerosis. *J Urol*. 1982 Sep;128(3):541-5.
- Gonsette RE, Demonty L. Immunosuppression with cyclophosphamide in multiple sclerosis. In Hommes OR et al (Eds): *Immunotherapies in multiple sclerosis*. Sutton, Stuart Phillips Publications 1986:139.
- Goodin DS. Therapeutic developments in multiple sclerosis. *Expert Opin Investig Drugs*. 2000 Apr;9(4):655-70. Review.
- Goodkin DE, Rudick RA, VanderBrug Medendorp S, Daughtry MM, Schwetz KM, Fischer J, Van Dyke C. Low-dose (7.5 mg) oral methotrexate reduces the rate of progression in chronic progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1995 Jan;37(1):30-40.
- Gordon FS, Duquette P, Antel JP. Inflammatory demyelinating diseases of the CNS. In Bradley WG, Daroff RB et al (Eds): *Neurology in clinical practice*. Butterworth-Heinemann. Boston 1996:1307-43.
- Gordon J, MacLean LD. A lymphocyte-stimulating factor produced in vitro. *Nature*. 1965 Nov 20;208(5012):795-6.
- Grant I, Mc Donald WI, Trimble MR, Smith E, Reed R. Deficient learning and memory in early and middle phases of MS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1984 Mar;47(3):250-5.
- Granucci F, Vizzardelli C, Virzi E, Rescigno M, Ricciardi-Castagnoli P. Transcriptional reprogramming of dendritic cells by differentiation stimuli. *Eur J Immunol*. 2001 Sep;31(9):2539-46.
- Greenberg SJ, Marcon L, Hurwitz BJ, Waldmann TA, Nelson DL. Elevated levels of soluble interleukin-2 receptors in multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 1988 Oct 13;319(15):1019-20.
- Greenwood J, Etienne-Manneville S, Adamson P, Couraud PO. Lymphocyte migration into the central nervous system: implication of ICAM-1 signalling at the blood-brain barrier. *Vascul Pharmacol*. 2002 Jun;38(6):315-22.
- Gregory SG, Schmidt S, Seth P, Oksenberg JR, Hart J, Prokop A, Caillier SJ, Ban M, Goris A, Barcellos LF, Lincoln R, McCauley JL, Sawcer SJ, Compston DA, Dubois B, Hauser SL, Garcia-Blanco MA, Pericak-Vance MA, Haines JL; Multiple Sclerosis Genetics Group. Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. *Nat Genet*. 2007 Sep;39(9):1083-91.
- Growdon JH, Nader TM, Schoenfeld J, Wurtman RJ. L-threonine in the treatment of spasticity. *Clin Neuropharmacol*. 1991 Oct;14(5):403-12.
- Grunfeld C, Soued M, Adi S, Moser AH, Dinarello CA, Feingold KR. Evidence for two classes of cytokines that stimulate hepatic lipogenesis: relationships among tumor necrosis factor, interleukin-1 and interferon-alpha. *Endocrinology*. 1990 Jul;127(1):46-54.
- Grytten Torkildsen N, Lie SA, Aarseth JH, Nyland H, Myhr KM. Survival and cause of death in multiple sclerosis: results from a 50-year follow-up in Western Norway. *Mult Scler*. 2008 Nov;14(9):1191-8.
- Guthikonda P, Baker J, Mattson DH. Interferon-beta-1-b (IFN-B) decreases induced nitric oxide (NO) production by a human astrocytoma cell line. *J Neuroimmunol*. 1998 Mar 1;82(2):133-9.
- Hadjigeorgiou GM, Paterakis K, Dardiotis E, Dardioti M, Aggelakis K, Tasiou A, Xiromerisiou G, Komnos A, Zintzaras E, Scarmeas N, Papadimitriou A, Karantanas A. IL-1RN and IL-1B gene polymorphisms and cerebral hemorrhagic events after traumatic brain injury. *Neurology*. 2005 Oct 11;65(7):1077-82.
- Hadjigeorgiou GM, Stefanidis I, Dardiotis E, Aggelakis K, Sakkas GK, Xiromerisiou G, Konitsiotis S, Paterakis K, Poultsidi A, Tsimouridou V, Ralli S, Gourgoulianis K, Zintzaras E. Low RLS prevalence and awareness in central Greece: an epidemiological survey. *Eur J Neurol*. 2007 Nov;14(11):1275-80.
- Haegert DG, Marrosu MG. Genetic susceptibility to multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1994 Dec;36 Suppl 2:S204-10. Review.
- Haegert DG, Muntoni F, Murru MR, Costa G, Francis GS, Marrosu MG. HLA-DQA1 and -DQB1 associations with multiple sclerosis in Sardinia and French Canada: evidence for immunogenetically distinct patient groups. *Neurology*. 1993 Mar;43(3 Pt 1):548-52.
- Hafler DA. Multiple sclerosis. *J Clin Invest*. 2004 Mar;113(6):788-94.
- Hafler DA, Cohen I, Benjamin DS, Weiner HL. T cell vaccination in multiple sclerosis: a preliminary report. *Clin Immunol Immunopathol*. 1992 Mar;62(3):307-13.
- Haines JL, Terwedow HA, Burgess K, Pericak-Vance MA, Rimmler JB, Martin ER, Oksenberg JR, Lincoln R, Zhang DY, Banatao DR, Gatto N, Goodkin DE, Hauser SL. Linkage of the MHC to familial multiple sclerosis suggests genetic heterogeneity. The Multiple Sclerosis Genetics Group. *Hum Mol Genet*. 1998 Aug;7(8):1229-34.
- Hallett M, Lindsey JW, Adelstein BD, Riley PO. Controlled trial of isoniazid therapy for severe postural cerebellar tremor in multiple sclerosis. *Neurology*. 1985 Sep;35(9):1374-7.
- Hanisch UK, Neuhaus J, Quirion R, Kettenmann H. Neurotoxicity induced by interleukin-2: involvement of infiltrating immune cells. *Synapse*. 1996 Oct;24(2):104-14.
- Hanisch UK, Quirion R. Interleukin-2 as a neuroregulatory cytokine. *Brain Res Brain Res Rev*. 1995 Nov;21(3):246-84. Review.

- Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol*. 2005 Nov;6(11):1123-32.
- Hart PH, Burgess DR, Vitti GF, Hamilton JA. Interleukin-4 stimulates human monocytes to produce tissue-type plasminogen activator. *Blood*. 1989 Sep;74(4):1222-5.
- Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, Whitty GA, Piccoli DS, Hamilton JA. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 May;86(10):3803-7.
- Hartung HP, Gonsette R, König N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP, Krapf H, Zwingers T; Mitoxantrone in Multiple Sclerosis Study Group (MIMS). Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet*. 2002 Dec 21-28;360(9350):2018-25.
- Hartung HP, Hughes RA, Taylor WA, Heining K, Reiners K, Toyka KV. T cell activation in Guillain-Barré syndrome and in MS: elevated serum levels of soluble IL-2 receptors. *Neurology*. 1990 Feb;40(2):215-8.
- Hauser S, Goodin D. Multiple Sclerosis. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (Eds.). *Harrison's Principles of Internal Medicine* McGraw Hill. New York. 2001 pp. 2452-61.
- Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, Vollmer T, Antel J, Fox RJ, Bar-Or A, Panzara M, Sarkar N, Agarwal S, Langer-Gould A, Smith CH; HERMES Trial Group. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2008 Feb 14;358(7):676-88.
- Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, Calabresi PA, Antel J, Simon J, Hauser S, Waubant E, Vollmer T, Panitch H, Zhang J, Chin P, Smith CH; OLYMPUS trial group. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol*. 2009 Oct;66(4):460-71.
- Hawkins CP, Munro PM, MacKenzie F, Kesselring J, Tofts PS, du Boulay EP, Landon DN, McDonald WI. Duration and selectivity of blood-brain barrier breakdown in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis studied by gadolinium-DTPA and protein markers. *Brain*. 1990 Apr;113 (Pt 2):365-78.
- Hefler LA, Grimm C, Lantzscht T, Lampe D, Leodolter S, Koelbl H, Heinze G, Reinhaller A, Tong-Cacsire D, Tempfer C, Zeillinger R. Interleukin-1 and interleukin-6 gene polymorphisms and the risk of breast cancer in caucasian women. *Clin Cancer Res*. 2005 Aug 15;11(16):5718-21.
- Heggarty S, Sawcer S, Hawkins S, McDonnell G, Droogan A, Vandenbroeck K, Hutchinson M, Setakis E, Compston A, Graham C. A genome wide scan for association with multiple sclerosis in a N. Irish case control population. *J Neuroimmunol*. 2003 Oct;143(1-2):93-6.
- Hellings N, Barée M, Verhoeven C, D'hooghe MB, Medaer R, Bernard CC, Raus J, Stinissen P. T-cell reactivity to multiple myelin antigens in multiple sclerosis patients and healthy controls. *J Neurosci Res*. 2001 Feb 1;63(3):290-302.
- Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci*. 2002 Apr;3(4):291-301.
- Hensiek AE, Sawcer SJ, Compston DA. Searching for needles in haystacks-the genetics of multiple sclerosis and other common neurological diseases. *Brain Res Bull*. 2003 Aug 15;61(3):229-34.
- Herndon RM, Rudick RA. MS and related conditions. *Clin Neurol*. 1991;3:33:1-61.
- Hillert J. Human leukocyte antigen studies in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1994;36 Suppl:S15-7. Review.
- Hillert J, Olerup O. HLA and MS. *Neurology*. 1993 Nov;43(11):2426-7.
- Hillert J, Olerup O. Multiple sclerosis is associated with genes within or close to the HLA-DR-DQ subregion on a normal DR15,DQ6,Dw2 haplotype. *Neurology*. 1993 Jan;43(1):163-8.
- Hinks A, Eyre S, Ke X, Barton A, Martin P, Flynn E, Packham J, Worthington J; Childhood Arthritis Prospective Study; UKRAG Consortium; BSPAR Study Group, Thomson W. Association of the AFF3 gene and IL2/IL21 gene region with juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun*. 2010 Mar;11(2):194-8.
- Hinds JP, Eidelman BH, Wald A. Prevalence of bowel dysfunction in multiple sclerosis. A population survey. *Gastroenterology*. 1990 Jun;98(6):1538-42.
- Hirst C, Swingle R, Compston DA, Ben-Shlomo Y, Robertson NP. Survival and cause of death in multiple sclerosis: a prospective population-based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Sep;79(9):1016-21.
- Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Failure to detect an association with IL1 genotypes in European Caucasians with generalised early onset periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2001 May;28(5):430-6.
- Hoffmann SC, Stanley EM, Darrin Cox E, Craighead N, DiMercurio BS, Koziol DE, Harlan DM, Kirk AD, Blair PJ. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation*. 2001 Oct 27;72(8):1444-50.
- Hohlfeld R, Michels M, Heining K, Besinger U, Toyka KV. Azathioprine toxicity during long-term immunosuppression of generalized myasthenia gravis. *Neurology*. 1988 Feb;38(2):258-61.
- Hooke DH, Hancock WW, Gee DC, Kraft N, Atkins RC. Monoclonal antibody analysis of glomerular hypercellularity in human glomerulonephritis. *Clin Nephrol*. 1984 Oct;22(4):163-8.
- Hooper R. The morbid anatomy of the human brain. Illustrated by coloured engravings of the most frequent and important organic diseases to which that viscus is the subject. London, Longman, Rees, Orme, Brown and Longman, 1828.
- Horak I. Immunodeficiency in IL-2-knockout mice. *Clin Immunol Immunopathol*. 1995 Sep;76(3 Pt 2):S172-3.

