

# Genetika multiple skleroze

---

**Starčević Čizmarević, Nada**

*Source / Izvornik:* **2. Internacionalna škola iz psihijatrije i kognitivne neuroznanosti : Psihijatrijsko-psihološki aspekti multiple skleroze, 2011, 30 - 36**

**Conference paper / Rad u zborniku**

*Publication status / Verzija rada:* **Published version / Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:729892>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-21**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



# Genetika multiple skleroze

## *The genetics of multiple sclerosis*

dr. sc. Nada Starčević Čizmarević  
Zavod za biologiju i medicinsku genetiku,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Hrvatska

### Abstract

*Multiple sclerosis (MS) is a chronic neuro-inflammatory autoimmune disease believed to arise from complex interactions of both environmental and genetic factors. Typical features for complex genetic diseases include modest heritability without a classic Mendelian mode of transmission and heterogeneity, which mean that variation in a large number of genes contributes to the overall susceptibility. Both human leukocyte antigen (HLA) and a broad spectrum of non-HLA genes have been implicated in the pathogenesis and signalling abnormalities of MS. Identifying susceptibility genes for MS, has been a major challenge in the past two decades. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) within the susceptible genes are appropriate variants able to shed light into the genetic predisposition for MS. Gene/gene interactions, as well as epigenetic mechanisms, are also believed to play an important role for the pathogenesis of complex diseases. Furthermore, distinct forms of MS exist with different underlying genetic causes. Remains an open question which loci are involved in the initial pathogenic events or influence the development and progression of the disease. Even though we are still far from knowing the full set of genes influencing the pathogenesis of MS, considerable success has been made through linkage studies, candidate gene association studies and recently through the successful development of genome-wide association studies (GWAS).*

### Uvod

Multipla skleroza (MS) je složena bolest multifaktorijalne etiologije, za čiji su razvoj potrebni genetički i okolišni čimbenici. Ideja da genetički čimbenici imaju ulogu u multiploj sklerozi javila se 1890-ih godina otkrićem obiteljskih slučajeva. Prva pak genetička povezanost zabilježena je 1972. godine za HLA (*engl. human lymphocyte antigen*) klasu antigena. Međutim, od tada je prošlo gotovo 40 godina, a još uvijek nije razjašnjena etiologija bolesti niti je precizirana relativna uloga gena i okoliša. Ipak, sistemska genetičko-epidemiološka i molekularno-genetička istraživanja osiguravaju važan uvid u razumijevanje bolesti.

Ulogu genetičkih čimbenika u etiologiji MS podupiru spoznaje o povećanom relativnom riziku braće i sestara oboljelih u usporedbi s općom populacijom, kao i povećana konkordantna stopa u monozigotnih u usporedbi s dizigotnim blizancima. Obiteljske studije pokazuju porast rizika među srodnicima sve do monozigotnih blizanaca gdje on iznosi preko 30%. Povrh toga epidemiološki podaci upućuju na češći prijenos bolesti od strane majke (*engl. Maternal parent of-origin effect*), što bi bilo moguće objasniti epigenetičkim čimbenicima koje u MS tek valja istražiti.

Klasične genetičke studije sugeriraju da je MS poligenska bolest, tj. genetički faktori koji doprinose podložnosti za bolest složeni su i uključuju velik broj gena s blagim predisponirajućim utjecajem svakog pojedinačnog lokusa. Osim većeg broja gena tu kompleksnost povećavaju njihove ineterakcije, kako međusobne tako i one s čimbenicima okoliša. zatim dob, spol, opće

stanje, a moguće je da posebno značenje imaju eipgenetički čimbenici poput metiliranja CG dinukleotida i modifikacija histona koje reguliraju funkciju genoma.

### Tipovi molekularno-genetičkih istraživanja

Nastojanja da se utvrde geni združeni s patogeneom MS otkriveni su kroz nekoliko tipova molekularno-genetičkih studija i zasnivaju se uglavnom na funkcionalnim istraživanjima gena kandidata, genomskom probiru vezanosti (*engl. linkage genome screen*) te s njime povezanim studijama mapiranja gena kandidata, a u novije vrijeme provode se i genomski skenovi uz pomoć mikročipova.

