

ÍNDICE

Lista de Siglas.....	Pág.3
1. Resumo.....	Pág.4
2. Abstract.....	Pág.6
3. Introdução.....	Pág.8
3.1. Resenha Histórica.....	Pág.8
3.2. Epidemiologia.....	Pág.9
3.3. Patogenia.....	Pág.11
3.4. Etiologia.....	Pág.12
3.5. Manifestações Clínicas.....	Pág.13
3.6. Evolução da Esclerose Múltipla – Tipos Clínicos.....	Pág.14
Objectivos.....	Pág.17
4. Materiais e Métodos.....	Pág.18
5. Estudos Genéticos na Esclerose Múltipla.....	Pág.20
5.1. Genes e Ambiente: Epidemiologia Genética.....	Pág.22
5.1.1. Estudos da agregação familiar da EM em indivíduos adoptados.....	Pág.24
5.1.2. Estudos da agregação familiar da EM em meios-irmãos.....	Pág.24
5.1.3. Estudos da agregação familiar da EM em gémeos.....	Pág.25
5.1.4. Estudos da agregação familiar em EM Conjugal.....	Pág.26
5.1.5. Estudos da agregação familiar da EM em cônjuges consanguíneos.....	Pág.27
5.1.6. A influência do género na EM e na sua transmissão.....	Pág.27
5.2. Genética Molecular na EM.....	Pág.29
5.2.1. Antígeno 4 associado ao Linfócito T citotóxico humano (CTLA-4).....	Pág.30
5.2.2. Interleucina-1 (IL-1α e IL-1β) e antagonista do receptor da Interleucina-1 (IL-1ra).....	Pág.31
5.2.3. Interleucina-4 (IL-4).....	Pág.34

5.2.4.	Interleucina-6 (IL-6).....	Pág.35
5.2.5.	Receptor da Interleucina-7 (IL7R).....	Pág.36
5.2.6.	Interleucina-10 (IL-10).....	Pág.37
5.2.7.	Factor de Necrose Tumoral (TNF).....	Pág.38
5.2.8.	Apolipoproteína E (APOE).....	Pág.39
5.2.9.	Factor transformador de crescimento beta 1 (TGF-β1).....	Pág.41
5.2.10.	Osteopontina (OPN).....	Pág.42
5.2.11.	Receptor 5 da quimiocina CC (CCR5).....	Pág.43
5.2.12.	Receptor dos estrogénios 1 (ESR1).....	Pág.44
5.2.13.	Complexo Major de Histocompatibilidade (MHC) e heterogeneidade.....	Pág.45
5.3.	Estudos de associação tipo “genome wide association scans” (GWAs).....	Pág.49
5.4.	Farmacogenómica.....	Pág.51
6.	Conclusão e Perspectivas Futuras.....	Pág.53
7.	Bibliografia.....	Pág.55

LISTA DE SIGLAS

EM – Esclerose Múltipla

SNC – Sistema Nervoso Central

MHC – Complexo Major de Histocompatibilidade

LCR – Líquido cefalorraquídeo

EMRR – Esclerose Múltipla Recidivante/Remitente

EMPS – Esclerose Múltipla Progressiva Secundária

EMPP – Esclerose Múltipla Progressiva Primária

EMPR – Esclerose Múltipla Progressiva/Recidivante

HLA – *Human Leukocyte Antigens*

EAE – Encefalomielite Autoimune Experimental

SNPs – polimorfismos de nucleótido único

CTLA-4 – Antígeno 4 associado ao Linfócito T citotóxico humano

IL – Interleucina

IL-1ra – antagonista do receptor da Interleucina-1

TNF – Factor de Necrose Tumoral

RNA_m – Ácido Ribonucleico mensageiro

INF – Interferão

APOE – Apolipoproteína E

SNP – Sistema Nervoso Periférico

TGF – Factor Transformador de Crescimento

OPN – Osteopontina

ESR – Receptor dos Estrogénios

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

GWAs – Genome Wide Association scans

1. RESUMO

A Esclerose Múltipla é uma doença inflamatória e degenerativa do Sistema Nervoso Central, cujo curso clínico varia consideravelmente entre os indivíduos afectados. Trata-se da doença desmielinizante mais comum do Sistema Nervoso Central em adultos jovens, predominando no sexo feminino. A sua prevalência em Portugal é de aproximadamente 50 por cada 100.000 indivíduos, já na Europa do Norte é de cerca 190 por cada 100.000 habitantes, afectando perto de 2.500.000 pessoas por todo o mundo.

A Esclerose Múltipla é uma doença de tendência familiar, sendo o risco da doença significativamente maior nos indivíduos com familiares próximos afectados. Os indivíduos com Esclerose Múltipla têm uma probabilidade de 10 a 20% de terem um parente afectado, um valor significativo, maior do que seria de esperar numa doença que não tivesse qualquer componente genético. Além disso, esta patologia manifesta-se predominantemente na raça Caucasóide, sendo extremamente rara nos Negros e nos Orientais.

A componente genética é susceptível de desempenhar um papel na determinação de quem está em risco de desenvolver Esclerose Múltipla, na sua progressão e na resposta à terapêutica. Ao contrário de outras doenças neurológicas, não foi, até à data, descrito qualquer modelo Mendeliano de transmissão da doença, o que dificulta o esclarecimento acerca da sua etiologia; não há famílias nas quais uma mutação num único locus ou região de um cromossoma seja responsável pelas manifestações clínicas da Esclerose Múltipla, sendo mais provável o envolvimento de muitos genes diferentes, cada um com um efeito de leve a moderado. O processo através do qual a predisposição genética se expressa clinicamente é desconhecido, mas envolverá, provavelmente, eventos no desenvolvimento e função do sistema imunitário e a história individual de exposição a certos factores ambientais (vírus, radiação solar, etc).

A identificação de genes de susceptibilidade para esta complexa doença tem sido um contínuo desafio. Apesar da grande quantidade de estudos de associação realizados ao longo da última década e da panóplia de genes candidatos, a associação mais consistente/conhecida é com os haplotipos do Complexo Major de Histocompatibilidade (MHC) de classe II, particularmente aqueles que contêm o HLA-DR15, alelo DRB1*1501, e o HLA-DQ6.

Os recentes avanços tecnológicos, combinados com um melhor entendimento do genoma humano, abrirão novas oportunidades, prometendo desvendar a base genética da Esclerose Múltipla. A compreensão alargada do papel dos genes na Esclerose Múltipla poderá trazer inúmeros benefícios na forma como esta doença é diagnosticada e tratada.