- Horuk R, Huang JJ, Covington M, Newton RC. A biochemical and kinetic analysis of the interleukin-1 receptor. Evidence for differences in molecular properties of IL-1 receptors. *J Biol Chem.* 1987 Dec 5;262(34):16275-8.
- Houtchens MK, Richert JR, Sami A, Rose JW. Open label gabapentin treatment for pain in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 1997 Aug;3(4):250-3.
- How AC, Aung T, Chew X, Yong VH, Lim MC, Lee KY, Toh JY, Li Y, Liu J, Vithana EN. Lack of association between interleukin-1 gene cluster polymorphisms and glaucoma in Chinese subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 May;48(5):2123-6.
- Hughes RAC. The treatment of MS with azathioprine. In Rudick RA, Goodkin DE (Eds): *The treatment of MS.* Springer-Verlag, London 1992:157-72.
- Huseby ES, Liggitt D, Brabb T, Schnabel B, Ohlén C, Goverman J. A pathogenic role for myelin-specific CD8(+) T cells in a model for multiple sclerosis. *J Exp Med.* 2001 Sep 3;194(5):669-76.
- Hutter CD, Laing P. Multiple sclerosis: sunlight, diet, immunology and aetiology. *Med Hypotheses.* 1996 Feb;46(2):67-74.
- Hyman N, Barnes M, Bhakta B, Cozens A, Bakheit M, Kreczy-Kleedorfer B, Poewe W, Wissel J, Bain P, Glickman S, Sayer A, Richardson A, Dott C. Botulinum toxin (Dysport) treatment of hip adductor spasticity in multiple sclerosis: a prospective, randomised, double blind, placebo controlled, dose ranging study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2000 Jun;68(6):707-12.
- International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, De Jager PL, de Bakker PI, Gabriel SB, Mirel DB, Ivinson AJ, Pericak-Vance MA, Gregory SG, Rioux JD, McCauley JL, Haines JL, Barcellos LF, Cree B, Oksenberg JR, Hauser SL. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome-wide study. *N Engl J Med.* 2007 Aug 30;357(9):851-62.
- Ioannidis JP, Ntzani EE, Trikalinos TA, Contopoulos-Ioannidis DG. Replication validity of genetic association studies. *Nat Genet.* 2001 Nov;29(3):306-9.
- Itoyama Y, Webster HD, Sternberger NH, Richardson EP Jr, Walker DL, Quarles RH, Padgett BL. Distribution of papovavirus, myelin-associated glycoprotein, and myelin basic protein in progressive multifocal leukoencephalopathy lesions. *Ann Neurol.* 1982 Apr;11(4):396-407.
- Jacobs L, Kinkel PR, Kinkel WR. Silent brain lesions in patients with isolated idiopathic optic neuritis. A clinical and nuclear magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol.* 1986 May;43(5):452-5.
- Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM, Fischer JS, Goodkin DE, Granger CV, Simon JH, Alam JJ, Bartoszak DM, Bourdette DN, Braiman J, Brownschidle CM, Coats ME, Cohan SL, Dougherty DS, Kinkel RP, Mass MK, Munschauer FE 3rd, Priore RL, Pullicino PM, Scherokman BJ, Whitham RH, et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann Neurol.* 1996 Mar;39(3):285-94.
- Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM, Fischer JS, Goodkin DE, Granger CV, Simon JH, et al. A phase III trial of intramuscular recombinant interferon beta as treatment for exacerbating-relapsing multiple sclerosis: design and conduct of study and baseline characteristics of patients. Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Mult Scler.* 1995 Jun;1(2):118-35.
- Janculjak D, Mubrin Z, Brzovic Z, Brinar V, Barac B, Palic J, Spilich G. Changes in short-term memory processes in patients with MS. *Eur J Neurol.* 1999 Nov;6(6):663-8.
- Janmohammed R, Milligan DW. Mitoxantrone induced congestive heart failure in patients previously treated with anthracyclines. *Br J Haematol.* 1989 Feb;71(2):292-3.
- Jensen MA, Arnason BG, Toscas A, Noronha A. Global inhibition of IL-2 and IFN-gamma secreting T cells precedes recovery from acute monophasic experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Autoimmun.* 1996 Oct;9(5):587-97.
- Jensen TS, Rasmussen P, Reske-Nielsen E. Association of trigeminal neuralgia with multiple sclerosis: clinical and pathological features. *Acta Neurol Scand.* 1982 Mar;65(3):182-9.
- John S, Turner D, Donn R, Sinnott P, Worthington J, Ollier WE, Hutchinson IV, Hajeer AH. Two novel biallelic polymorphisms in the IL-2 gene. *Eur J Immunogenet.* 1998 Dec;25(6):419-20.
- Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, Myers LW, Panitch HS, Rose JW, Schiffer RB. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-relapsing multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology.* 1995 Jul;45(7):1268-76.
- Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, Myers LW, Panitch HS, Rose JW, Schiffer RB, Vollmer T, Weiner LP, Wolinsky JS. Extended use of glatiramer acetate (Copaxone) is well tolerated and maintains its clinical effect on multiple sclerosis relapse rate and degree of disability. Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology.* 1998 Mar;50(3):701-8.
- Jones JL, Anderson JM, Phuah CL, Fox EJ, Selmaj K, Margolin D, Lake SL, Palmer J, Thompson SJ, Wilkins A, Webber DJ, Compston DA, Coles AJ. Improvement in disability after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis is associated with neuroprotective autoimmunity. *Brain.* 2010 Aug;133(Pt 8):2232-47.
- KABAT EA, GLUSMAN M, KNAUB V. Immunochemical estimation of albumin and gamma globulin in normal and pathological cerebrospinal fluid. *Trans Am Neurol Assoc.* 1948;73(73 Annual Meet.):93.
- KABAT EA, GLUSMAN M, KNAUB V. Quantitative estimation of the albumin and gamma globulin in normal and pathological cerebrospinal fluid by immunochemical methods. *Am J Med.* 1948 May;4(5):653-62.

- Kahana E, Leibowitz U, Alter M. Cerebral multiple sclerosis. *Neurology*. 1971 Dec;21(12):1179-85.
- Kampschmidt R. The physiologic and metabolic response of the host. Elsevier/North Holland, Amsterdam, 1981.
- 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 Jul 1;106(1-2):220-7.
- Kantarci OH, de Andrade M, Weinshenker BG. Identifying disease modifying genes in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2002 Feb;123(1-2):144-59.
- Kappel M, Diamant M, Hansen MB, Klokke M, Pedersen BK. Effects of in vitro hyperthermia on the proliferative response of blood mononuclear cell subsets, and detection of interleukins 1 and 6, tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma. *Immunology*. 1991 Jul;73(3):304-8.
- Kappos L, Comi G, Panitch H, Oger J, Antel J, Conlon P, Steinman L. Induction of a non-encephalitogenic type 2 T helper-cell autoimmune response in multiple sclerosis after administration of an altered peptide ligand in a placebo-controlled, randomized phase II trial. The Altered Peptide Ligand in Relapsing MS Study Group. *Nat Med*. 2000 Oct;6(10):1176-82.
- Kappos L, Gold R, Miller DH, Macmanus DG, Havrdova E, Limmroth V, Polman CH, Schmierer K, Yousry TA, Yang M, Eraksoy M, Meluzinova E, Rektor I, Dawson KT, Sandrock AW, O'Neill GN; BG-12 Phase IIb Study Investigators. Efficacy and safety of oral fumarate in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled phase IIb study. *Lancet*. 2008 Oct 25;372(9648):1463-72. Erratum in: *Lancet*. 2009 Apr 18;373(9672):1340.
- Kappos L, Radue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, Selmaj K, Agoropoulou C, Leyk M, Zhang-Auberson L, Burtin P; FREEDOMS Study Group. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2010 Feb 4;362(5):387-401.
- Karussis D, Vourka-Karussis U, Mizrachi-Koll R, Abramsky O. Acute/relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis: induction of long lasting, antigen-specific tolerance by syngeneic bone marrow transplantation. *Mult Scler*. 1999 Feb;5(1):17-21.
- Kasakura S, Lowenstein L. A factor stimulating DNA synthesis derived from the medium of leukocyte cultures. *Nature*. 1965 Nov 20;208(5012):794-5.
- Kawasaki E, Awata T, Ikegami H, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, Shimada A, Uga M, Kurihara S, Kawabata Y, Tanaka S, Kanazawa Y, Eguchi K; Japanese Study Group on Type 1 Diabetes Genetics. Genetic association between the interleukin-2 receptor-alpha gene and mode of onset of type 1 diabetes in the Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Mar;94(3):947-52.
- Keegan BM, Noseworthy JH. Multiple sclerosis. *Annu Rev Med*. 2002;53:285-302.
- Kellar-Wood HF, Wood NW, Holmans P, Clayton D, Robertson N, Compston DA. Multiple sclerosis and the HLA-D region: linkage and association studies. *J Neuroimmunol*. 1995 May;58(2):183-90.
- Kenealy SJ, Babron MC, Bradford Y, Schnetz-Boutaud N, Haines JL, Rimmler JB, Schmidt S, Pericak-Vance MA, Barcellos LF, Lincoln RR, Oksenberg JR, Hauser SL, Clanet M, Brassat D, Edan G, Yaouanq J, Semana G, Cournu-Rebeix I, Lyon-Caen O, Fontaine B; American-French Multiple Sclerosis Genetics Group. second-generation genomic screen for multiple sclerosis. *Am J Hum Genet*. 2004 Dec;75(6):1070-8.
- Kenealy SJ, Pericak-Vance MA, Haines JL. The genetic epidemiology of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2003 Oct;143(1-2):7-12.
- Kennedy MK, Torrance DS, Picha KS, Mohler KM. Analysis of cytokine mRNA expression in the central nervous system of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis reveals that IL-10 mRNA expression correlates with recovery. *J Immunol*. 1992 Oct 1;149(7):2496-505.
- Kesselring J. Prognosis in multiple sclerosis. *Schweiz Med Wochenschr*. 1997 Mar 22;127(12):500-5. Review.
- Kikuchi S, Niino M, Fukazawa T, Yabe I, Tashiro K. An assessment of the association between IL-2 gene polymorphisms and Japanese patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2002 Dec 15;205(1):47-50.
- Killian JM, Fromm GH. Carbamazepine in the treatment of neuralgia. Use of side effects. *Arch Neurol*. 1968 Aug;19(2):129-36.
- Kim JH, Auerbach JM, Rodríguez-Gómez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, Lee SH, Nguyen J, Sánchez-Pernaute R, Bankiewicz K, McKay R. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature*. 2002 Jul 4;418(6893):50-6.
- Kinlen LJ. Incidence of cancer in rheumatoid arthritis and other disorders after immunosuppressive treatment. *Am J Med*. 1985 Jan 21;78(1A):44-9.
- Kinnunen E. The incidence of optic neuritis and its prognosis for multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1983 Dec;68(6):371-7.
- Kinnunen E. Multiple sclerosis in Finland: evidence of increasing frequency and uneven geographic distribution. *Neurology*. 1984 Apr;34(4):457-61.
- Kira J, Kanai T, Nishimura Y, Yamasaki K, Matsushita S, Kawano Y, Hasuo K, Tobimatsu S, Kobayashi T. Western versus Asian types of multiple sclerosis: immunogenetically and clinically distinct disorders. *Ann Neurol*. 1996 Oct;40(4):569-74.
- Kissel JT, Levy RJ, Mendell JR, Griggs RC. Azathioprine toxicity in neuromuscular disease. *Neurology*. 1986 Jan;36(1):35-9.
- Kitsios GD, Zintzaras E. Genomic convergence of genome-wide investigations for complex traits. *Ann Hum Genet*. 2009 Sep;73(Pt 5):514-9.

- Kitsios GD, Zintzaras E. Genome-wide association studies: hypothesis-"free" or "engaged"? *Transl Res*. 2009 Oct;154(4):161-4.
- Kleinschmidt-DeMasters BK, Tyler KL. Progressive multifocal leukoencephalopathy complicating treatment with natalizumab and interferon beta-1a for multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2005 Jul 28;353(4):369-74.
- Klinker MW, Schiller JJ, Magnuson VL, Wang T, Basken J, Veth K, Pearce KI, Kinnunen L, Harjutsalo V, Wang X, Tuomilehto J, Sarti C, Ghosh S. Single-nucleotide polymorphisms in the IL2RA gene are associated with age at diagnosis in late-onset Finnish type 1 diabetes subjects. *Immunogenetics*. 2010 Feb;62(2):101-7.
- Knobler RL, Kelley CL et al. Interferon beta-1b induced ulcerative skin lesion in MS. *J Neuroimmunol*. 1994;54:173.
- Kocher R. Use of psychotropic drugs for treatment of chronic severe pain. In Bonica JJ, Albe Fessard D (Eds): *Advances in pain research and therapy*. Raven Press, New York 1976:579-82.
- Koehler J, Beer K, Pette M. Mitoxandron therapie bei multipler sclerose. *Aktuel Neurol*. 1998;25(6):262-4.
- Kornek B, Lassmann H. Neuropathology of multiple sclerosis-new concepts. *Brain Res Bull*. 2003 Aug 15;61(3):321-6.
- Kornek B, Storch MK, Bauer J, Djamshidian A, Weissert R, Wallstroem E, Stefferl A, Zimprich F, Olsson T, Linington C, Schmidbauer M, Lassmann H. Distribution of a calcium channel subunit in dystrophic axons in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain*. 2001 Jun;124(Pt 6):1114-24.
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, Duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997 Jan;24(1):72-7.
- Krane SM, Conca W, Stephenson ML, Amento EP, Goldring MB. Mechanisms of matrix degradation in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 1990;580:340-54.
- Krapf H, Mauch E, Fetzer U, Laufen H, Kornhuber HH. Serial gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging in patients with multiple sclerosis treated with mitoxantrone. *Neuroradiology*. 1995 Feb;37(2):113-9.
- Kremenchtzky M, Cottrell D, Rice G, Hader W, Baskerville J, Koopman W, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 7. Progressive-relapsing and relapsing-progressive multiple sclerosis: a re-evaluation. *Brain*. 1999 Oct;122 (Pt 10):1941-50.
- Kroemer G, Wick G. The role of interleukin 2 in autoimmunity. *Immunol Today*. 1989 Jul;10(7):246-51. Review.
- Krupp LB, Coyle PK, Doscher C, Miller A, Cross AH, Jandorf L, Halper J, Johnson B, Morgante L, Grimson R. Fatigue therapy in multiple sclerosis: results of a double-blind, randomized, parallel trial of amantadine, pemoline, and placebo. *Neurology*. 1995 Nov;45(11):1956-61.
- Kunkel SL, Chensue SW, Phan SH. Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production. *J Immunol*. 1986 Jan;136(1):186-92.
- Kurland LT, Beebe GW, Kurtzke JF, Nagler B, Auth TL, Lessell S, Nefzger MD. Studies on the natural history of multiple sclerosis. 2. The progression of optic neuritis to multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1966;42:Suppl 19:157+.
- Kuroiwa Y, Shibasaki H, Ikeda M. Prevalence of multiple sclerosis and its north-to-south gradient in Japan. *Neuroepidemiology*. 1983;2:62-9.
- Kurtzke JF. Clinical manifestations of MS. In Vinken PJ, Bruyn GW (Eds): *Handbook of clinical neurology*. North-Holland Publishing, Amsterdam 1970;9:161-216.
- Kurtzke JF. Neurologic impairment in multiple sclerosis and the disability status scale. *Acta Neurol Scand*. 1970;46(4):493-512.
- Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Part one. *Acta Neurol Scand*. 1975 Feb;51(2):110-36.
- Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1975 Feb;51(2):137-57.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983 Nov;33(11):1444-52.
- Kurtzke JF. Optic neuritis or multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1985 Jul;42(7):704-10.
- Kurtzke JF. Multiple sclerosis: changing times. *Neuroepidemiology*. 1991;10(1):1-8. Review.
- Kurtzke JF. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infection. *Clin Microbiol Rev*. 1993 Oct;6(4):382-427.
- Kurtzke JF. Multiple sclerosis in time and space-geographic clues to cause. *J Neurovirol*. 2000 May;6 Suppl 2:S134-40. Review.
- Kurtzke JF. Epidemiology of multiple sclerosis. Does this really point toward an etiology? *Lectio Doctoralis. Neurol Sci*. 2000 Dec;21(6):383-403.
- Kurtzke JF, Beebe GW, Nagler B, Auth TL, Kurland LT, Nefzger MD. Studies on natural history of multiple sclerosis. 4. Clinical features of the onset bout. *Acta Neurol Scand*. 1968;44(4):467-94.
- Kurtzke JF, Beebe GW, Nagler B, Kurland LT, Auth TL. Studies on the natural history of multiple sclerosis-8. Early prognostic features of the later course of the illness. *J Chronic Dis*. 1977 Dec;30(12):819-30.
- Kurtzke JF, Beebe GW, Nagler B, Nefzger MD, Auth TL, Kurland LT. Studies on the natural history of multiple sclerosis. V. Long-term survival in young men. *Arch Neurol*. 1970 Mar;22(3):215-25.
- Kurtzke JF, Beebe GW, Norman JE Jr. Epidemiology of multiple sclerosis in US veterans: III. Migration and the risk of MS. *Neurology*. 1985 May;35(5):672-8.