Genomski probir vezanosti podrazumijeva analizu tisuća mikrosatelitnih markera raspršenih u genomu pripadnika velikih obitelji s MS, s ciljem utvrđivanja markera koji se zajednički nasljeđuju. "Linkage" studije prate vezanost između genetičkog markera i bolesnog fenotipa što ukazuje na prisutnost lokusa za bolest u regiji markera. Potom valja identificirati točne gene u određenoj regiji koji utječu na predispoziciju za MS.

Ove studije ukazale su na nekoliko regija koje bi mogle uvjetovati podložnost za MS i potvrdile da su u pitanju multipli geni od kojih svaki ima relativno mali individualni utjecaj u determinaciji nasljedne podložnosti, ali dosad jedina potvrđena regija koja doprinosi genetskoj predispoziciji u različitim populacijama jest HLA regija na p kraku 6 kromosoma. U toj je regiji pokazana združenost s DRB1 genom (DRB1\*1501 alel u kavkaskoj populaciji),

nosložena arhitektura HLA regije s visokim stupnjem neravnoteže vezanosti (*engl. linkage disequilibrium* – LD) i velikim haplotipnim blokovima otežava otkrivanje uzročnih genskih varijanti. Prednost *linkage* studija jest što regije podložnosti mogu biti detektirane prije saznanja o funkciji određenih gena. S druge pak strane ove dugotrajne i skupe studije nemaju snagu otkriti lokuse s blagim utjecajem na MS predispoziciju.

Drugačiji pristup istraživanju daju asocijacijske studije koje traže vezu između rizičnog faktora i bolesti, pri čemu genetička asocijacija postoji ako su određeni aleli/genotipovi/haplotipovi učestaliji u bolesnika negoli zdravih osoba. Pozitivna asocijacija može biti posljedica stvarne uključenosti gena u patogenezu bolesti, ali je moguće i da se ispitivani alel nalazi u LD s nekim drugim genom koji uzrokuje bolest. Ove studije podrazumijevaju istraživanje gena čija biološka funkcija sugerira ulogu u patofiziologiji MS, a dizajnirana su u vidu *case-control* studija. Molekularno-genetičke analize gena kandidata mogu detektirati različite polimorfizme koji za posljedicu imaju izostanak produkcije funkcionalnog proteina ili mijenjaju ekspresiju gena. Često ispitivane varijante jesu SNPs, odnosno promjene svega jednog nukleotida, potom delecije, ponavljajući sljedovi i dr. Ove studije detektiraju uglavnom česte allele s umjerenim učinkom u podložnosti za bolest.

Asocijska istraživanja obuhvatila su brojne potencijalne gene podložnosti za MS, no izuzmemo li HLA lokus, rezultati istraživanja često se razlikuju. Moguć uzrok tome je snaga studija, na što utječe niz

faktora poput veličine uzorka, omjera rizika, varijacije te genetička heterogenost bolesnika, kontrole itd. Polazeći od činjenice da je MS autoimuna bolest, uglavnom se istraživalo gene značajne u imunološkom odgovoru kao što su navedeni HLA geni, T-stanični receptorni geni i dr.

Budući da pojedinačni geni daju mali doprinos genetskom riziku za MS, gene valja istraživati u kontekstu njihovih interakcija. Pristupa se izradi tzv. *multi-gene* SNP asocijacijskih studija, primjerice u europskoj populaciji 2004. godine provedena je studija koja analizira velik broj SNPs u 34 gena uključena u upalni proces.