Palavras-chave: Esclerose Múltipla, Gene, MHC, Multifactorial, Poligénica, Hereditariedade

2. ABSTRACT

Multiple Sclerosis is an inflammatory and degenerative disease of the Central Nervous System, whose clinical course varies considerably among affected individuals. It is the most common demyelinating disease of the Central Nervous System in young adults, predominantly female. Prevalence estimates are approximately 50 per 100.000 population in Portugal, 190 per 100.000 in Northern Europe, with a total burden of 2.500.000 people globally.

Multiple Sclerosis is a disease with familial aggregation, in which there is a significantly increased risk for individuals with affected relatives. Ten to twenty percent of patients with Multiple Sclerosis have affected relatives, a value higher than would be expected if there were no genetic influence. Besides, this disease affects more Whites than Blacks or Orientals.

Genes are likely to have a role in the determination of who is at higher risk of developing the disease, its clinical course and therapeutic response. Contrarily to many other neurological diseases, a Mendelian inheritance pattern has not yet been established to MS, what hampers the enlightenment of its etiology; there are no families in which a mutation in a single locus or region of a chromosome is responsible for the symptomatology, making it more likely the implication of a diversity of different genes, each one with a light-to-moderate contribution. The mechanism by which the genetic predisposition is phenotypically expressed is unknown, but probably involves events in the development and function of the immunity system and the individual background of environmental exposures (virus, solar radiation, etc).

Identification of susceptibility genes for this complex disease has revealed a permanent challenge. Albeit the enormous quantity of association studies performed in the last decade and the large amount of candidate genes, the only established association is with

the Major Histocompatibility Complex class II haplotypes, namely those containing HLA-DR15, alleles DRB1*1501 and HLA-DQ6.

The recent technological advances, combined with a better understanding of the human genome, will create new opportunities, promising to disclose the genetic basis of Multiple Sclerosis. Full comprehension of the role genes play in this disease could bring countless benefits to its diagnosis and treatment.

Keywords: multiple sclerosis, Gene, MHC, multifactorial, polygenic, heredity.

3. INTRODUÇÃO

A palavra “esclerose” deriva do grego “*sklérosis*” sendo aplicada em patologia humana com o sentido de endurecimento, sobretudo o que ocorre numa formação anatómica que sofreu processo inflamatório.

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença inflamatória crónica do Sistema Nervoso Central (SNC), caracterizada sob ponto de vista neuropatológico pela presença de desmielinização, remielinização, perda axonal e gliose. O exacto mecanismo imunopatogénico subjacente ao início e progressão da doença é desconhecido, mas é atribuído a uma alteração do sistema imune, que de uma forma semelhante a uma doença auto-imune agride componentes da mielina, dos oligodendrócitos ou dos próprios axónios. Para além do componente inflamatório, existe um componente degenerativo que predomina nas fases mais avançadas da doença.

3.1. Resenha Histórica

Situar as raízes históricas da EM não tem sido fácil, dada a falta de conhecimentos, quer clínicos, quer anatómicos, em Neurologia antes do século XIX. Medaer (1979) menciona que, já no século XIV, uma freira alemã, Lidwina van Schiedam, cuja doença começou aos 16 anos, seria o caso mais antigo descrito de EM.

No século XIX, Jean Cruveillier fez uma descrição clínico-patológica da EM. Contudo, coube a Charcot, em 1868, a primeira correlação de achados clínicos com a topografia das lesões desmielinizantes. As primeiras propostas em relação à etiopatogenia datam do século XIX. Em 1884, Pierre Marie sugeriu a presença de um agente infeccioso no início dos sintomas. Eichhorst, em 1896, designou a EM de “doença hereditária e transmissível”.

3.2 Epidemiologia

O impacto global da EM associa-se a características verdadeiramente notáveis, incluindo um aumento quase universal na prevalência e incidência da doença ao longo do tempo (Koch-Henriksen et al. 2010), uma influência da latitude sobre o risco de doença, embora este gradiente de latitude se tenha atenuado depois de 1980, aparentemente devido ao aumento da incidência de EM em latitudes mais baixas (Alonso et al. 2008), e ainda um risco de desenvolvimento da doença aumentado em indivíduos do sexo feminino e em indivíduos de raça Caucasóide, especialmente os descendentes de populações oriundas do norte da Europa (Koch-Henriksen et al. 2010).

A mais alta prevalência conhecida da EM (250 por 100.000) ocorre nas ilhas Orkney, situadas no Norte da Escócia, e taxas igualmente elevadas são observadas no Norte da Europa, Norte dos EUA e Canadá (100 por 100.000) (Pugliatti et al. 2002). Diferentemente, a prevalência da EM é baixa no Japão (2 por 100.000), em outras partes da Ásia, na África Equatorial e no Médio Oriente. Já em Portugal a prevalência é de aproximadamente 50 por cada 100.000 indivíduos (De Sá et al. 2006) (Figura 1). Trata-se da doença desmielinizante mais comum do SNC em adultos jovens, sendo aproximadamente 3 vezes mais comum em mulheres do que em homens. A EM afecta cerca de 2.500.000 pessoas por todo o mundo. A idade de início da doença varia entre os 10 e os 59 anos de idade (Poser et al, 1983), sendo que a maioria dos casos se iniciam entre os 20 e os 40 anos (um pouco mais tarde nos homens do que nas mulheres). Cerca de 10 % dos casos começam antes dos 18 anos de idade, e raramente, a doença pode surgir antes dos 10 anos de idade (Duquette et al, 1987) ou depois dos 59 anos (Kenealy et al, 2003) (Figura 2).