- Kurtzke JF, Beebe GW, Norman JE Jr. Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans: 1. Race, sex, and geographic distribution. *Neurology*. 1979 Sep;29(9 Pt 1):1228-35.
- Kurtzke JF, Gudmundsson KR, Bergmann S. Multiple sclerosis in Iceland: 1. Evidence of a postwar epidemic. *Neurology*. 1982 Feb;32(2):143-50.
- Kurtzke JF, Hyllested K. Multiple sclerosis: an epidemic disease in the Faeroes. *Trans Am Neurol Assoc*. 1975;100:213-5.
- Kurtzke JF, Hyllested K. Multiple sclerosis on the Faeroe islands. 1. Clinical and epidemiological features. *Annals of Neurology*. 1979;5:6-21.
- Κυλιτηρέας Κ. Περιοχαί της Ελλάδος με ηυξημένο δείκτη συχνότητας ΣΚΠ. Διδακτορική διατριβή, Αθήνα, 1987.
- Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med*. 2000 Dec;6(12):1399-402.
- Laffont F, Mayer G, Minz M. Modafinil in diurnal sleepiness. A study of 123 patients. *Sleep*. 1994 Dec;17(8 Suppl):S113-5.
- Lang HL, Jacobsen H, Ikemizu S, Andersson C, Harlos K, Madsen L, Hjorth P, Sondergaard L, Svejgaard A, Wucherpfennig K, Stuart DI, Bell JI, Jones EY, Fugger L. A functional and structural basis for TCR cross-reactivity in multiple sclerosis. *Nat Immunol*. 2002 Oct;3(10):940-3.
- Langer-Gould A, Atlas SW, Green AJ, Bollen AW, Pelletier D. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient treated with natalizumab. *N Engl J Med*. 2005 Jul 28;353(4):375-81.
- Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med*. 2005 Jan 17;201(2):233-40.
- Lassmann H, Brück W, Lucchinetti CF. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol*. 2007 Apr;17(2):210-8.
- Lassmann H, Budka H, Schnaberth G. Inflammatory demyelinating polyradiculitis in a patient with multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1981 Feb;38(2):99-102.
- Lauer K. Diet and multiple sclerosis. *Neurology*. 1997 Aug;49(2 Suppl 2):S55-61.
- Leandri M, Lundardi G, Inglese M, Messmer-Uccelli M, Mancardi GL, Gottlieb A, Solaro C. Lamotrigine in trigeminal neuralgia secondary to multiple sclerosis. *J Neurol*. 2000 Jul;247(7):556-8.
- Lee SW, Tsou AP, Chan H, Thomas J, Petrie K, Eugui EM, Allison AC. Glucocorticoids selectively inhibit the transcription of the interleukin 1 beta gene and decrease the stability of interleukin 1 beta mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Feb;85(4):1204-8.
- Leppert D, Waubant E, Bürk MR, Oksenberg JR, Hauser SL. Interferon beta-1b inhibits gelatinase secretion and in vitro migration of human T cells: a possible mechanism for treatment efficacy in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1996 Dec;40(6):846-52.
- Lhermitte F, Marteau R, Rouillet E, de Saxcé H, Loridan M. Prolonged treatment of multiple sclerosis with average doses of azathioprine. An evaluation of 15 years' experience. *Rev Neurol (Paris)*. 1984;140(10):553-8.
- Lider O, Reshef T, Beraud E, Ben-Nun A, Cohen IR. Anti-idiotypic network induced by T cell vaccination against experimental autoimmune encephalomyelitis. *Science*. 1988 Jan 8;239(4836):181-3.
- Lin WC, Yasumura S, Suminami Y, Sung MW, Nagashima S, Stanson J, Whiteside TL. Constitutive production of IL-2 by human carcinoma cells, expression of IL-2 receptor, and tumor cell growth. *J Immunol*. 1995 Nov 15;155(10):4805-16.
- Linnet OI, Ogrinc FG. Efficacy and safety of intracavernosal alprostadil in men with erectile dysfunction. The Alprostadil Study Group. *N Engl J Med*. 1996 Apr 4;334(14):873-7.
- Linker RA, Kieseier BC, Gold R. Identification and development of new therapeutics for multiple sclerosis. *Trends Pharmacol Sci*. 2008 Nov;29(11):558-65. Review.
- Litvan I, Grafman J, Vendrell P, Martinez JM. Slowed information processing in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 1988 Mar;45(3):281-5.
- Litwiler SE, Frohman EM, Zimmern PE. Multiple sclerosis and the urologist. *J Urol*. 1999 Mar;161(3):743-57.
- Liu C, Blumhardt LD. Randomised, double blind, placebo controlled study of interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis analysed by area under disability/time curves. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999 Oct;67(4):451-6.
- Liu Y, Helms C, Liao W, Zaba LC, Duan S, Gardner J, Wise C, Miner A, Malloy MJ, Pullinger CR, Kane JP, Saccone S, Worthington J, Bruce I, Kwok PY, Menter A, Krueger J, Barton A, Saccone NL, Bowcock AM. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet*. 2008 Mar 28;4(3):e1000041.
- Liu Z, Pelfrey CM, Cotleur A, Lee JC, Rudick RA. Immunomodulatory effects of interferon beta-1a in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2001 Jan 1;112(1-2):153-62.
- Lomedico PT, Gubler U, Hellmann CP, Dukovich M, Giri JG, Pan YC, Collier K, Semionow R, Chua AO, Mizel SB. Cloning and expression of murine interleukin-1 cDNA in *Escherichia coli*. *Nature*. 1984 Nov 29-Dec 5;312(5993):458-62.
- Lovett DH, Ryan JL, Sterzel RB. Stimulation of rat mesangial cell proliferation by macrophage interleukin 1. *J Immunol*. 1983 Dec;131(6):2830-6.
- Lewis GW. The social epidemiology of multiple sclerosis. *Sci Total Environ*. 1990 Jan;90:163-90.

- Lu ZM, Wang ZE, Liu YQ, Wu CX, Wang CY, Zhang BC, Shao S, Jiao YL, Che ZX, Chen ZJ, Zhao YR. Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with cytokine genes expression in systemic lupus erythematosus. *Croat Med J.* 2009 Apr;50(2):117-23.
- Lublin FD, Reingold SC. Guidelines for clinical trials of new therapeutic agents in multiple sclerosis: relations between study investigators, advisors, and sponsors. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology.* 1997 Mar;48(3):572-4.
- Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol.* 2000 Jun;47(6):707-17.
- Lucchinetti CF, Brück W, Rodriguez M, Lassmann H. Distinct patterns of multiple sclerosis pathology indicates heterogeneity on pathogenesis. *Brain Pathol.* 1996 Jul;6(3):259-74.
- Lunardi G, Leandri M, Albano C, Cultrera S, Fracassi M, Rubino V, Favale E. Clinical effectiveness of lamotrigine and plasma levels in essential and symptomatic trigeminal neuralgia. *Neurology.* 1997 Jun;48(6):1714-7.
- Lundmark F, Duvefelt K, Iacobaeus E, Kockum I, Wallström E, Khademi M, Oturai A, Ryder LP, Saarela J, Harbo HF, Celius EG, Salter H, Olsson T, Hillert J. Variation in interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. *Nat Genet.* 2007 Sep;39(9):1108-13.
- Luumala M, Lehtimäki T, Elovaara I, Wang X, Ukkonen M, Mattila K, Laippala P, Koivula T, Hurme M. A study of interleukin-1 cluster genes in susceptibility to and severity of multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2001 Apr 1;185(2):123-7.
- Ma A, Boone DL, Lodolce JP. The pleiotropic functions of interleukin 15: not so interleukin 2-like after all. *J Exp Med.* 2000 Mar 6;191(5):753-6.
- Mackay RP. The familial occurrence of multiple sclerosis and its implications. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis.* 1950;28:150-77.
- Mackay RP, Myrianthopoulos NC. Multiple sclerosis in twins and their relatives. *Arch Neurol.* 1966 Nov;15(5):449-62.
- Mackin GA, Dawson DM, Hafler DA, Weiner HL. Treatment of multiple sclerosis with cyclophosphamide. In Rudick RA, Goodkin DE (Eds). *Treatment of multiple sclerosis.* Springer – Verlag, London 1992:157-72.
- MacManus DG, Miller DH, Kappos L, Gold R, Havrdova E, Limmroth V, Polman CH, Schmierer K, Yousry TA, Eraksoy M, Meluzinova E, Dufek M, Yang M, O'Neill GN, Dawson K. BG-12 reduces evolution of new enhancing lesions to T1-hypointense lesions in patients with multiple sclerosis. *J Neurol.* 2011 Mar;258(3):449-56.
- Malek TR. The main function of IL-2 is to promote the development of T regulatory cells. *J Leukoc Biol.* 2003 Dec;74(6):961-5.
- Mancardi GL, Sardanelli F, Parodi RC, Melani E, Capello E, Inglese M, Ferrari A, Sormani MP, Ottonello C, Levrero F, Uccelli A, Bruzzi P. Effect of copolymer-1 on serial gadolinium-enhanced MRI in relapsing remitting multiple sclerosis. *Neurology.* 1998 Apr;50(4):1127-33.
- Manchanda PK, Kumar A, Bid HK, Mittal RD. Interleukin-1beta and receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphisms and the prediction of the risk of end-stage renal disease. *Biomarkers.* 2006 Mar-Apr;11(2):164-73.
- Mandalfino P, Rice G, Smith A, Klein JL, Rystedt L, Ebers GC. Bone marrow transplantation in multiple sclerosis. *J Neurol.* 2000 Sep;247(9):691-5.
- Mann CL, Davies MB, Stevenson VL, Leary SM, Boggild MD, Ko Ko C, Jones PW, Fryer AA, Strange RC, Thompson AJ, Hawkins CP. Interleukin 1 genotypes in multiple sclerosis and relationship to disease severity. *J Neuroimmunol.* 2002 Aug;129(1-2):197-204.
- March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V, Gillis S, Henney CS, Kronheim SR, Grabstein K, et al. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature.* 1985 Jun 20-26;315(6021):641-7.
- Márquez A, Orozco G, Martínez A, Palomino-Morales R, Fernández-Arquero M, Mendoza JL, Taxonera C, Díaz-Rubio M, Gómez-García M, Nieto A, López-Nevot MA, de la Concha EG, Martín J, Urcelay E. Novel association of the interleukin 2-interleukin 21 region with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2009 Aug;104(8):1968-75.
- Marrie RA. Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. *Lancet Neurol.* 2004 Dec;3(12):709-18.
- Martin D, Near SL. Protective effect of the interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) on experimental allergic encephalomyelitis in rats. *J Neuroimmunol.* 1995 Sep;61(2):241-5.
- Martin R, Howell MD, Jaraquemada D, Flerlage M, Richert J, Brostoff S, Long EO, McFarlin DE, McFarland HF. A myelin basic protein peptide is recognized by cytotoxic T cells in the context of four HLA-DR types associated with multiple sclerosis. *J Exp Med.* 1991 Jan 1;173(1):19-24.
- Martiney JA, Berman JW, Brosnan CF. Chronic inflammatory effects of interleukin-1 on the blood-retina barrier. *J Neuroimmunol.* 1992 Dec;41(2):167-76.
- Martyn C. Epidemiology. In: Matthews WB (ed). *McAlpine's Multiple Sclerosis.* Edinburgh: Churchill Livingstone, 1991;3-40.
- Mastaglia FL, Black JL, Collins DW. Quantitative studies of saccadic and pursuit eye movements in multiple sclerosis. *Brain.* 1979 Dec;102(4):817-34.