Danas, u doba razvoja mikročip tehnologija teži se simultanom istraživanju sve većeg broja polimorfizama gena, što se provodi asocijacijskim skenovima čitavog genoma (GWAS). Ovaj opsežan probir obuhvaća genotipizaciju na stotina tisuća SNPs, a mjesta razlike u SNPs usporedbom između bolesnika i zdravih ispitanika mogu poslužiti za otkrivanje novih gena podložnosti. Analizom je moguće detektirati česte alelske varijante, no kod poligenskih bolesti u igri je interakcija i čestih i rijetkih varijanti različite penetrabilnosti.

Do danas je u MS provedeno 7 ovakvih studija, koje su detektirale 20-ak gena podložnosti za MS izvan HLA regije, a nedavno su provedene i dvije studije vezane uz odgovor na terapiju  $\beta$ -interferonom. Studije obuhvaćaju zahtjevnu analizu i statističku interpretaciju velike količine podataka, a *p* vrijednost rezultata može biti ekvivokalna. Potvrdu rezultata opet valja tražiti najčešće u asocijacijskim studijama gena kandidata. Primjerice, jedan od gena

koji je u GWAS studijama pokazao korelaciju s MS jest i gen za interleukin 7 receptor (IL7R) koji je repliciran u nekim studijama, međutim nije pokazao očekivanu asocijaciju u našoj populaciji. The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium pretpostavlja da se pomoću podataka dostupnih iz ovih skenova može objasniti svega 3% ukupne varijance u riziku za MS. Stoga iako djeluju obećavajuće i donijele su pozitivne pomake u genetici MS, ove studije imaju i svoje nedostatke. Uglavnom se ne otkrivaju rjeđi polimorfizmi s eventualnim učinkom, varijante s manjim učinkom te razne strukturne varijante gena poput insercija, delecija, inverzija, a možda upravo te varijante mogu objasniti dio heretabilnosti koji nedostaje. Nadalje, ove analize SNPs za sada ne uzimaju u obzir gen/gen niti gen/okoliš interakcije. Nedostatak studija jesu i heterogene skupine bolesnika s nedovoljno preciziranim fenotipom i odgovarajuće uparenom kontrolnom skupinom.

#### Molekularno-genetička istraživanja u hrvatskoj populaciji

Različiti rezultati brojnih studija ukazuju na genetičku i etiološku heterogenost bolesti i mišljenje je da će dobro klinički definirana bolest u malim homogenim populacijama doprinijeti rasvjetljavanju genskih čimbenika uključenih u patogenezu MS. Do sada su u Europi opisana 4 područja sa značajno višom prevalencijom MS, a jedno od njih je područje Gorskog kotara i Kočevja, s prevalencijom od 151.9/100000. Na tom području, ali i u MS bolesnika iz cijele hrvatske i slovenske po-

pulacije proveli smo niz molekularno-genetičkih istraživanja asocijacijskih studija gena kandidata.

S obzirom na tijek bolesti postoji nekoliko tipova MS koji uistinu mogu imati različite genetičke uzroke. Možemo se pitati i koji su lokusi uključeni u inicijalne patogene procese, a koji doprinose različitoj progresiji bolesti te ispitati hipotezu prema kojoj polimorfizmi gena uključenih u pojedini metabolički put, kao i njihova interakcija, utječu na predispoziciju za razvoj MS i/ili na kliničku ekspresiju i karakteristike bolesti kao što su dob nastupa, trajanje bolesti, težina kliničke slike te progresija MS.

Zbog autoimune prirode ove bolesti uključili smo se u istraživanje polimorfizama CTLA4, CCR5, IL7R, TNF- $\alpha$  gena kao mogućih rizičnih ili protektivnih čimbenika za MS. Prva tri gena nisu pokazala združnost s bolešću, međutim, naši rezultati ukazuju na moguću ulogu TNF- $\alpha$  u predispoziciji za MS. TNF- $\alpha$  zanimljiv je kao gen kandidat s obzirom da je mapiran u području 6p21.3 unutar HLA regije klase III, što se poklapa s jednim od lokusa podložnosti za MS. Relativna frekvencija rizičnih i protektivnih HLA haplotipova razlikuje se među populacijama i dijelom determinira distribuciju bolesti. U promotorskoj regiji TNF- $\alpha$  gena utvrđeno je nekoliko polimorfizma koji se povezuju s povećanom ili smanjenom transkripcijom i, posljedično, promijenjenom razinom TNF- $\alpha$  u krvi u odnosu na divlji tip. Produkt gena jest citokin s različitim funkcijama kojeg proizvode mnoge stanice uključujući stanice CNSa, a proinflammatorni citokini, uključuje-