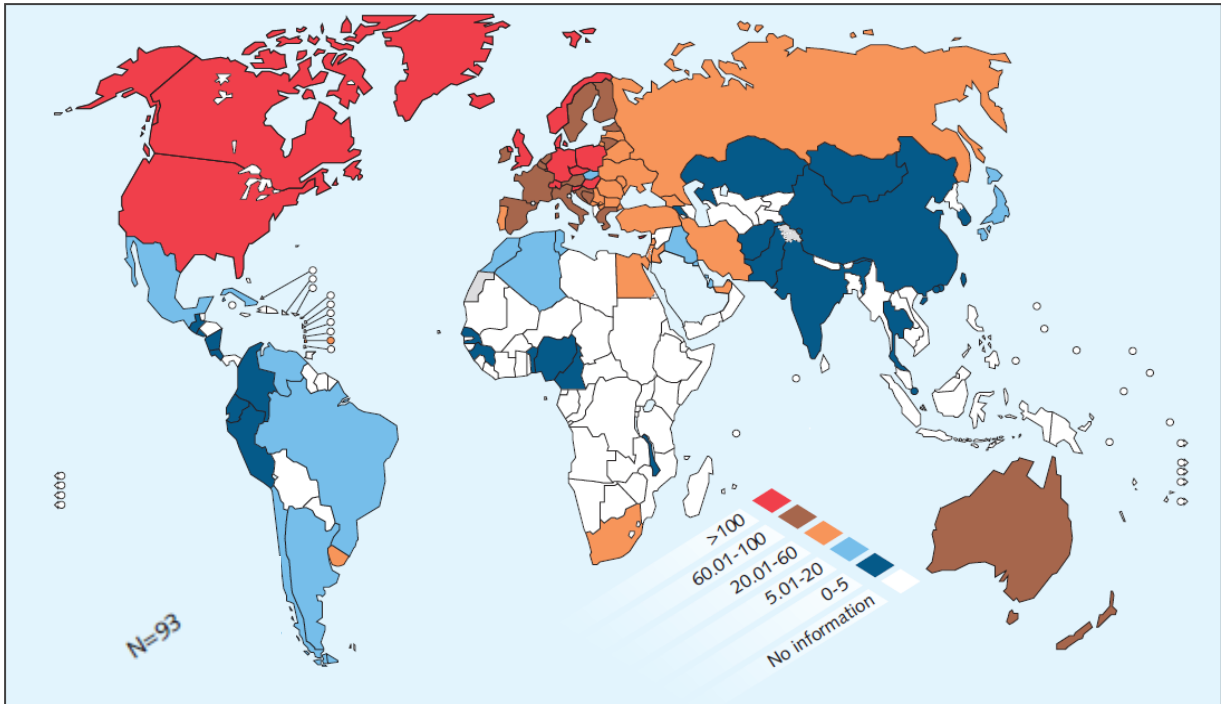


Figura 1 – Prevalência da Esclerose Múltipla por 100.000 habitantes (adaptado de WHO, 2008)

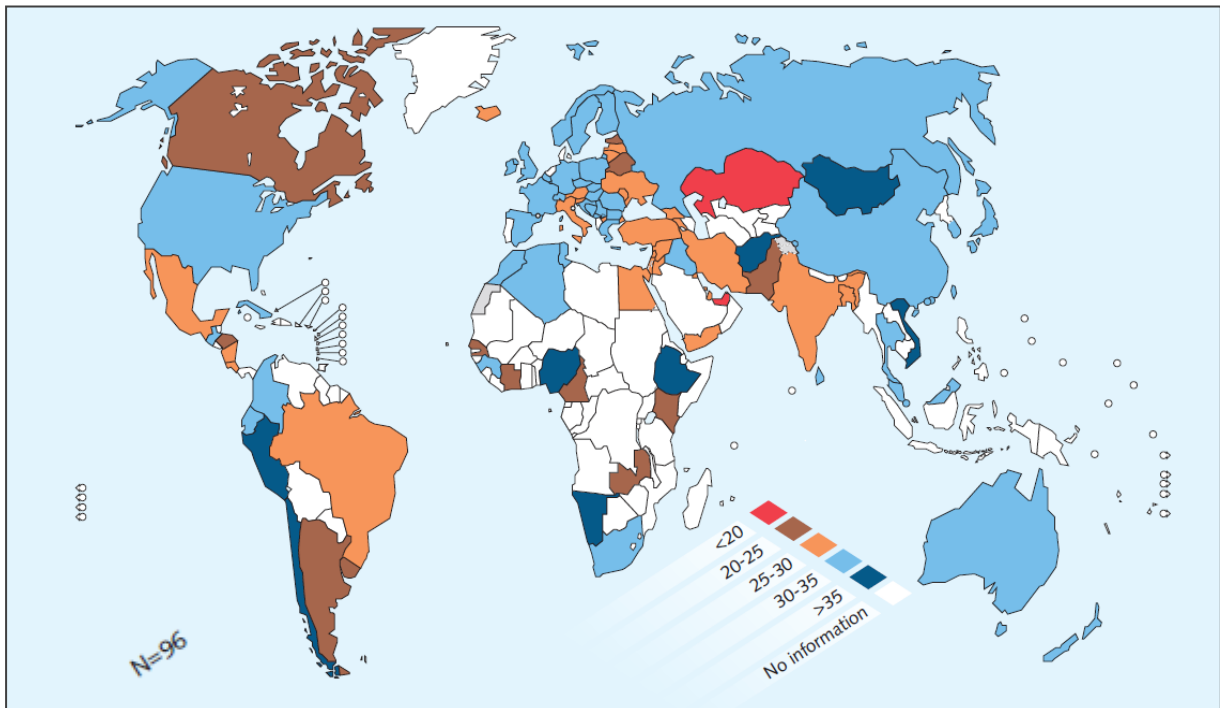


Figura 2 – Idade de início da Esclerose Múltipla, em anos (adaptado de WHO, 2008)

3.3. Patogenia

Uma panóplia imensa de dados imunológicos, epidemiológicos e genéticos fazem crer que as lesões tecidulares que ocorrem na EM poderão resultar de uma resposta imunológica anormal a um ou mais antigénios da mielina. Esta resposta ocorreria em indivíduos susceptíveis, após a exposição a um determinado factor causal, ainda não esclarecido, o que levaria à destruição das bainhas de mielina do SNC (Korn, 2008).

Portanto, a causa exacta e a patogénese da EM são desconhecidas, sendo a teoria mais aceite que a EM seja uma doença auto-imune.

Tradicionalmente pensava-se que a substância branca seria o local predominante de envolvimento da doença. Contudo, numerosas pequenas lesões podem também ser encontradas na substância cinzenta, quer do córtex, quer de estruturas mais profundas.

A principal característica patológica da EM são as lesões, conhecidas como placas, estas variam, em tamanho, de 1 a 2 mm a vários centímetros.