- Masterman 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 Aug;48(2):211-9.
- Matesanz F, Alcina A. Induction of autoantibodies to different interleukin-2 allotypes. *J Autoimmun*. 1999 May;12(3):221-7.
- Matesanz F, Delgado C, Fresno M, Alcina A. Allelic selection of human IL-2 gene. *Eur J Immunol*. 2000 Dec;30(12):3516-21.
- Matesanz F, Fedetz M, Collado-Romero M, Fernández O, Guerrero M, Delgado C, Alcina A. Allelic expression and interleukin-2 polymorphisms in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2001 Sep 3;119(1):101-5.
- Matesanz F, Fedetz M, Leyva L, Delgado C, Fernández O, Alcina A. Effects of the multiple sclerosis associated -330 promoter polymorphism in IL2 allelic expression. *J Neuroimmunol*. 2004 Mar;148(1-2):212-7.
- Matsumoto K, Hatano M. Production of interleukin 1 in glomerular cell cultures from rats with nephrotoxic serum nephritis. *Clin Exp Immunol*. 1989 Jan;75(1):123-8.
- Matthews WB. Facial myokymia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1966 Feb;29(1):35-9.
- Matthews WB. *McAlpine's MS*. Churchill-Livingstone, Edinburgh, 1991:43-298.
- Mayne M, Krishnan J, Metz L, Nath A, Auty A, Sahai BM, Power C. Infrequent detection of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood mononuclear cells from multiple sclerosis patients. *Ann Neurol*. 1998 Sep;44(3):391-4.
- Mazzei GJ, Seckinger PL, Dayer JM, Shaw AR. Purification and characterization of a 26-kDa competitive inhibitor of interleukin 1. *Eur J Immunol*. 1990 Mar;20(3):683-9.
- McAlpine D. The benign form of multiple sclerosis. A study based on 241 cases seen within three years of onset and followed up until the tenth year or more of the disease. *Brain*. 1961 Jun;84:186-203.
- McAlpine D. Multiple sclerosis: A reappraisal. Edinburgh. Churchill-Livingston 1972, όπως αναφέρεται στο: Compston A et al (Eds): *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Churchill Livingston, London, 1998:148.
- McAlpine D. Multiple sclerosis: a review. *Br Med J*. 1973 May 5;2(5861):292-5. Review.
- McDonald WI. Doyne lecture. The significance of optic neuritis. *Trans Ophthalmol Soc U K*. 1983;103 (Pt 3):230-46.
- McDonald WI, Barnes D. The ocular manifestations of multiple sclerosis. 1. Abnormalities of the afferent visual system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992 Sep;55(9):747-52. Review.
- McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den Noort S, Weinshenker BY, Wolinsky JS. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001 Jul;50(1):121-7.
- McDonnell GV, Kirk CW, Hawkins SA, Graham CA. An evaluation of interleukin genes fails to identify clear susceptibility loci for multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2000 May 1;176(1):4-12.
- McGeer PL, McGeer EG. Polymorphisms in inflammatory genes and the risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2001 Nov;58(11):1790-2.
- Mead RJ, Singhrao SK, Neal JW, Lassmann H, Morgan BP. The membrane attack complex of complement causes severe demyelination associated with acute axonal injury. *J Immunol*. 2002 Jan 1;168(1):458-65.
- Medaer R. Does the history of multiple sclerosis go back as far as the 14th century? *Acta Neurol Scand*. 1979 Sep;60(3):189-92.
- Meinck HM, Schönle PW, Conrad B. Effect of cannabinoids on spasticity and ataxia in multiple sclerosis. *J Neurol*. 1989 Feb;236(2):120-2.
- Mendez MF, Pogacar S. Malignant monophasic multiple sclerosis or "Marburg's disease". *Neurology*. 1988 Jul;38(7):1153-5.
- Menge T, Weber MS, Hemmer B, Kieseier BC, von Büdingen HC, Warnke C, Zamvil SS, Boster A, Khan O, Hartung HP, Stüve O. Disease-modifying agents for multiple sclerosis: recent advances and future prospects. *Drugs*. 2008;68(17):2445-68. doi: 10.2165/0003495-200868170-00004. Review.
- Metz L. Multiple sclerosis: symptomatic therapies. *Semin Neurol*. 1998;18(3):389-95.
- Mezey E, Key S, Vogelsang G, Szalayova I, Lange GD, Crain B. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Feb 4;100(3):1364-9.
- Milanov I, Georgiev D, Kmetska K, Jordanova L, Topalov N. Prevalence of multiple sclerosis in Bulgaria. *Neuroepidemiology*. 1997;16(6):304-7.
- Millac P, Miller H. Cyclophosphamide in multiple sclerosis. *Lancet*. 1969 Apr 12;1(7598):783.
- Millefiorini E, Gasperini C, Pozzilli C, D'Andrea F, Bastianello S, Trojano M, Morino S, Morra VB, Bozzao A, Calo' A, Bernini ML, Gambi D, Prencipe M. Randomized placebo-controlled trial of mitoxantrone in relapsing-remitting multiple sclerosis: 24-month clinical and MRI outcome. *J Neurol*. 1997 Mar;244(3):153-9.
- Miller D, Barkhof F, Montalban X, Thompson A, Filippi M. Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part 2: non-conventional MRI, recovery processes, and management. *Lancet Neurol*. 2005 Jun;4(6):341-8. Review.
- Miller DH, Khan OA, Sheremata WA, Blumhardt LD, Rice GP, Libonati MA, Willmer-Hulme AJ, Dalton CM, Miszkiel KA, O'Connor PW; International Natalizumab Multiple Sclerosis Trial Group. A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2003 Jan 2;348(1):15-23.

- Miller DH, Molyneux PD, Barker GJ, MacManus DG, Moseley IF, Wagner K. Effect of interferon-beta1b on magnetic resonance imaging outcomes in secondary progressive multiple sclerosis: results of a European multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *European Study Group on Interferon-beta1b in secondary progressive multiple sclerosis. Ann Neurol.* 1999 Dec;46(6):850-9.
- Miller DH, Ormerod IE, McDonald WI, MacManus DG, Kendall BE, Kingsley DP, Moseley IF. The early risk of multiple sclerosis after optic neuritis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1988 Dec;51(12):1569-71.
- Milonas I, Tsounis S, Logothetis I. Epidemiology of multiple sclerosis in northern Greece. *Acta Neurol Scand.* 1990 Jan;81(1):43-7.
- Μυλωνάς Ι, Τσοούνης Σ, Μπαλογιάννης Σ, Φέκας Λ, Λογοθέτης Ι. Επιδημιολογική μελέτη της σκλήρυνσης κατά πλάκας στο νομό Θεσ/νίκης, 1970-1984. *Εγκέφαλος.* 1988;25:173-6.
- Mitrovic B, Ignarro LJ, Vinters HV, Akers MA, Schmid I, Uittenbogaart C, Merrill JE. Nitric oxide induces necrotic but not apoptotic cell death in oligodendrocytes. *Neuroscience.* 1995 Mar;65(2):531-9.
- Molina-Holgado E, Vela JM, Arévalo-Martín A, Guaza C. LPS/IFN-gamma cytotoxicity in oligodendroglial cells: role of nitric oxide and protection by the anti-inflammatory cytokine IL-10. *Eur J Neurosci.* 2001 Feb;13(3):493-502.
- Montalban X. Do steroids have a long-term benefit? In *Multiple Sclerosis-Clinical Challenges and Controversies* (Thomson AJ, et al, eds). 1997. pp. 155-67, Martin Dunitz.
- Moore MA, Warren DJ. Synergy of interleukin 1 and granulocyte colony-stimulating factor: in vivo stimulation of stem-cell recovery and hematopoietic regeneration following 5-fluorouracil treatment of mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Oct;84(20):7134-8.
- Mori S, Goto F, Goto K, Ohkawara S, Maeda S, Shimada K, Yoshinaga M. Cloning and sequence analysis of a cDNA for lymphocyte proliferation potentiating factor of rabbit polymorphonuclear leukocytes: identification rabbit interleukin 1 beta. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988 Feb 15;150(3):1237-43.
- Morrissey SP, Miller DH, Kendall BE, Kingsley DP, Kelly MA, Francis DA, MacManus DG, McDonald WI. The significance of brain magnetic resonance imaging abnormalities at presentation with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. A 5-year follow-up study. *Brain.* 1993 Feb;116 (Pt 1):135-46.
- Moulin DE. Pain in multiple sclerosis. *Neurol Clin.* 1989 May;7(2):321-31.
- Moulin DE, Foley KM, Ebers GC. Pain syndromes in multiple sclerosis. *Neurology.* 1988 Dec;38(12):1830-4.
- Moxon W. Eight cases of insular sclerosis of the brain and spinal cord. *Lancet.* 1875;1:437-78.
- Mueller ME, Gruenthal M, Olson WL, Olson WH. Gabapentin for relief of upper motor neuron symptoms in multiple sclerosis. *Arch Phys Med Rehabil.* 1997 May;78(5):521-4.
- Mumford CJ, Wood NW, Kellar-Wood H, Thorpe JW, Miller DH, Compston DA. The British Isles survey of multiple sclerosis in twins. *Neurology.* 1994 Jan;44(1):11-5.
- Munafa A, Trinchard-Lugan I I, Nguyen TX, Buraglio M. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human interferon beta-1a after intramuscular and subcutaneous administration. *Eur J Neurol.* 1998 Mar;5(2):187-193.
- Muraro PA, Martin R. Immunological questions on hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant.* 2003 Aug;32 Suppl 1:S41-4. Review.
- Müri RM, Meienberg O. The clinical spectrum of internuclear ophthalmoplegia in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 1985 Sep;42(9):851-5.
- Mustafina OE, Bakhtiarova KZ, Mikhaïlova AM, Tuktarova IA, Khusainova AN, Nasibullin TR, Magzhanov RV. Analysis of the association of allelic variants of apolipoprotein E and interleukin 1 beta genes with multiple sclerosis in ethnic Tatars. *Genetika.* 2008 Mar;44(3):407-13.
- Myers LW, Ellison GW. The peculiar difficulties of therapeutic trials for multiple sclerosis. *Neurol Clin.* 1990 Feb;8(1):119-41. Review.
- Nelson BH, Willerford DM. Biology of the interleukin-2 receptor. *Adv Immunol.* 1998;70:1-81.
- Nelson LM, Franklin GM, Jones MC. Risk of multiple sclerosis exacerbation during pregnancy and breast-feeding. *JAMA.* 1988 Jun 17;259(23):3441-3.
- Neuhaus O, Archelos JJ, Hartung HP. Immunomodulation in multiple sclerosis: from immunosuppression to neuroprotection. *Trends Pharmacol Sci.* 2003 Mar;24(3):131-8.
- Neuhaus O, Farina C, Wekerle H, Hohlfeld R. Mechanisms of action of glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology.* 2001 Mar 27;56(6):702-8.
- Neuhaus O, Strasser-Fuchs S, Fazekas F, Kieseier BC, Niederwieser G, Hartung HP, Archelos JJ. Statins as immunomodulators: comparison with interferon-beta 1b in MS. *Neurology.* 2002 Oct 8;59(7):990-7.
- Neuhaus O, Wiendl H, Kieseier BC, Archelos JJ, Hemmer B, Stüve O, Hartung HP. Multiple sclerosis: Mitoxantrone promotes differential effects on immunocompetent cells in vitro. *J Neuroimmunol.* 2005 Nov;168(1-2):128-37.
- Newman PM, Nogue M, Newman PK, Weightman D, Hudgson P. Tizanidine in the treatment of spasticity. *Eur J Clin Pharmacol.* 1982;23(1):31-5.
- Nicklin MJ, Weith A, Duff GW. A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-1 receptor antagonist genes. *Genomics.* 1994 Jan 15;19(2):382-4.
- Nicol CF. A four year double-blind study of tegretol in facial pain. *Headache.* 1969 Apr;9(1):54-7.