ni su u neurodegenerativne poremećaje. Je li u patogenezi MS primarna upala ili su primarni procesi na razini oligodendrocita i aksona, još nije dokazano.

U svakom slučaju, osim autoimune komponente bolesti u MS javlja se i proces neurodegeneracije. Današnje spoznaje vezuju degenerativni proces uz sam početak bolesti, a stupanj neurodegeneracije s vremenom progradira. Posljednjih godina otvara se novo područje u istraživanju neurodegenerativnih poremećaja i sve veći broj činjenica ukazuje na moguć utjecaj željeza u tim bolestima, pa tako i u MS. Željezo je zastupljeno u mozgu i važno je za normalno funkcioniranje neurona, esencijalno je za formiranje mijelina te je s druge strane na složen način uključeno u upalne procese. Prekomjerno nakupljanje željeza povećava oksidativni stres, produkciju slobodnih radikala, lipidnu peroksidaciju i neurotoksičnost u sivoj tvari, što bi moglo dovesti do oboljevanja od neurodegenerativnih bolesti.

Danas je poznato da MS nije samo bolest bijele tvari već se oštećenja nalaze i u sivoj tvari mozga, a slike magnetske rezonance pokazuju T2-hipointenzitet kao posljedicu taloženja željeza dublje u sivoj tvari mozga, a te zone koreliraju s tjelesnim invaliditetom i tijekom bolesti. Još nije utvrđeno pridonosi li abnormalno taloženje željeza u mozgu patofiziologiji MS ili je pak epifenomen neurodegeneracije.

U metabolizam željeza uključeno je stotine gena, pa tako i HFE gen čija se lokalizacija poklapa s jednim od lokusa podložnosti za MS (6p21.3). Mutacije ovog gena vode do poremećaja homeostaze željeza a

uzrokuju i promjene u inflamatornom odgovoru. Od brojnih alelskih varijanti HFE gena s taloženjem željeza najčešće je povezana C282Y mutacija, promjena jednog nukleotida u kodirajućem dijelu HFE gena, i posljedična zamjena cisteina s tirozinom na mjestu 282 HFE proteina. HFE protein prema gradi odgovara molekulama HLA klase I i kompetitivno se veže na transferrinski receptor (TFR). Na transferin vezano željezo dominantan je mehanizam za dostavu željeza u stanice mozga. U prisutnosti divljeg tipa HFE proteina on se dominantno veže na TFR i smanjeno je vezanje transferina. U slučaju C282Y mutacije HFE protein se ne može ispoljiti na membrani i na TFR može se vezati više TF, te je unos željeza u stanice veći. Ovo je primjer interakcije produkata dvaju gena, te smo i TF gen uključili u istraživanje. I ovaj je gen mapiran u području jednog od lokusa podložnosti za MS (3q21). Mutacija jednog nukleotida mijenja afinitet transferina za vezanje željeza. Kombinacija polimorfizama za HFE i TF gen može rezultirati viškom slobodnog željeza i stvaranjem slobodnih radikala u neuronima.