A análise das lesões desmielinizantes no SNC dos doentes com EM demonstra perda de mielina, destruição de oligodendrócitos, e gliose reactiva (Windhagen et al, 1995), devidos à infiltração perivenular de linfócitos e macrófagos no parênquima cerebral, tronco cerebral, nervos ópticos e espinhal medula. A expressão de moléculas de adesão na superfície celular parece estar na base da capacidade das células inflamatórias atravessarem a barreira hematoencefálica. Os elevados níveis de imunoglobulina G (IgG) no líquido cefalorraquídeo (LCR) sugerem um importante componente humoral na patogénese da EM (Korn, 2008).

As características patológicas das lesões variam e dependem da localização, idade e se houve ou não regeneração. As lesões da EM são tipicamente divididas em três categorias patológicas: activa (aguda), crónica activa e crónica inactiva.

Portanto, a imunopatologia da EM permite considerar duas etapas na sua evolução: Uma primeira etapa em que predominam os fenómenos inflamatórios e uma segunda em que

predomina um processo neurodegenerativo, representado fundamentalmente pelo compromisso axonal. A fase progressiva do fenómeno de perda axonal pode ser multifactorial e incluir tanto um componente inflamatório, como um componente degenerativo, muito provavelmente pela perda de factores tróficos provenientes da bainha da mielina (Korn, 2008).

3.4. Etiologia

É provável que múltiplos factores (não um único agente ou evento) ajam em conjunto para desencadear ou perpetuar a doença. Embora os eventos que ocasionem a doença não estejam totalmente compreendidos, a maior parte das evidências leva a crer numa etiologia autoimune associada a factores ambientais e a predisposições genéticas ainda incertas (Dyment et al, 2007).

A EM é uma doença com características auto-ímmunes, inflamatórias e degenerativas que resulta de uma interacção entre factores genéticos e exógenos; enquanto a herança genética modula a susceptibilidade à doença de toda a população em geral, estudos epidemiológicos sugerem os factores ambientais como tendo um papel fundamental no aparecimento e progressão da EM (Pugliatti et al, 2002).

Resultados de estudos acerca da sazonalidade do nascimento dos doentes com EM, o início da doença e as exacerbações, assim como tendências temporais aparentes na relação entre a incidência e o género, suportam a suspeita de influência de vírus, de processos metabólicos e dos estilos de vida no risco desenvolver EM. Os factores ambientais que provavelmente estão envolvidos incluem baixa exposição à luz solar, deficiência de vitamina D, exposição ao vírus Epstein-Barr e tabagismo, factores que podem explicar tais padrões epidemiológicos (Pugliatti et al, 2002).

3.5. Manifestações Clínicas

A EM é uma doença clinicamente heterogénea, que varia de acordo com a localização das placas ou lesões. As lesões da EM ocorrem tipicamente em momentos diferentes e localizações distintas do SNC. Os sintomas desta doença derivam da desmielinização das fibras nervosas do SNC, processo esse que se encontra na origem de alterações cerebrais e de uma vasta semiologia clínica (Dyment et al, 2007), que pode ser de curta, longa duração ou permanente. Acredita-se que a perda cumulativa axonal seja a principal causa da incapacidade neurológica progressiva e irreversível que ocorre na EM.

Na maioria dos doentes, o início da doença é monossintomático (um sintoma, frequentemente motor, sensitivo ou visual), contudo um início polissintomático também pode suceder. O curso da doença varia consideravelmente entre os indivíduos afectados. Os sintomas iniciais são geralmente um ou mais dos seguintes: fraqueza muscular em um ou mais membros, distúrbios sensitivos, perda visual monocular (nevrite óptica), diplopia, alteração da coordenação motora e do equilíbrio (Tabela 1). O início pode ser abrupto ou insidioso, e os sintomas iniciais podem ser graves ou parecer tão triviais que um paciente não procura auxílio médico por meses ou anos (Kenealy et al, 2003).

À medida que a doença piora, surgem certas complicações como disfunção vesical, e queixas como a fadiga, aumento da sensibilidade ao calor, em grande parte dos doentes. São sintomas sugestivos de doença o Sinal de Lhermitte (sensação de descarga eléctrica, determinada pela flexão da coluna cervical, que percorre toda a coluna e membros), fraqueza ou dor hemifacial, vertigem, e espasmos tónicos breves e outros sintomas paroxísticos (podem representar descargas provenientes dos axónios desmielinizados) (Paty, 2000).

Esta doença também causa danos cognitivos numa estimativa de 45 a 65% dos doentes, especialmente nas fases avançadas da doença, e incluem défices mnésicos e alterações noutros domínios cognitivos. Logo, desde o início, podem existir défices de

atenção, dificuldades na resolução de problemas, lentificação no processamento de informação e dificuldades em alternar tarefas cognitivas. A depressão é experienciada por cerca de 60 % dos pacientes ao longo do curso da sua doença, e o suicídio é 7,5 vezes mais comum do que na população em geral (Hauser et al, 2005).

Sintoma	Mulheres, percentagem	Homens, percentagem	Total, percentagem
Sensitivos nos membros	33,2	25,1	30,7
Perda visual	16,3	15,1	15,9
Motor (subagudo)	8,3	10,4	8,9
Diplopia	6,0	8,5	6,8
Distúrbios da marcha	3,2	8,3	4,8
Motor (agudo)	4,4	4,2	4,3
Problemas de equilíbrio	2,5	4,0	2,9
Sensitivos na face	2,9	2,5	2,8
Sinal de Lhermitte	1,6	2,3	1,8
Vertigem	1,8	1,5	1,7
Problemas da bexiga	0,9	1,1	1,0
Mielite aguda transversa	0,8	0,6	0,7
Dor	0,3	0,8	0,5
Outros	2,6	2,5	2,5
Início polissintomático	14,5	11,9	13,7

Tabela 1 – Sintomas mais frequentes na EM (Adaptado de Paty, 2000)

3.6. Evolução da EM – Tipos Clínicos

A evolução natural da doença pode ser vista como a interacção entre dois fenómenos clínicos: surtos, caracterizados pelo surgimento de sintomas de novo ou recidivas, com duração mínima de 24 horas, usualmente persistindo durante vários dias ou semanas, seguidos de remissão com duração de pelo menos um mês, e progressão, caracterizada por um agravamento dos sinais e sintomas por um período mínimo de seis meses, ou mesmo doze meses, segundo definições mais recentes (Confavreux and Vukusic, 2006).