- Nicoletti F, Patti F, DiMarco R, Zaccone P, Nicoletti A, Meroni P, Reggio A. Circulating serum levels of IL-1ra in patients with relapsing remitting multiple sclerosis are normal during remission phases but significantly increased either during exacerbations or in response to IFN-beta treatment. *Cytokine*. 1996 May;8(5):395-400.
- Nikoskelainen E, Frey H, Salmi A. Prognosis of optic neuritis with special reference to cerebrospinal fluid immunoglobulins and measles virus antibodies. *Ann Neurol*. 1981 Jun;9(6):545-50.
- Noseworthy JH. Progress in determining the causes and treatment of multiple sclerosis. *Nature*. 1999 Jun 24;399(6738 Suppl):A40-7.
- Noseworthy JH, Hopkins MB, Vandervoort MK, Karlik SJ, Lee DH, Penman M, Rice GP, Grinwich KD, Cauvier H, Harris BJ, et al. An open-trial evaluation of mitoxantrone in the treatment of progressive MS. *Neurology*. 1993 Jul;43(7):1401-6.
- Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2000 Sep 28;343(13):938-52.
- O'Connor PW, Li D, Freedman MS, Bar-Or A, Rice GP, Confavreux C, Paty DW, Stewart JA, Scheyer R; Teriflunomide Multiple Sclerosis Trial Group; University of British Columbia MS/MRI Research Group. A Phase II study of the safety and efficacy of teriflunomide in multiple sclerosis with relapses. *Neurology*. 2006 Mar 28;66(6):894-900.
- Okuda B, Tanaka H, Tachibana H, Iwamoto Y, Takeda M, Kawabata K, Sugita M. Visual form agnosia in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1996 Jul;94(1):38-44.
- Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, Connolly RJ, Dinarello CA. Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest*. 1988 Apr;81(4):1162-72.
- Olek MJ, Hohol MJ, Weiner HL. Methotrexate in the treatment of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1996 May;39(5):684.
- Olerup O, Hillert J. HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue Antigens*. 1991 Jul;38(1):1-15.
- Olerup O, Hillert J, Fredrikson S, Olsson T, Kam-Hansen S, Möller E, Carlsson B, Wallin J. Primarily chronic progressive and relapsing/remitting multiple sclerosis: two immunogenetically distinct disease entities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Sep;86(18):7113-7.
- O'Riordan JI, Thompson AJ, Kingsley DP, MacManus DG, Kendall BE, Rudge P, McDonald WI, Miller DH. The prognostic value of brain MRI in clinically isolated syndromes of the CNS. A 10-year follow-up. *Brain*. 1998 Mar;121 (Pt 3):495-503.
- Osterberg A, Boivie J. Central pain in multiple sclerosis - sensory abnormalities. *Eur J Pain*. 2010 Jan;14(1):104-10.
- Osterberg A, Boivie J, Thuomas KA. Central pain in multiple sclerosis--prevalence and clinical characteristics. *Eur J Pain*. 2005 Oct;9(5):531-42.
- Otero GC, Merrill JE. Response of human oligodendrocytes to interleukin-2. *Brain Behav Immun*. 1997 Mar;11(1):24-38.
- Padovani R, Tognetti F, Pozzati E, Servadei F, Laghi D, Gaist G. The treatment of spasticity by means of dorsal longitudinal myelotomy and lozenge-shaped griseotomy. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1982 Mar-Apr;7(2):103-9.
- Panitch HS. Interferons in multiple sclerosis. A review of the evidence. *Drugs*. 1992 Dec;44(6):946-62.
- Papathanasopoulos P, Gourzoulidou E, Messinis L, Georgiou V, Leotsinidis M. Prevalence and incidence of multiple sclerosis in western Greece: a 23-year survey. *Neuroepidemiology*. 2008;30(3):167-73.
- Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*. 2005 Nov;6(11):1133-41.
- Patterson D, Jones C, Hart I, Bleskan J, Berger R, Geyer D, Eisenberg SP, Smith MF Jr, Arend WP. The human interleukin-1 receptor antagonist (IL1RN) gene is located in the chromosome 2q14 region. *Genomics*. 1993 Jan;15(1):173-6.
- Paty DW, Ebers GC. Clinical features. In Paty DW, Ebers Gc (Eds): *Multiple sclerosis*. Contemporary Neurologic Series. FA Davis, Philadelphia 1998:135-91.
- Paty DW, Li DK. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. II. MRI analysis results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. UBC MS/MRI Study Group and the IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 1993 Apr;43(4):662-7.
- Paty DW, McFarland H. Magnetic resonance techniques to monitor the long term evolution of multiple sclerosis pathology and to monitor definitive clinical trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998 May;64 Suppl 1:S47-51.
- Paty DW, Poser CM. Clinical symptoms and signs in Multiple Sclerosis. In Poser CM (Ed): *The diagnosis of Multiple Sclerosis*. Thieme-Verlag, New York, 1984:27-43.
- Pawlik A, Kurzawski M, Florczak M, Gawronska Szklarz B, Herczyńska M. IL1beta+3953 exon 5 and IL-2 -330 promoter polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2005 Mar-Apr;23(2):159-64.
- Payne A. Nutrition and diet in the clinical management of multiple sclerosis. *J Hum Nutr Diet*. 2001 Oct;14(5):349-57.

- Peirson GA, Fowlks EW, King PS. Long-term follow-up on the use of diazepam in the treatment of spasticity. *Am J Phys Med.* 1968 Jun;47(3):143-9.
- Penn I. The occurrence of malignant tumors in immunosuppressed states. *Prog Allergy.* 1986;37:259-300.
- Penn RD, Savoy SM, Corcos D, Latash M, Gottlieb G, Parke B, Kroin JS. Intrathecal baclofen for severe spinal spasticity. *N Engl J Med.* 1989 Jun 8;320(23):1517-21.
- Perkin GD, Rose FC. *Optic neuritis and its differential diagnosis.* Oxford University Press, Oxford 1979.
- Peter JB, Boctor FN, Tourtellotte WW. Serum and CSF levels of IL-2, sIL-2R, TNF-alpha, and IL-1 beta in chronic progressive multiple sclerosis: expected lack of clinical utility. *Neurology.* 1991 Jan;41(1):121-3.
- Petitto JM, Streit WJ, Huang Z, Butfiloski E, Schiffenbauer J. Interleukin-2 gene deletion produces a robust reduction in susceptibility to experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. *Neurosci Lett.* 2000 May 5;285(1):66-70.
- Petro DJ, Ellenberger C Jr. Treatment of human spasticity with delta 9-tetrahydrocannabinol. *J Clin Pharmacol.* 1981 Aug-Sep;21(8-9 Suppl):413S-416S.
- Phadke JG. Survival pattern and cause of death in patients with multiple sclerosis: results from an epidemiological survey in north east Scotland. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1987 May;50(5):523-31.
- Phadke JG. Clinical aspects of multiple sclerosis in north-east Scotland with particular reference to its course and prognosis. *Brain.* 1990 Dec;113 (Pt 6):1597-628.
- Phadke JG, Downie AW. Epidemiology of multiple sclerosis in the north-east (Grampian region) of Scotland--an update. *J Epidemiol Community Health.* 1987 Mar;41(1):5-13.
- Pieroni F, Lourenço DM, Morelli VM, Maffei FH, Zago MA, Franco RF. Cytokine gene variants and venous thrombotic risk in the BRATROS (BRAZILIAN THROMBOSIS STUDY). *Thromb Res.* 2007;120(2):221-9.
- Piperidou HN, Heliopoulos IN, Maltezos ES, Milonas IA. Epidemiological data of multiple sclerosis in the province of Evros, Greece. *Eur Neurol.* 2003;49(1):8-12.
- Pittock SJ, Rodriguez M. Benign multiple sclerosis: a distinct clinical entity with therapeutic implications. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008;318:1-17. Review.
- Plater-Zyberk C, Rockett KA, Maini RN. Spontaneous recovery of the decreased expression in vitro of interleukin 2 receptors in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* 1988 Jul;73(1):93-7.
- Pociot F, Mølvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest.* 1992 Jun;22(6):396-402.
- Pollock M, Calder C, Allpress S. Peripheral nerve abnormality in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1977 Jul;2(1):41-8.
- Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinshenker BG, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol.* 2005 Dec;58(6):840-6.
- Porrini AM, Gambi D, Reder AT. Interferon effects on interleukin-10 secretion. Mononuclear cell response to interleukin-10 is normal in multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol.* 1995 Aug;61(1):27-34.
- Porst H. The rationale for prostaglandin E1 in erectile failure: a survey of worldwide experience. *J Urol.* 1996 Mar;155(3):802-15.
- Poser CM. Exacerbations, activity, and progression in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 1980 Aug;37(8):471-4.
- Poser CM. Taxonomy and diagnostic parameters in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1984;436:233-46. Review.
- Poser CM. Myelinoelastic diffuse sclerosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW, Klawans HL (Eds). *Handbook of Clinical Neurology.* North Holland Publishing, Amsterdam, 1985:419-24.
- Poser CM. The pathogenesis of multiple sclerosis. Additional considerations. *J Neurol Sci.* 1993 Apr;115 Suppl:S3-15. Review.
- Poser CM. Intravenous immunoglobulin for multiple sclerosis. *Lancet.* 1997 Apr 19;349(9059):1177-8.
- Poser CM. The multiple sclerosis trait and the development of multiple sclerosis: genetic vulnerability and environmental effect. *Clin Neurol Neurosurg.* 2006 Mar;108(3):227-33.
- Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol.* 1983 Mar;13(3):227-31.
- Poser S, Poser W. Multiple sclerosis and gestation. *Neurology.* 1983 Nov;33(11):1422-7.
- Posner LE, Dukart G, Goldberg J, Bernstein T, Cartwright K. Mitoxantrone: an overview of safety and toxicity. *Invest New Drugs.* 1985;3(2):123-32.
- Potaczek D, Krzanowski M, Sanak M. Interleukin-1beta C+3953T gene polymorphism and peripheral arterial occlusive disease in Polish population. *Przegl Lek.* 2005;62(9):830-2.
- Powell JD, Ragheb JA, Kitagawa-Sakakida S, Schwartz RH. Molecular regulation of interleukin-2 expression by CD28 co-stimulation and anergy. *Immunol Rev.* 1998 Oct;165:287-300. Review.
- Prineas J. Pathology of the early lesion in multiple sclerosis. *Hum Pathol.* 1975 Sep;6(5):531-54.
- PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet.* 1998 Nov 7;352(9139):1498-504. Erratum in: *Lancet* 1999 Feb 20;353(9153):678.
- Pugliatti M, Solinas G, Sotgiu S, Castiglia P, Rosati G. Multiple sclerosis distribution in northern Sardinia: spatial cluster analysis of prevalence. *Neurology.* 2002 Jan 22;58(2):277-82.