Još jedan zanimljiv mehanizam koji istražujemo odnosi se na fibrinolizu. Naime, pokazano je da upala, fokalna demijelinizacija i degeneracija aksona u MS nastaju nakon narušavanja krvno-moždane barijere pri čemu dolazi do ulaska serumskih proteina, uključujući fibrinogen, u CNS. Kod MS bolesnika nađeni su na demijeliniziranim aksonima depoziti fibrinogena, koji se neučinkovito uklanjaju zbog reducirane fibrinolize. S obzirom da je u MS utvrđen poremećaj fibrinolize, a onaje re-

gulirana ravnotežom između fibrinolitičkog enzima tkivnog-plazminogen aktivatora (t-PA) i njegova inhibitora PAI-1, koji su djelomično regulirani renin-angiotenzinskim sustavom i angiotenzin-konvertirajućim enzimom (ACE), geni za navedene enzime mogu predstavljati logičan izbor gena kandidata.

Područje našeg interesa širi se na farmakogenetička istraživanja budući da ona mogu otvoriti moguće pristupe racionalnom tretmanu bolesti. Dosadašnji tretman bolesnika uglavnom se temelji na terapiji s  $\beta$ -interferonom. Pokazalo se, međutim, da bolesnici različito reagiraju na ovu terapiju, što može ovisiti o pojedinom genotipu. Pažnju su prvo privukli HLA geni, zatim gen za interferonski receptor, a rezultati dvaju skenova genoma ukazuju na ulogu gena povezanih s ionskim kanalima i signalnim putevima. Farmakogenomski pristup nastoji identificirati genske varijante koje utječu na odgovor za određeni lijek kako bi predvidjeli koji će bolesnici imati korist od terapije. Skupine koje se uspoređuju jesu bolesnici koji odgovaraju, odnosno ne odgovaraju, na određenu terapiju. Iako istraživani SNPs ne mogu objasniti velik dio heritabilnosti u MS, mogu imati ulogu u pronalaženju učinkovitog tretmana te valja potvrditi genske polimorfizme koji bi služili kao terapijski biomarkeri.

### Zaključak

Za uspješnu terapiju valja rasvijetliti samu patogenezu bolesti, čemu molekularno-genetička istraživanja svakako mogu doprinijeti. Epistaza ili gen-gen interakcije, gen protein interakcije, epigenetička regu-

lacija i međudjelovanje gena i okoliša važna su svojstva koja utječu na funkciju gena u MS. Jedan od izazova u razumijevanju složenih bolesti leži u otkrivanju interakcija između čimbenika podložnosti kao što su genski polimorfizmi i izloženost okolišu. Osim toga veličina i porijeklo populacije kao i regija u kojoj je smještena populacija važne su varijable koje treba uzeti u obzir u genetičkoj procjeni rizika za MS, budući da se geni podložnosti mogu razlikovati među populacijama. Istraživanja se provode kako bi se riješio problem etiologije bolesti, te pridonijelo prevenciji, dijagnozi i tretmanu MS.

### Literatura

1. Hoffjan S, Akkad DA. The genetics of multiple sclerosis: an update 2010. *Mol Cell Probes*. 2010; 24:237-43.
2. Oksenberg JR, Baranzini SE. Multiple sclerosis genetics--is the glass half full, or half empty? *Nat Rev Neurol*. 2010; 6:429-37.
3. McCarthy ML, Hirschhorn JN. Genome-wide association studies: potential next steps on a genetic journey. *Hum Mol Genet*. 2008;17(R2): R156-65.
4. Bahreini SA, Jabalameli MR, Saadatnia M, Zahednasab H. The role of non-HLA single nucleotide polymorphisms in multiple sclerosis susceptibility. *J Neuroimmunol*. 2010;229:5-15.
5. Ramagopalan SV, Dobson R, Meier UC, Giovannoni G. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *Lancet Neurol*. 2010;9:727-39.
6. Ramagopalan SV, Knight JC, Ebers GC. Multiple sclerosis and the major histocompatibility complex. *Curr Opin Neurol*. 2009;22:219-25.
7. Tyler AI, Asselbergs FW, Williams SM, Moore JH. Shadows of complexity: what biological networks reveal about epistasis and pleiotropy. *Bioessays*. 2009;31: 220-7.
8. Ristić S, Lovrečić L, Brajenović-Milić B, Starčević-Čizmarević N, Šega S, Sepčić J, Kapović