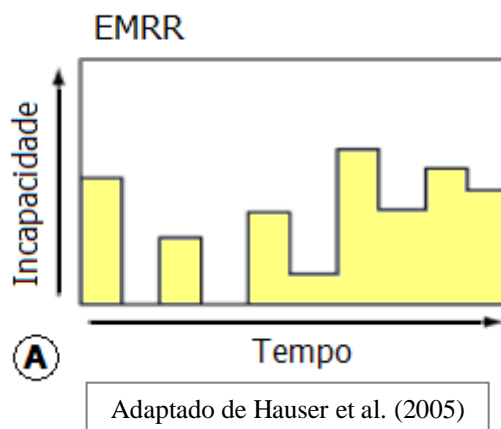
O curso clínico da doença segue usualmente um padrão, ao longo do tempo, caracterizado por episódios agudos com agravamento, deterioração progressiva da função neurológica, ou uma mistura de ambos (Noseworth et al, 2000).

Há factores preditivos de um curso de doença mais severo, nomeadamente recidivas frequentes nos primeiros dois anos, um curso progressivo no início da doença e o género masculino (Noseworth et al, 2000).

Descreveram-se quatro tipos clínicos de EM.

A – EM Recidivante/Remitente (EMRR):

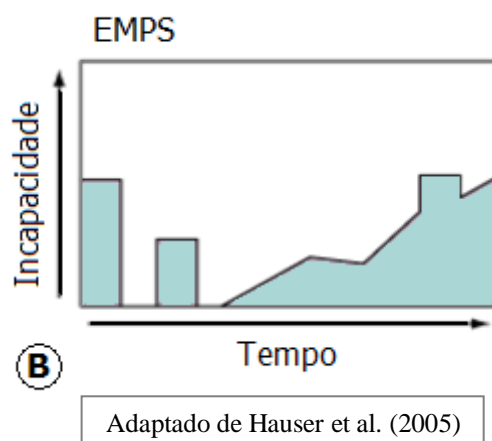
A EMRR é caracterizada por períodos de surtos, seguidos de períodos de remissão. Pode provocar incapacidade temporária, mas após os surtos, o doente acaba, em determinadas situações, por recuperar algumas funções. No entanto, com o aumento gradual



do número de surtos, o grau de incapacidade vai aumentando. O tempo que medeia os surtos é totalmente imprevisível, podendo variar desde semanas até anos. Esta forma de EM está presente em cerca de 80% dos doentes (Hauser et al, 2005).

B – EM Progressiva Secundária (EMPS):

Habitualmente, a EMPS desenvolve-se em doentes com EMRR que deixaram de apresentar períodos de remissão. Após uma recidiva, a persistência de sinais de disfunção do SNC pode provocar uma progressão da

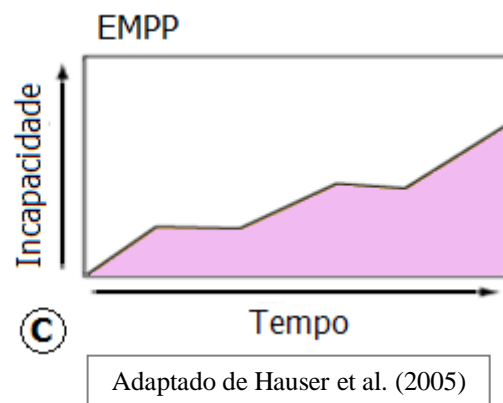


doença, caracterizando esta forma de apresentação da doença (Noseworthy et al, 2000). Esta progressão pode ainda apresentar recidivas, com períodos de remissão pouco significativos (Kasper et al, 2006).

Cerca de 50% dos doentes com EMRR manifestarão EMPS após 10 anos de doença o que leva à ideia de que este tipo de EM corresponde a um estadio tardio da doença clássica (Kasper et al, 2006).

C – EM Progressiva Primária (EMPP):

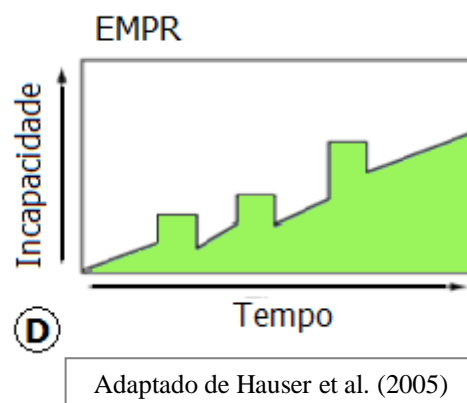
A EMPP corresponde a cerca de 15% dos casos, caracterizando-se por um agravamento progressivo dos sintomas desde o episódio inaugural, envolvendo locais do SNC e não havendo remissão dos sintomas iniciais (Kenealy et al, 2003).



Apresenta-se numa idade mais avançada, cerca dos 40 anos, e a incapacidade surge mais rapidamente (pelo menos em relação ao início do primeiro sintoma clínico) (Kenealy et al, 2003).

D – EM Progressiva/Recidivante (EMPR):

A EMPR caracteriza-se por uma deterioração constante do estado do doente desde o início da doença, com períodos de surto perfeitamente identificáveis, com recuperação total ou parcial. Os períodos entre os surtos são caracterizados por uma progressão contínua dos sintomas (Kasper et al, 2006).



OBJECTIVOS

O presente artigo tem como objectivo a recolha, análise e selecção de informação no âmbito da temática “Estudos Genéticos na Esclerose Múltipla”, através da revisão da literatura, no sentido de proporcionar um melhor entendimento da base genética da EM e dos progressos realizados nesta área.

Pretende-se, portanto, realçar a importância dos estudos genéticos na EM, quer na determinação de quem terá maior ou menor susceptibilidade à doença, quer na evolução clínica, ou ainda na forma como cada indivíduo responde à terapêutica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A estratégia de pesquisa utilizada no âmbito da temática “Estudos Genéticos na Esclerose Múltipla” baseou-se no modelo dos “5S” desenvolvido por Haynes. Este modelo é representado por uma pirâmide com níveis de organização da evidência que ajudam na realização da pesquisa. O modelo dos “5S” é composto por: *Studies*, *Syntheses*, *Synopses*, *Summaries* e *Systems*.

A recomendação é iniciar a pesquisa pelo último nível, os *Systems*, que são ferramentas computadorizadas, de apoio à decisão clínica, mas que ainda não estão completamente desenvolvidas. Portanto, iniciou-se a pesquisa pelos *Summaries*, que englobam recursos que se caracterizam por reunir o mais fundamental e clinicamente importante sobre uma matéria. A pesquisa com os termos “Multiple Sclerosis” na fonte de informação “UpToDate” não resultou em nenhum documento; na fonte “Dynamed” resultou em apenas um documento, contudo não relacionado com a temática da genética.