- Qu HQ, Bradfield JP, Bélisle A, Grant SF, Hakonarson H, Polychronakos C; Type I Diabetes Genetics Consortium. The type I diabetes association of the IL2RA locus. *Genes Immun.* 2009 Dec;10 Suppl 1:S42-8.
- Qwarnstrom EE, Page RC, Gillis S, Dower SK. Binding, internalization, and intracellular localization of interleukin-1 beta in human diploid fibroblasts. *J Biol Chem.* 1988 Jun 15;263(17):8261-9.
- Racke MK, Ratts RB, Arredondo L, Perrin PJ, Lovett-Racke A. The role of costimulation in autoimmune demyelination. *J Neuroimmunol.* 2000 Jul 24;107(2):205-15.
- Radhakrishnan K, Ashok PP, Sridharan R, Mousa ME. Prevalence and pattern of multiple sclerosis in Benghazi, north-eastern Libya. *J Neurol Sci.* 1985 Aug;70(1):39-46.
- Ragonese P, Aridon P, Salemi G, D'Amelio M, Savettieri G. Mortality in multiple sclerosis: a review. *Eur J Neurol.* 2008 Feb;15(2):123-7.
- Ransom BR, Waxman SG, Stys PK. Axonic injury of central myelinated axons: ionic mechanisms and pharmacology. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis.* 1993;71:121-151. Review.
- Rao SM, Hammeke TA, McQuillen MP, Khatri BO, Lloyd D. Memory disturbance in chronic progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 1984 Jun;41(6):625-31.
- Rao SM, St Aubin-Faubert P, Leo GJ. Information processing speed in patients with multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol.* 1989 Aug;11(4):471-7.
- Ravindran JS, Owen P, Lagan A, Lewis J, Korendowych E, Welsh K, McHugh N. Interleukin 1alpha, interleukin 1beta and interleukin 1 receptor gene polymorphisms in psoriatic arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2004 Jan;43(1):22-6.
- Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Gläser C, Schaller HG, Schulz S. Interleukin-2 - 330 and 166 gene polymorphisms in relation to aggressive or chronic periodontitis and the presence of periodontopathic bacteria. *J Periodontol Res.* 2009 Oct;44(5):628-35.
- Reichert TE, Watkins S, Stanson J, Johnson JT, Whiteside TL. Endogenous IL-2 in cancer cells: a marker of cellular proliferation. *J Histochem Cytochem.* 1998 May;46(5):603-11.
- Reulen JP, Sanders EA, Hogenhuis LA. Eye movement disorders in multiple sclerosis and optic neuritis. *Brain.* 1983 Mar;106 (Pt 1):121-40.
- Ribizzi G, Fiordoro S, Barocci S, Ferrari E, Megna M. Cytokine polymorphisms and Alzheimer disease: possible associations. *Neurol Sci.* 2010 Jun;31(3):321-5.
- Rice GP, Ebers GC. Ondansetron for intractable vertigo complicating acute brainstem disorders. *Lancet.* 1995 May 6;345(8958):1182-3.
- Rice GP, Lesaux J, Vandervoort P, Macewan L, Ebers GC. Ondansetron, a 5-HT3 antagonist, improves cerebellar tremor. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1997 Mar;62(3):282-4.
- Riise T, Mohr DC, Munger KL, Rich-Edwards JW, Kawachi I, Ascherio A. Stress and the risk of multiple sclerosis. *Neurology.* 2011 May 31;76(22):1866-71.
- Rinne UK. Tizanidine treatment of spasticity in MS and chronic myelopathy. *Curr Ther Res.* 1980;28:827-36.
- Rivers TM, Schwentker FF. Encephalomyelitis accompanied by myelin destruction experimentally produced in monkeys. *J Exp Med.* 1935 Apr 30;61(5):689-702.
- Rizzo JF 3rd, Lessell S. Risk of developing multiple sclerosis after uncomplicated optic neuritis: a long-term prospective study. *Neurology.* 1988 Feb;38(2):185-90.
- Robb RJ, Munck A, Smith KA. T cell growth factor receptors. Quantitation, specificity, and biological relevance. *J Exp Med.* 1981 Nov 1;154(5):1455-74.
- 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 Apr;119 (Pt 2):449-55.
- Robertson NP, O'Riordan JI, Chataway J, Kingsley DP, Miller DH, Clayton D, Compston DA. Offspring recurrence rates and clinical characteristics of conjugal multiple sclerosis. *Lancet.* 1997 May 31;349(9065):1587-90.
- Rodriguez M, Lennon VA. Immunoglobulins promote remyelination in the central nervous system. *Ann Neurol.* 1990 Jan;27(1):12-7.
- Rogers J. An IL-1 alpha susceptibility polymorphism in Alzheimer's disease: new fuel for the inflammation hypothesis. *Neurology.* 2000 Aug 22;55(4):464-5.
- Rokitansky C. *Handbuch der pathologischen anatomie.* Bei Braumuller & Seidel, 1846.
- Rolak LA. The diagnosis of multiple sclerosis. *Neurol Clin.* 1996 Feb;14(1):27-43. Review.
- Rosati G. Descriptive epidemiology of multiple sclerosis in Europe in the 1980s: a critical overview. *Ann Neurol.* 1994 Dec;36 Suppl 2:S164-74. Review.
- Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurol Sci.* 2001 Apr;22(2):117-39. Review.
- Rosenberg JM, Harrell C, Ristic H, Werner RA, de Rosayro AM. The effect of gabapentin on neuropathic pain. *Clin J Pain.* 1997 Sep;13(3):251-5.
- Rossi V, Breviario F, Ghezzi P, Dejana E, Mantovani A. Prostacyclin synthesis induced in vascular cells by interleukin-1. *Science.* 1985 Jul 12;229(4709):174-6.
- Roxburgh RH, Seaman SR, Masterman T, Hensiek AE, Sawcer SJ, Vukusic S, Achiti I, Confavreux C, Coustans M, le Page E, Edan G, McDonnell GV, Hawkins S, Trojano M, Liguori M, Cocco E, Marrosu MG, Tesser F, Leone MA, Weber A, Zipp F, Mitterski B, Epplen JT, Oturai A, Sørensen PS, Celius EG, Lara NT, Montalban X, Villoslada P, Silva AM, Marta M, Leite I, Dubois B, Rubio J, Butzkueven H, Kilpatrick T, Mycko MP, Selmaj KW, Rio ME, Sá

- M, Salemi G, Savettieri G, Hillert J, Compston DA. Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology*. 2005 Apr 12;64(7):1144-51.
- Rubin LA. The soluble interleukin-2 receptor in rheumatic disease. *Arthritis Rheum*. 1990 Aug;33(8):1145-8.
- Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann Intern Med*. 1990 Oct 15;113(8):619-27. Review.
- Rudick RA, Sandrock A. Natalizumab: alpha 4-integrin antagonist selective adhesion molecule inhibitors for MS. *Expert Rev Neurother*. 2004 Jul;4(4):571-80.
- Rudick RA, Schiffer RB, Herndon RM. Drug treatment of multiple sclerosis. *Semin Neurol*. 1987 Jun;7(2):150-9.
- Rudick RA, Schiffer RB, Schwetz KM, Herndon RM. Multiple sclerosis. The problem of incorrect diagnosis. *Arch Neurol*. 1986 Jun;43(6):578-83.
- Rudick RA, Simonian NA, Alam JA, Campion M, Scaramucci JO, Jones W, Coats ME, Goodkin DE, Weinstock-Guttman B, Herndon RM, Mass MK, Richert JR, Salazar AM, Munschauer FE 3rd, Cookfair DL, Simon JH, Jacobs LD. Incidence and significance of neutralizing antibodies to interferon beta-1a in multiple sclerosis. Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Neurology*. 1998 May;50(5):1266-72.
- Runmarker B, Andersen O. Prognostic factors in a multiple sclerosis incidence cohort with twenty-five years of follow-up. *Brain*. 1993 Feb;116 (Pt 1):117-34.
- Sabatini M, Boyce B, Aufdemorte T, Bonewald L, Mundy GR. Infusions of recombinant human interleukins 1 alpha and 1 beta cause hypercalcemia in normal mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Jul;85(14):5235-9.
- Sadlack B, Löhler J, Schorle H, Klebb G, Haber H, Sickel E, Noelle RJ, Horak I. Generalized autoimmune disease in interleukin-2-deficient mice is triggered by an uncontrolled activation and proliferation of CD4+ T cells. *Eur J Immunol*. 1995 Nov;25(11):3053-9.
- Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GP, Bulman D, Hashimoto L, Paty DW, Hashimoto SA, Warren S, Hader W, Murray TJ, et al. A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann Neurol*. 1993 Mar;33(3):281-5.
- Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH. Multiple sclerosis: updated risks for relatives. *Am J Med Genet*. 1988 Mar;29(3):533-41.
- Sadovnick AD, Baird PA. The familial nature of multiple sclerosis: age-corrected empiric recurrence risks for children and siblings of patients. *Neurology*. 1988 Jun;38(6):990-1.
- Sadovnick AD, Bulman D, Ebers GC. Parent-child concordance in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1991 Mar;29(3):252-5.
- Sadovnick AD, Ebers GC. Epidemiology of multiple sclerosis: a critical overview. *Can J Neurol Sci*. 1993 Feb;20(1):17-29. Review.
- Sadovnick AD, Ebers GC. Genetics of multiple sclerosis. *Neurol Clin*. 1995 Feb;13(1):99-118.
- Sadovnick AD, Ebers GC, Dymont DA, Risch NJ. Evidence for genetic basis of multiple sclerosis. The Canadian Collaborative Study Group. *Lancet*. 1996 Jun 22;347(9017):1728-30.
- Sailer M, Heinze HJ, Schoenfeld MA, Hauser U, Smid HG. Amantadine influences cognitive processing in patients with multiple sclerosis. *Pharmacopsychiatry*. 2000 Jan;33(1):28-37.
- Saiz PA, Garcia-Portilla MP, Arango C, Morales B, Martinez-Barrondo S, Alvarez V, Coto E, Fernandez J, Bousono M, Bobes J. Interleukin-1 gene complex in schizophrenia: an association study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2006 Sep 5;141B(6):678-80.
- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*. 1995 Aug 1;155(3):1151-64.
- Saklatvala J, Sarsfield SJ, Townsend Y. Pig interleukin 1. Purification of two immunologically different leukocyte proteins that cause cartilage resorption, lymphocyte activation, and fever. *J Exp Med*. 1985 Oct 1;162(4):1208-22.
- Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 15. Messer GU, Spengler MC, Jung G. 1989.
- Samkoff LM, Daras M, Tuchman AJ, Koppel BS. Amelioration of refractory dysesthetic limb pain in multiple sclerosis by gabapentin. *Neurology*. 1997 Jul;49(1):304-5.
- Sandberg-Wollheim M, Bynke H, Cronqvist S, Holtås S, Platz P, Ryder LP. A long-term prospective study of optic neuritis: evaluation of risk factors. *Ann Neurol*. 1990 Apr;27(4):386-93.
- Sandberg-Wollheim M, Platz P, Ryder LP, Nielsen IS, Thomsen M. HL-A histocompatibility antigens in optic neuritis. *Acta Neurol Scand*. 1975 Sep;52(3):161-6.
- Sanders EA, Arts RJ. Paraesthesiae in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 1986 Jul;74(2-3):297-305.
- Satoh T, Pandey J, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y, Kuwana M. Single nucleotide polymorphisms of the inflammatory cytokine genes in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2004 Mar;124(6):796-801.
- Schiffer RB, Wineman NM. Antidepressant pharmacotherapy of depression associated with multiple sclerosis. *Am J Psychiatry*. 1990 Nov;147(11):1493-7.
- Schindler R, Clark BD, Dinarello CA. Dissociation between interleukin-1 beta mRNA and protein synthesis in human peripheral blood mononuclear cells. *J Biol Chem*. 1990 Jun 25;265(18):10232-7.

- Schindler R, Ghezzi P, Dinarello CA. IL-1 induces IL-1. IV. IFN-gamma suppresses IL-1 but not lipopolysaccharide-induced transcription of IL-1. *J Immunol*. 1990 Mar 15;144(6):2216-22.
- Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*. 1990 Jan 1;75(1):40-7.
- Schorle H, Holtschke T, Hünig T, Schimpl A, Horak I. Development and function of T cells in mice rendered interleukin-2 deficient by gene targeting. *Nature*. 1991 Aug 15;352(6336):621-4.
- Schrijver HM, Crusius JB, Uitdehaag BM, García González MA, Kostense PJ, Polman CH, Peña AS. Association of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist genes with disease severity in MS. *Neurology*. 1999 Feb;52(3):595-9.
- Schrijver HM, van As J, Crusius JB, Dijkstra CD, Uitdehaag BM. Interleukin (IL)-1 gene polymorphisms: relevance of disease severity associated alleles with IL-1beta and IL-1ra production in multiple sclerosis. *Mediators Inflamm*. 2003 Apr;12(2):89-94.
- SCHUMACKER GA, BEEBE G, KIBLER RF, KURLAND LT, KURTZKE JF, MCDOWELL F, NAGLER B, SIBLEY WA, TOURTELLOTTE WW, WILLMON TL. Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis: report by the panel on the evaluation of experimental trials of therapy in Multiple Sclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1965 Mar 31;122:552-68.
- Schwid SR, Petrie MD, McDermott MP, Tierney DS, Mason DH, Goodman AD. Quantitative assessment of sustained-release 4-aminopyridine for symptomatic treatment of multiple sclerosis. *Neurology*. 1997 Apr;48(4):817-21.
- Sciacca F, Ferri C, Licastro F, Veglia F, Biunno I, Gavazzi A, Calabrese E, Martinelli Boneschi F, Sorbi S, Mariani C, Franceschi M, Grimaldi L. Interleukin-1B polymorphism is associated with age at onset of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2003 Nov;24(7):927-31.
- Sciacca FL, Ferri C, Vandenbroeck K, Veglia F, Gobbi C, Martinelli F, Franciotta D, Zaffaroni M, Marrosu M, Martino G, Martinelli V, Comi G, Canal N, Grimaldi LM. Relevance of interleukin 1 receptor antagonist intron 2 polymorphism in Italian MS patients. *Neurology*. 1999 Jun 10;52(9):1896-8.
- Seckinger P, Williamson K, Balavoine JF, Mach B, Mazzei G, Shaw A, Dayer JM. A urine inhibitor of interleukin 1 activity affects both interleukin 1 alpha and 1 beta but not tumor necrosis factor alpha. *J Immunol*. 1987 Sep 1;139(5):1541-5.
- Seguin EC, Shaw JC, Van Der Veer A. A contribution to the pathological anatomy of disseminated cerebrospinal sclerosis. *J Nerv Ment Dis*. 1878;5:284.
- Sellebjerg F, Sørensen TL. Chemokines and matrix metalloproteinase-9 in leukocyte recruitment to the central nervous system. *Brain Res Bull*. 2003 Aug 15;61(3):347-55.
- Shefner JM, Mackin GA, Dawson DM. Lower motor neuron dysfunction in patients with multiple sclerosis. *Muscle Nerve*. 1992 Nov;15(11):1265-70.
- Shokrgozar MA, Sarial S, Amirzargar A, Shokri F, Rezaei N, Arjang Z, Radfar J, Yousefi-Behzadi M, Ali Sahraian M, Lotfi J. IL-2, IFN-gamma, and IL-12 gene polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis. *J Clin Immunol*. 2009 Nov;29(6):747-51.
- Sibley WA, Paty DW. A comparison of MS in Arizona (USA) and Ontario (Canada) preliminary report. *Acta Neurol Scand*. 1981;64(Suppl 87):60-5.
- Simon JH, Jacobs LD, Champion M, Wende K, Simonian N, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM, Alam JJ, Fischer JS, Goodkin DE, Granger CV, Lajaunie M, Martens-Davidson AL, Meyer M, Sheeder J, Choi K, Scherzinger AL, Bartoszak DM, Bourdette DN, Braiman J, Brownscheidle CM, Whitham RH, et al. Magnetic resonance studies of intramuscular interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group. *Ann Neurol*. 1998 Jan;43(1):79-87.
- Sist T, Filadora V, Miner M, Lema M. Gabapentin for idiopathic trigeminal neuralgia: report of two cases. *Neurology*. 1997 May;48(5):1467.
- Slavin AJ, Soos JM, Stuve O, Patarroyo JC, Weiner HL, Fontana A, Bikoff EK, Zamvil SS. Requirement for endocytic antigen processing and influence of invariant chain and H-2M deficiencies in CNS autoimmunity. *J Clin Invest*. 2001 Oct;108(8):1133-9.
- Smith AJ, Humphries SE. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009 Feb;20(1):43-59. Review.
- Smith KA. Interleukin 2. *Annu Rev Immunol*. 1984;2:319-33.
- Smith KJ, Lassmann H. The role of nitric oxide in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2002 Aug;1(4):232-41.
- Smits RC, Emmen HH, Bertelsmann FW, Kulig BM, van Loenen AC, Polman CH. The effects of 4-aminopyridine on cognitive function in patients with multiple sclerosis: a pilot study. *Neurology*. 1994 Sep;44(9):1701-5.
- Smolenski C, Muff S, Smolenski-Kautz S. A double-blind comparative trial of new muscle relaxant, tizanidine (DS 103-282), and baclofen in the treatment of chronic spasticity in multiple sclerosis. *Curr Med Res Opin*. 1981;7(6):374-83.
- Snow BJ, Tsui JK, Bhatt MH, Varelas M, Hashimoto SA, Calne DB. Treatment of spasticity with botulinum toxin: a double-blind study. *Ann Neurol*. 1990 Oct;28(4):512-5.
- Söderström M, Ya-Ping J, Hillert J, Link H. Optic neuritis: prognosis for multiple sclerosis from MRI, CSF, and HLA findings. *Neurology*. 1998 Mar;50(3):708-14.