Passando às *Synopses* de estudos individuais e revisões sistemáticas, o próximo melhor recurso, inseriram-se os termos “Multiple Sclerosis genetics” na fonte de informação “ACP Journal Club”, não resultando em qualquer referência, e na fonte “Evidence-Based Medicine” resultando em 44 documentos.

De seguida, procedeu-se à pesquisa em bases de dados de revisões sistemáticas ou *Syntheses*, como a “Cochrane Database”, em que a pesquisa com os termos “Multiple Sclerosis genetics” não obteve quaisquer resultados, e a “PubMed Clinical Queries”, em que a pesquisa com os termos “ “Multiple Sclerosis” AND Genetics” resultou em 55 meta-análises/revisões sistemáticas, as quais foram submetidas a uma selecção de acordo com os seguintes critérios: publicações em inglês, espanhol, português, posteriores a 1995 e referentes a resultados obtidos em humanos. Após a aplicação destas condicionantes a pesquisa resultou em 51 referências.

Para a pesquisa seguinte, desceu-se mais um patamar na estrutura hierárquica dos “5S”, *Studies* (estudos originais), e recorreu-se a um interface de pesquisa da “Medline”, a MeSH. Com o termo de indexação “Multiple Sclerosis” a que se juntou o *subheading* (qualificador) “Genetics”: “Multiple Sclerosis/Genetics [Majr]” e a condicionante: publicação após 1995, a pesquisa resultou em 1964 referências, as quais foram submetidas a outros critérios de selecção: publicações em inglês, espanhol, português, posteriores a 1999 e referentes a resultados obtidos em humanos. Após a aplicação destas condições a pesquisa resultou em 1477 documentos; adicionando um novo filtro, “*adult*”, a pesquisa resultou em 610 referências; da exclusão de “*review*” resultaram 131 artigos.

Os artigos identificados pela estratégia de pesquisa inicial foram avaliados conforme os seguintes critérios de inclusão/exclusão: (1) população (adultos), (2) genes, cuja associação com o curso clínico da esclerose múltipla é referida em mais do que um estudo original, embora não seja completamente garantido que não haja resultados falsos positivos (Dyment and Ebers, 2007), (3) Exclusão de artigos que apresentavam informações repetidas ou disponíveis em outros artigos.

5. ESTUDOS GENÉTICOS NA ESCLEROSE MÚLTIPLA

A concepção de que os factores genéticos podem ter um papel na EM foi colocada, pela primeira vez, há cerca de 100 anos, com a descoberta da tendência de agregação familiar para a doença (Mackay et al, 1950). A primeira associação genética foi relatada, em 1972, para os antigénios HLA classe I (Jersild et al, 1972). No entanto, após mais de 30 anos, ainda não se conhece a etiologia exacta da EM ou os papéis relativos, quer dos genes, quer do ambiente. Sabe-se, porém, que os genes poderão desempenhar um papel no risco de desenvolver da EM, na progressão da doença e na forma como cada indivíduo responde à terapêutica.

Contudo, estudos sistemáticos em epidemiologia genética e genética molecular têm fornecido importantes esclarecimentos. A defesa da primazia de causas genéticas, infecciosas ou ambientais deu lugar ao reconhecimento de que, como para quase todas as doenças complexas, genes e ambiente provavelmente interagem e influenciam, quer a susceptibilidade, quer o curso clínico da EM.

Os factores genéticos nas doenças complexas têm sido estudados por métodos robustos de associação caso-controlo (*The Wellcome Trust Case Control Consortium, 2007*). O tamanho da população humana, associado à extensão do genoma, dita que, embora dois indivíduos difiram apenas em 0,1% a nível genómico, existam milhares de milhão de variantes alélicas prevalentes na população (Kruglyak et al, 2001). Esforços internacionais para identificar e catalogar a variação genética humana, forneceram suporte empírico para a relação inversa entre a frequência de um alelo e o número de alelos variantes com a mesma frequência. Assim, embora as variantes comuns contabilizem 90% das diferenças entre dois indivíduos, existem em menor número relativamente aos alelos mais raros. Existindo cerca de 10 a 15 milhões de variantes comuns e milhares de milhão de variantes raras na população, a

identificação daquelas relevantes numa determinada doença tem-se revelado um desafio permanente (Sawcer et al, 2008).

Em princípio, cada alelo deverá desempenhar um papel funcional e interferir no risco de desenvolvimento da doença, constituindo um modelo poligénico, embora os efeitos atribuíveis a cada alelo variem entre si, alguns contribuindo de forma mais significativa que outros (Sawcer et al, 2008).

A genotipagem de milhares de amostras com centenas de milhares de marcadores não resolveu o problema da hereditariedade na EM. Muitos genes de efeito fraco podem existir, e a sua descoberta requer mais processos de genotipagem. As associações genéticas individuais poderão ser mais complexas do que o previsto (Dyment et al, 2005). Interações gene-ambiente, efeitos de origem paterna ou materna e modificações epigenéticas devem ser considerados.

Acredita-se que o desenvolvimento de doenças auto-imunes envolve de alguma forma um desequilíbrio entre as populações de linfócitos Th1, linfócitos Th2, linfócitos T reguladores e citocinas. Existem diversas estratégias laboratoriais que geram condições desmielinizantes, sendo a Encefalomielite Autoimune Experimental (EAE) um dos métodos mais utilizados, na actualidade, para estudar a EM.

A desmielinização e o infiltrado inflamatório de células T CD4+, caracteristicamente encontrados no cérebro de doentes com EM (Goverman, 2009), também o são no modelo de EAE (Hjelmström et al, 1998). Tal similaridade entre os dois quadros patológicos faz da EAE um modelo útil no estudo dos mecanismos fisiopatológicos da EM e, conseqüentemente, valida a EAE como um modelo a utilizar no desenvolvimento de terapêuticas.

5.1. Genes e Ambiente: Epidemiologia Genética

A epidemiologia genética é definida como “uma ciência que lida com a etiologia, distribuição e controlo das doenças em grupos de indivíduos da mesma família e com as causas hereditárias da doença nas populações” (Kenealy et al, 2003). A epidemiologia genética permite a análise dos factores genéticos, gene-ambiente ou epigenéticos que contribuem para a etiologia de uma doença, direccionando os estudos de forma mais adequada.

Risco de recorrência em familiares

A agregação familiar serve de ponto de partida para a compreensão de doenças que são influenciadas por factores genéticos e ambientais. Apesar da agregação familiar na EM ter sido, há muito, aceite, a publicação de um estudo sistemático com menção do risco de recorrência em familiares de doentes com EM ocorreu, pela primeira vez, em 1988 (Sadovnik et al, 1988). Através do uso de metodologias de epidemiologia genética e de ajustamento de idade, foi demonstrado que familiares em primeiro, segundo e mesmo em terceiro grau de doentes com EM têm maior probabilidade de desenvolverem a doença, comparativamente à população em geral (Sadovnik et al, 1988) e que o risco de recorrência está dependente do grau de parentesco (Tabela 2, Gráfico 1).

Estes dados foram confirmados posteriormente por vários estudos (Robertson et al, 1996; Montomoli et al, 2002). Factores como origem hereditária materna ou paterna (Sadovnick et al, 1991), idade de início (Sadovnick et al, 1998) e género dos indivíduos (Willer et al, 2003) podem influenciar o risco. Os estudos relacionados com a idade de início da doença (Sadovnick et al, 1998) demonstraram evidências da influência genética na EM. Estes permitiram verificar que a idade de aparecimento da doença em famílias com mais que um indivíduo afectado é semelhante, permitindo também despistar um factor ambiental,

como, por exemplo, uma epidemia causada por um vírus, em que seria de esperar que afectasse os familiares em simultâneo, independentemente da idade.

O conhecimento do risco de recorrência é importante nomeadamente tendo em vista a possibilidade de aconselhamento genético (Sadovnick et al, 1999).

Relationship to index patient	Age-adjusted recurrence risk (%)	Times risk increased compared with general population*	Identity descent (%)
First degree relative	3.0–5.0	15–25	50
Monozygotic female twin	34.0	170	100
Adopted first degree relative	0.2	1	0
Offspring of conjugal mating	30.5	150	50 with each parent

*Lifetime prevalence in the general population is 0.2%.

Tabela 2 – Risco de recorrência familiar para a EM (retirado de Dymment et al, 2004)

No entanto, o risco de recorrência por si só não é suficiente para diferenciar os papéis relativos dos genes e do ambiente. De facto, a epidemiologia da EM foi dominada pela crença de neurovirologistas e epidemiologistas de que o problema poderia ser transposto pelo isolamento viral e estudos de prevalência caso-controlo.

Observações importantes feitas no passado têm ainda hoje interesse para os investigadores, especialmente na distribuição da prevalência. Em particular, a noção de que a

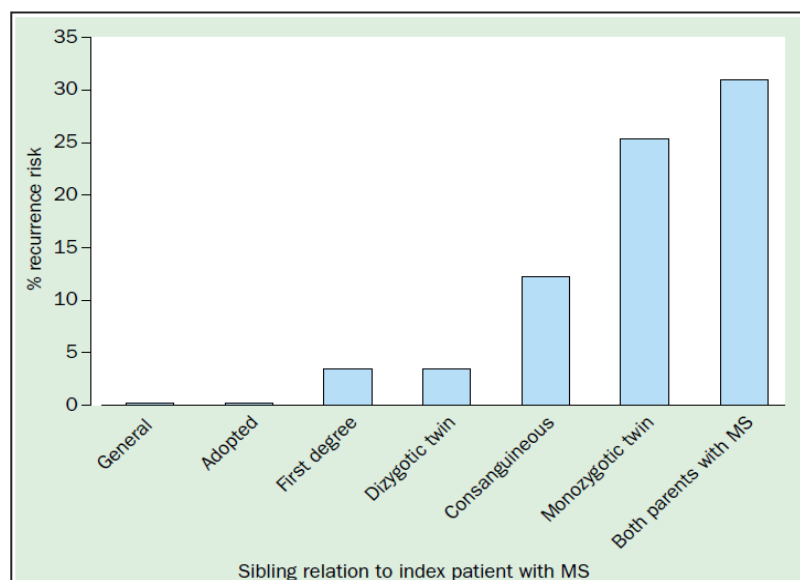


Gráfico 1 - Risco de recorrência ajustado à idade, adaptado de (Dymment D. et al, 2004)

EM tem uma base infecciosa tem sido difícil de debelar, apesar das evidências em contrário proporcionadas pelos estudos em indivíduos adotados, meios-irmãos e gémeos.

5.1.1. Estudos da agregação familiar da EM em indivíduos adotados

Os estudos de adoção e em meios-irmãos na EM são os únicos estudos deste tipo em doenças auto-imunes ou, presumivelmente, auto-imunes. Os resultados dos estudos sobre adoção demonstraram claramente que crianças adotadas, embora tenham passado grande parte da infância com indivíduos com EM, não apresentaram maior probabilidade de desenvolver a doença, sendo o risco equivalente ao da população em geral (Ebers et al, 1995). Estes resultados indicam que a agregação familiar na EM está relacionada com a partilha de genes e não com o ambiente familiar (Ebers et al, 1995).

5.1.2. Estudos da agregação familiar da EM em meios-irmãos

O estudo do risco de recorrência em meios-irmãos fornece um método poderoso para testar a proveniência, e os efeitos materno ou paterno de uma característica/traço (Gottesman, 1994), proporcionando ainda uma forma de avaliar os papéis relativos dos genes e do ambiente. Acredita-se que o tamanho da amostra para o estudo realizado por Sadovnick et al (1996) tenha sido suficientemente grande para permitir a separação de dados para posterior comparação de riscos de recorrência. Os meios-irmãos de doentes com EM foram comparados com irmãos dos mesmos casos índice. Esta comparação permite considerar o efeito da partilha genética na análise dos riscos de recorrência (meios-irmãos partilham 25% do seu material genético e os irmãos partilham 50%).

Os resultados são mais fidedignos quando os meios-irmãos são criados com os casos índice e depois comparados com os irmãos, tal permite que seja feita uma comparação específica da quantidade de partilha genética, depois de controlar o efeito “ambiente familiar partilhado”. Meios-irmãos que coabitaram durante a infância com os casos índice, foram comparados com meios-irmãos que não cresceram com os casos índice, tal permite

depreender o efeito do “ambiente familiar partilhado”, depois de controlar a quantidade de partilha genética (Sadovnick et al, 1996).