- Solaro C, Uccelli MM, Guglieri P, Uccelli A, Mancardi GL. Gabapentin is effective in treating nocturnal painful spasms in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2000 Jun;6(3):192-3.
- Soldan SS, Berti R, Salem N, Secchiero P, Flamand L, Calabresi PA, Brennan MB, Maloni HW, McFarland HF, Lin HC, Patnaik M, Jacobson S. Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nat Med*. 1997 Dec;3(12):1394-7.
- Sorensen PS. Role of IVIG in the management of Multiple Sclerosis. First Hyland-Immuno Meeting on Intravenous Immunoglobulins. Segovia, Spain 6th February 1998.
- Sorensen PS, Wanschler B, Jensen CV, Schreiber K, Blinkenberg M, Ravnborg M, Kirsmeier H, Larsen VA, Lee ML. Intravenous immunoglobulin G reduces MRI activity in relapsing multiple sclerosis. *Neurology*. 1998 May;50(5):1273-81.
- Sriram S, Stratton CW, Yao S, Tharp A, Ding L, Bannan JD, Mitchell WM. Chlamydia pneumoniae infection of the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1999 Jul;46(1):6-14.
- Stangel M, Boegner F, Klatt CH, Hofmeister C, Seyfert S. Placebo controlled pilot trial to study the remyelinating potential of intravenous immunoglobulins in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000 Jan;68(1):89-92.
- Stangel M, Toyka KV, Gold R. Mechanisms of high-dose intravenous immunoglobulins in demyelinating diseases. *Arch Neurol*. 1999 Jun;56(6):661-3.
- Stefoski D, Davis FA, Fitzsimmons WE, Luskin SS, Rush J, Parkhurst GW. 4-Aminopyridine in multiple sclerosis: prolonged administration. *Neurology*. 1991 Sep;41(9):1344-8.
- Steinman L. Multiple sclerosis: a coordinated immunological attack against myelin in the central nervous system. *Cell*. 1996 May 3;85(3):299-302.
- Steinman L. Multiple sclerosis: a two-stage disease. *Nat Immunol*. 2001 Sep;2(9):762-4.
- Steinman L. Immunotherapy of multiple sclerosis: the end of the beginning. *Curr Opin Immunol*. 2001 Oct;13(5):597-600. Review.
- Steinman L. Blocking adhesion molecules as therapy for multiple sclerosis: natalizumab. *Nat Rev Drug Discov*. 2005 Jun;4(6):510-8.
- Stenager E, Knudsen L, Jensen K. Acute and chronic pain syndromes in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1991 Sep;84(3):197-200.
- Stendahl-Brodin L, Link H. Optic neuritis: oligoclonal bands increase the risk of multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1983 May;67(5):301-4.
- Stohman SA, Hinton DR. Viral induced demyelination. *Brain Pathol*. 2001 Jan;11(1):92-106. Review.
- Storch MK, Piddlesden S, Haltia M, Iivanainen M, Morgan P, Lassmann H. Multiple sclerosis: in situ evidence for antibody- and complement-mediated demyelination. *Ann Neurol*. 1998 Apr;43(4):465-71.
- Strandberg L, Lorentzon M, Hellqvist A, Nilsson S, Wallenius V, Ohlsson C, Jansson JO. Interleukin-1 system gene polymorphisms are associated with fat mass in young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jul;91(7):2749-54.
- Strandberg L, Mellström D, Ljunggren O, Grundberg E, Karlsson MK, Holmberg AH, Orwoll ES, Eriksson AL, Svedberg J, Bengtsson M, Ohlsson C, Jansson JO. IL6 and IL1B polymorphisms are associated with fat mass in older men: the MROS Study Sweden. *Obesity (Silver Spring)*. 2008 Mar;16(3):710-3.
- Stüve O, Dooley NP, Uhm JH, Antel JP, Francis GS, Williams G, Yong VW. Interferon beta-1b decreases the migration of T lymphocytes in vitro: effects on matrix metalloproteinase-9. *Ann Neurol*. 1996 Dec;40(6):853-63.
- Stys PK, Lopachin RM. Mechanisms of calcium and sodium fluxes in anoxic myelinated central nervous system axons. *Neuroscience*. 1998 Jan;82(1):21-32.
- Sumelahti ML, Hakama M, Elovaara I, Pukkala E. Causes of death among patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2010 Dec;16(12):1437-42.
- Sun D, Whitaker JN, Huang Z, Liu D, Coleclough C, Wekerle H, Raine CS. Myelin antigen-specific CD8+ T cells are encephalitogenic and produce severe disease in C57BL/6 mice. *J Immunol*. 2001 Jun 15;166(12):7579-87.
- Sun W, Popat U, Hutton G, Zang YC, Krance R, Carrum G, Land GA, Heslop H, Brenner M, Zhang JZ. Characteristics of T-cell receptor repertoire and myelin-reactive T cells reconstituted from autologous haematopoietic stem-cell grafts in multiple sclerosis. *Brain*. 2004 May;127(Pt 5):996-1008.
- Swank RL, Dugan BB. Effect of low saturated fat diet in early and late cases of multiple sclerosis. *Lancet*. 1990 Jul 7;336(8706):37-9.
- Σφάλγος Κ, Τριανταφύλλου Ν. Σκλήρυνση κατά Πλάκα. Αθήνα 2001.
- Taniguchi T, Matsui H, Fujita T, Takaoka C, Kashima N, Yoshimoto R, Hamuro J. Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature*. 1983 Mar 24-30;302(5906):305-10.
- Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasserer A, Duff GW. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet*. 1993 May;91(4):403-4.
- Telisch FF, Grobman LR, Sheremata WA, Apple M, Ayyar R. Hemifacial spasm. Occurrence in multiple sclerosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1991 May;117(5):554-6.
- The Canadian MS Research Group. A randomized controlled trial of amantadine in fatigue associated with multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci*. 1987 Aug;14(3):273-8.

- The IFNB Multiple Sclerosis Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology*. 1993 Apr;43(4):655-61.
- The IFNB Multiple Sclerosis Study Group and The University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. Interferon beta-1b in the treatment of multiple sclerosis: final outcome of the randomized controlled trial. *Neurology*. 1995 Jul;45(7):1277-85.
- Thiel VE, Audus KL. Nitric oxide and blood-brain barrier integrity. *Antioxid Redox Signal*. 2001 Apr;3(2):273-8.
- Thoenen H, Sendtner M. Neurotrophins: from enthusiastic expectations through sobering experiences to rational therapeutic approaches. *Nat Neurosci*. 2002 Nov;5 Suppl:1046-50.
- Thomas PK, Walker RW, Rudge P, Morgan-Hughes JA, King RH, Jacobs JM, Mills KR, Ormerod IE, Murray NM, McDonald WI. Chronic demyelinating peripheral neuropathy associated with multifocal central nervous system demyelination. *Brain*. 1987 Feb;110 (Pt 1):53-76.
- Thompson AJ, Hutchinson M, Brazil J, Feighery C, Martin EA. A clinical and laboratory study of benign multiple sclerosis. *Q J Med*. 1986 Jan;58(225):69-80.
- Thompson AJ, McDonald WI. Multiple sclerosis and its pathophysiology. In Asbury AK, Mckhann GM, McDonald WI (Eds) : *Diseases of the nervous system*. Saunders, Philadelphia, 1992; 1209-28.
- Thornton AM, Donovan EE, Piccirillo CA, Shevach EM. Cutting edge: IL-2 is critically required for the in vitro activation of CD4+CD25+ T cell suppressor function. *J Immunol*. 2004 Jun 1;172(11):6519-23.
- Thornton AM, Piccirillo CA, Shevach EM. Activation requirements for the induction of CD4+CD25+ T cell suppressor function. *Eur J Immunol*. 2004 Feb;34(2):366-76.
- Thornton AM, Shevach EM. CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *J Exp Med*. 1998 Jul 20;188(2):287-96.
- Tian YG, Pan YP, Lin L, Zhang DM, Zhao J. The relationship of IL-1beta expressed in buccal cells and the polymorphisms of IL-1beta (+3953) with chronic periodontitis. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2006 Oct;15(5):456-60.
- Tintoré M, Rovira A, Río J, Tur C, Pelayo R, Nos C, Téllez N, Perkal H, Comabella M, Sastre-Garriga J, Montalban X. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology*. 2008 Mar 25;70(13 Pt 2):1079-83.
- Tiwari JL, Terasaki PI (eds). 1985. *HLA and disease associations*. New York: Springer.
- Tocci MJ. Structure and function of interleukin-1 beta converting enzyme. *Vitam Horm*. 1997;53:27-63. Review.
- Tolusso B, Pietrapertosa D, Morelli A, De Santis M, Gremese E, Farina G, Carniello SG, Del Frate M, Ferraccioli G. IL-1B and IL-1RN gene polymorphisms in rheumatoid arthritis: relationship with protein plasma levels and response to therapy. *Pharmacogenomics*. 2006 Jul;7(5):683-95.
- Trajkov D, Mishevskva-Perchinkova S, Karadzova-Stojanoska A, Petlichkovski A, Strezova A, Spiroski M. Association of 22 cytokine gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in population of ethnic Macedonians. *Clin Rheumatol*. 2009 Nov;28(11):1291-300.
- Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 1998 Jan 29;338(5):278-85.
- Trapp BD, Ransohoff R, Rudick R. Axonal pathology in multiple sclerosis: relationship to neurologic disability. *Curr Opin Neurol*. 1999 Jun;12(3):295-302.
- Troiano R, Cook SD, Dowling PC. Steroid therapy in multiple sclerosis. Point of view. *Arch Neurol*. 1987 Aug;44(8):803-7. Review.
- Trotter JL, Pelfrey CM, Trotter AL, Selvidge JA, Gushleff KC, Mohanakumar T, McFarland HF. T cell recognition of myelin proteolipid protein and myelin proteolipid protein peptides in the peripheral blood of multiple sclerosis and control subjects. *J Neuroimmunol*. 1998 Apr 15;84(2):172-8.
- Τσακανίκας Κ. Επιδημιολογία και γενετική της ΣΚΠ. *Εγκέφαλος*. 1981;18:337-47.
- Unverferth DV, Bashore TM et al. Histologic and functional characteristics of human heart after mitoxandrone therapy. *Cancer Treat Symp*. 1984;3:47-53.
- Vairaktaris E, Serefoglou Z, Yapijakis C, Stathopoulos P, Vassiliou S, Derka S, Nkenke E, Vylliotis A, Ragos V, Neukam FW, Patsouris E. The interleukin-1 beta gene polymorphism +3953 C/T is not associated with risk for oral cancer. *Anticancer Res*. 2007 Nov-Dec;27(6B):3981-6.
- Valentiner W. Ueber die sclerose des Gehirns und Ruckenmarks. *Deutsche Klinik*. 1856;8:147-51.
- Valli A, Sette A, Kappos L, Oseroff C, Sidney J, Miescher G, Hochberger M, Albert ED, Adorini L. Binding of myelin basic protein peptides to human histocompatibility leukocyte antigen class II molecules and their recognition by T cells from multiple sclerosis patients. *J Clin Invest*. 1993 Feb;91(2):616-28.
- Van Assche G, Van Ranst M, Sciot R, Dubois B, Vermeire S, Noman M, Verbeeck J, Geboes K, Robberecht W, Rutgeerts P. Progressive multifocal leukoencephalopathy after natalizumab therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2005 Jul 28;353(4):362-8.
- Van der Aa A, Hellings N, Medaer R, Gelin G, Palmers Y, Raus J, Stinissen P. T cell vaccination in multiple sclerosis patients with autologous CSF-derived activated T cells: results from a pilot study. *Clin Exp Immunol*. 2003 Jan;131(1):155-68.

- van der Mei IA, Ponsonby AL, Dwyer T, Blizzard L, Simmons R, Taylor BV, Butzkueven H, Kilpatrick T. Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case-control study. *BMJ*. 2003 Aug 9;327(7410):316.
- van Diemen HA, Polman CH, van Dongen TM, van Loenen AC, Nauta JJ, Taphoorn MJ, van Walbeek HK, Koetsier JC. The effect of 4-aminopyridine on clinical signs in multiple sclerosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind, cross-over study. *Ann Neurol*. 1992 Aug;32(2):123-30.
- Varner MW, Esplin MS. Current understanding of genetic factors in preterm birth. *BJOG*. 2005 Mar;112 Suppl 1:28-31. Review.
- Vas CJ. Sexual impotence and some autonomic disturbances in men with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1969;45(2):166-82.
- Vassilopoulos D. Epidemiological Data for Multiple Sclerosis in Greece. *Neuroepidemiology*. 1984;3:52-6.
- Vermote R, Ketelaer P, Carton H. Pain in multiple sclerosis patients. A prospective study using the Mc Gill Pain Questionnaire. *Clin Neurol Neurosurg*. 1986;88(2):87-93.
- Villoslada P, Hauser SL, Bartke I, Unger J, Heald N, Rosenberg D, Cheung SW, Mobley WC, Fisher S, Genain CP. Human nerve growth factor protects common marmosets against autoimmune encephalomyelitis by switching the balance of T helper cell type 1 and 2 cytokines within the central nervous system. *J Exp Med*. 2000 May 15;191(10):1799-806.
- Virag R, Frydman D, Legman M, Virag H. Intracavernous injection of papaverine as a diagnostic and therapeutic method in erectile failure. *Angiology*. 1984 Feb;35(2):79-87.
- von Andrian UH, Engelhardt B. Alpha4 integrins as therapeutic targets in autoimmune disease. *N Engl J Med*. 2003 Jan 2;348(1):68-72.
- Wajgt A, Górný MK, Jenek R. The influence of high-dose prednisone medication on autoantibody specific activity and on circulating immune complex level in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand*. 1983 Dec;68(6):378-85.
- Waldmann TA. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nat Rev Immunol*. 2006 Aug;6(8):595-601. Review.
- Waldmann TA, Tagaya Y. The multifaceted regulation of interleukin-15 expression and the role of this cytokine in NK cell differentiation and host response to intracellular pathogens. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:19-49. Review.
- Wandinger K, Jabs W, Siekhaus A, Bubel S, Trillenber P, Wagner H, Wessel K, Kirchner H, Hennig H. Association between clinical disease activity and Epstein-Barr virus reactivation in MS. *Neurology*. 2000 Jul 25;55(2):178-84.
- Wang CY, Shen YC, Su CH, Lo FY, Lee SH, Tsai HY, Fan SS. Investigation of the association between interleukin-1beta polymorphism and normal tension glaucoma. *Mol Vis*. 2007 May 14;13:719-23.
- Wang J, Wicker LS, Santamaria P. IL-2 and its high-affinity receptor: genetic control of immunoregulation and autoimmunity. *Semin Immunol*. 2009 Dec;21(6):363-71.
- Ward SG, Westwick J. Chemokines: understanding their role in T-lymphocyte biology. *Biochem J*. 1998 Aug 1;333 (Pt 3):457-70.
- Warren KG, Catz I, Jeffrey VM, Carroll DJ. Effect of methylprednisolone on CSF IgG parameters, myelin basic protein and anti-myelin basic protein in multiple sclerosis exacerbations. *Can J Neurol Sci*. 1986 Feb;13(1):25-30.
- Warren KG, Catz I, Steinman L. Fine specificity of the antibody response to myelin basic protein in the central nervous system in multiple sclerosis: the minimal B-cell epitope and a model of its features. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Nov 21;92(24):11061-5.
- Watanabe T, Morimoto A, Sakata Y, Murakami N. ACTH response induced by interleukin-1 is mediated by CRF secretion stimulated by hypothalamic PGE. *Experientia*. 1990 May 15;46(5):481-4.
- Waxman SG, Black JA, Ransom BR, Stys PK. Anoxic injury of rat optic nerve: ultrastructural evidence for coupling between Na⁺ influx and Ca²⁺-mediated injury in myelinated CNS axons. *Brain Res*. 1994 May 2;644(2):197-204.
- Webb AC, Collins KL, Auron PE, Eddy RL, Nakai H, Byers MG, Haley LL, Henry WM, Shows TB. Interleukin-1 gene (IL1) assigned to long arm of human chromosome 2. *Lymphokine Res*. 1986 Spring;5(2):77-85.
- Webb RJ, Lawson AL, Neal DE. Clean intermittent self-catheterisation in 172 adults. *Br J Urol*. 1990 Jan;65(1):20-3.
- Weber F, Fontaine B, Cournu-Rebeix I, Kroner A, Knop M, Lutz S, Müller-Sarnowski F, Uhr M, Bettecken T, Kohli M, Ripke S, Ising M, Rieckmann P, Brassat D, Semana G, Babron MC, Mrejen S, Gout C, Lyon-Caen O, Yaouanq J, Edan G, Clanet M, Holsboer F, Clerget-Darpoux F, Müller-Myhsok B. IL2RA and IL7RA genes confer susceptibility for multiple sclerosis in two independent European populations. *Genes Immun*. 2008 Apr;9(3):259-63.
- Weetman AP. The genetics of autoimmune thyroid disease. *Horm Metab Res*. 2009 Jun;41(6):421-5. Review.
- Wei YS, Lan Y, Zhang L, Wang JC. Association of the interleukin-2 polymorphisms with interleukin-2 serum levels and risk of nasopharyngeal carcinoma. *DNA Cell Biol*. 2010 Jul;29(7):363-8.
- Weiner HL, Cohen JA. Treatment of multiple sclerosis with cyclophosphamide: critical review of clinical and immunologic effects. *Mult Scler*. 2002 Apr;8(2):142-54.

- Weiner HL, Hohol MJ, Khoury SJ, Dawson DM, Hafler DA. Therapy for multiple sclerosis. *Neurol Clin.* 1995 Feb;13(1):173-96.
- Weinshenker BG. Natural history of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1994;36 Suppl:S6-11.
- Weinshenker BG. The natural history of multiple sclerosis. *Neurol Clin.* 1995 Feb;13(1):119-46.
- Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain.* 1989 Feb;112 (Pt 1):133-46.
- Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 2. Predictive value of the early clinical course. *Brain.* 1989 Dec;112 (Pt 6):1419-28.
- Weinshenker BG, Penman M, Bass B, Ebers GC, Rice GP. A double-blind, randomized, crossover trial of pemoline in fatigue associated with multiple sclerosis. *Neurology.* 1992 Aug;42(8):1468-71.
- Wekerle H. T-cell autoimmunity in the central nervous system. *Intervirology.* 1993;35(1-4):95-100.
- Wiles CM, Brown P, Chapel H, Guerrini R, Hughes RA, Martin TD, McCrone P, Newsom-Davis J, Palace J, Rees JH, Rose MR, Scolding N, Webster AD. Intravenous immunoglobulin in neurological disease: a specialist review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002 Apr;72(4):440-8.
- Willerford DM, Chen J, Ferry JA, Davidson L, Ma A, Alt FW. Interleukin-2 receptor alpha chain regulates the size and content of the peripheral lymphoid compartment. *Immunity.* 1995 Oct;3(4):521-30.
- Wilson LA, McKechnie AA. Oral diazepam in the treatment of spasticity in paraplegia a double-blind trial and subsequent impressions. *Scott Med J.* 1966 Feb;11(2):46-51.
- Wolf RE, Baethge BA. Interleukin-1 alpha, interleukin-2, and soluble interleukin-2 receptors in polymyositis. *Arthritis Rheum.* 1990 Jul;33(7):1007-14.
- Wolf RE, Brelsford WG. Soluble interleukin-2 receptors in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1988 Jun;31(6):729-35.
- Woodroffe MN, Cuzner ML. Cytokine mRNA expression in inflammatory multiple sclerosis lesions: detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine.* 1993 Nov;5(6):583-8.
- Wucherpfennig KW, Catz I, Hausmann S, Strominger JL, Steinman L, Warren KG. Recognition of the immunodominant myelin basic protein peptide by autoantibodies and HLA-DR2-restricted T cell clones from multiple sclerosis patients. Identity of key contact residues in the B-cell and T-cell epitopes. *J Clin Invest.* 1997 Sep 1;100(5):1114-22.
- Wucherpfennig KW, Newcombe J, Li H, Keddy C, Cuzner ML, Hafler DA. Gamma delta T-cell receptor repertoire in acute multiple sclerosis lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 May 15;89(10):4588-92.
- Wucherpfennig KW, Strominger JL. Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell.* 1995 Mar 10;80(5):695-705.
- Yang-Snyder JA, Rothenberg EV. Spontaneous expression of interleukin-2 in vivo in specific tissues of young mice. *Dev Immunol.* 1998;5(4):223-45.
- Yaouanq J, Semana G, Eichenbaum S, Quelvennec E, Roth MP, Clanet M, Edan G, Clerget-Darpoux F. Evidence for linkage disequilibrium between HLA-DRB1 gene and multiple sclerosis. The French Research Group on Genetic Susceptibility to MS. *Science.* 1997 May 2;276(5313):664-5. Comment on *Science.* 1996 Sep 13;273(5281):1516-7.
- Yong VW. Differential mechanisms of action of interferon-beta and glatiramer acetate in MS. *Neurology.* 2002 Sep 24;59(6):802-8.
- Young AC, Saunders J, Ponsford JR. Mental change as an early feature of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1976 Oct;39(10):1008-13.
- Yousry TA, Major EO, Ryschkewitsch C, Fahle G, Fischer S, Hou J, Curfman B, Miszkiewicz K, Mueller-Lenke N, Sanchez E, Barkhof F, Radue EW, Jäger HR, Clifford DB. Evaluation of patients treated with natalizumab for progressive multifocal leukoencephalopathy. *N Engl J Med.* 2006 Mar 2;354(9):924-33.
- Yu YL, Woo E, Hawkins BR, Ho HC, Huang CY. Multiple sclerosis amongst Chinese in Hong Kong. *Brain.* 1989 Dec;112 (Pt 6):1445-67.
- Yucesoy B, Peila R, White LR, Wu KM, Johnson VJ, Kashon ML, Luster MI, Launer LJ. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with dementia in a community-based sample: the Honolulu-Asia Aging Study. *Neurobiol Aging.* 2006 Feb;27(2):211-7.
- Zamvil SS, Steinman L. Diverse targets for intervention during inflammatory and neurodegenerative phases of multiple sclerosis. *Neuron.* 2003 Jun 5;38(5):685-8.
- Zhang J, Hutton G. Role of magnetic resonance imaging and immunotherapy in treating multiple sclerosis. *Annu Rev Med.* 2005;56:273-302.
- Zhang J, Medaer R, Stinissen P, Hafler D, Raus J. MHC-restricted depletion of human myelin basic protein-reactive T cells by T cell vaccination. *Science.* 1993 Sep 10;261(5127):1451-4.
- Zhao GJ, Koopmans RA, Li DK, Bedell L, Paty DW. Effect of interferon beta-1b in MS: assessment of annual accumulation of PD/T2 activity on MRI. UBC MS/MRI Analysis Group and the MS Study Group. *Neurology.* 2000 Jan 11;54(1):200-6.
- Zintzaras E, Lau J. Trends in meta-analysis of genetic association studies. *J Hum Genet.* 2008;53(1):1-9.

- Zintzaras E, Lau J. Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches. *J Clin Epidemiol.* 2008 Jul;61(7):634-45.
- Zoja C, Wang JM, Bettoni S, Sironi M, Renzi D, Chiaffarino F, Abboud HE, Van Damme J, Mantovani A, Remuzzi G, et al. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha induce gene expression and production of leukocyte chemotactic factors, colony-stimulating factors, and interleukin-6 in human mesangial cells. *Am J Pathol.* 1991 Apr;138(4):991-1003.