A comparação de meios-irmãos por parte da mãe, com meios-irmãos por parte do pai revelou o efeito hereditário de uma, ou de outra proveniência na transmissão. Os resultados deste estudo (Sadovnick et al, 1996) apoiam os resultados dos estudos sobre adopção enfatizando que a partilha genética é marcante para a agregação familiar na EM, ao contrário do ambiente familiar. Os resultados também demonstraram que o risco de recorrência em meios-irmãos (1,32%) é significativamente menor que o risco de recorrência em irmãos (3,46%) na mesma família (Risch et al, 1990). Os resultados, no que concerne ao efeito materno ou paterno na origem hereditária, não foram claros, visto que o risco de recorrência em meios-irmãos com a mãe em comum, não era significativamente elevado comparando com meios-irmãos com o mesmo pai (Sadovnick et al, 1996).

Porém, após o acréscimo de novas famílias ao estudo original (Sadovnick et al, 1996) e o acompanhamento das que tinham participado nesse estudo, concluiu-se que, de facto, existe um efeito hereditário de origem materna significativo na ocorrência de EM, para o qual poderão existir várias explicações potenciais (Herrera et al, 2008). A presença de uma origem hereditária sugere diversos mecanismos biológicos que podem operar diferentemente em modelos alternativos de herança na EM. É possível que existam mecanismos epigenéticos envolvidos na transmissão directa de um pai/mãe afectado (Herrera et al, 2008). Os factores ambientais poderão também ter um papel neste efeito, e o *imprinting* genómico permanece como um possível candidato.

5.1.3. Estudos da agregação familiar da EM em gémeos

O primeiro estudo em gémeos foi proposto por Galton (1883) como método para distinguir a contribuição dos genes e do ambiente. Ainda que vários estudos sobre gémeos

tenham sido realizados no âmbito da EM, os primeiros não foram de base populacional. A taxa de concordância em gémeos monozigóticos é significativamente maior do que em gémeos dizigóticos, em estudos de base populacional (Willer et al, 2003; Sadovnick et al, 1993). No entanto, grande parte dos resultados em gémeos monozigóticos era discordante, sustentando a importância dos factores não genéticos/ambientais e do factor coincidência na etiologia da EM. De facto, verificou-se que apenas em 25 a 30 % dos casos, ambos tinham EM (Sadovnick et al, 1993). Não obstante, existem dois importantes pontos fracos a destacar nos estudos em gémeos: em primeiro lugar, os resultados relativos a gémeos são sobrevalorizados dado o seu número necessariamente reduzido nas amostras (Willer et al, 2003); em segundo lugar, a preponderância do género na concordância permanece ainda incerta (Willer et al, 2003).

5.1.4 Estudos da agregação familiar em EM Conjugal

Relatos de casos de EM conjugal (pai e mãe têm EM) são conhecidos há décadas (Dyment et al, 2004). Todavia, foram apenas realizados dois estudos sistemáticos neste contexto (Robertson et al, 1997; Ebers et al, 2000). Em ambos os estudos os resultados foram concordantes na afirmação de que o risco de EM na descendência era significativamente maior, comparado com o risco de EM na descendência de casais em que apenas um indivíduo tem a doença; 30,5% comparado com 2,49% respectivamente, segundo Ebers et al (1986). Os resultados destes estudos mostraram claramente que indivíduos com EM sem qualquer grau de parentesco entre si devem compartilhar pelo menos alguns genes de susceptibilidade.

Os resultados do estudo realizado por Ebers et al (1986) revelaram ainda que a taxa de EM entre os mais de 13 000 cônjuges de pacientes com EM não foi muito diferente do esperado, com base no risco da população em geral. Aliando estes resultados aos já obtidos em estudos sobre gémeos (Willer et al, 2003), adopção (Ebers et al, 1995) e meios-irmãos

(Sadovnick et al, 1996; Herrera et al, 2008), conclui-se que não há dados que possibilitem afirmar que a transmissão de EM ocorra através do contacto familiar num período compreendido desde a infância até à vida adulta.

5.1.5. Estudos da agregação familiar da EM em cônjuges consanguíneos

Uniões consanguíneas são raras na população de raça Caucasóide. Até à data há apenas um único estudo de base populacional sobre o risco de reaparecimento de EM para a descendência destes casais (Sadovnick et al, 2001). Os resultados, embora baseados numa pequena amostra, demonstraram que o risco de recorrência para irmãos de indivíduos com EM, cujos pais não têm a doença, mas são primos em 1º grau, é cerca de 4 vezes superior ao de quando os pais não têm a doença, nem qualquer relação de parentesco.

No entanto, quando estes resultados são analisados em conjunto com os resultados dos estudos da agregação familiar da EM conjugal (Ebers et al, 2000), há evidências que a contribuição biparental para a susceptibilidade da EM poderá ser um fundo comum para a susceptibilidade na EM, pelo menos no que diz respeito a casos familiares.

5.1.6. A influência do género na EM e na sua transmissão

Já há muito se sabe que na EM há uma preponderância do sexo feminino, na razão de 2 para 1 (Koch-Henriksen et al, 2010). Todavia, na EM a proporção mulheres/homens parece aumentar no período pré-pubertário (Duquette et al, 1987) e parece variar geograficamente. A influência do género na expressão da doença é secundário, na melhor das hipóteses, excepto na EMPP, em que o número de homens afectados supera o número de mulheres, pelo menos na faixa etária dos 25 aos 35 anos (Cottrell et al, 1999). A influência do género na transmissão da EM ainda não está completamente definida. Num estudo recente surgiu a hipótese de que o microquimerismo, isto é, a presença estável de um pequeno número de células não

pertencentes ao hospedeiro (fenómeno frequentemente presente em mulheres múltíparas), poderia aumentar a susceptibilidade à EM e teria uma relação directa com a influência do género na EM (Willer et al, 2002). Porém, não existem estudos sistemáticos sobre este fenómeno, nem foi provada qualquer consequência funcional.

5.2 Genética Molecular na EM

Genes candidatos são genes envolvidos em vias biológicas fisiopatologicamente relevantes ou localizados em regiões cromossômicas de susceptibilidade, e que foram anteriormente associados à doença. O estudo de genes candidatos pode ser realizado através de estudos de associação genética com diferentes marcadores genéticos, tais como microsátélites e polimorfismos de nucleótido único (SNPs).

As investigações de genes candidatos seguem, com alguma frequência, o seguinte curso: um estudo revela positividade para uma associação que não é, contudo, confirmada por estudos subsequentes. Esta situação não ocorre apenas na pesquisa de genes candidatos na EM. Segundo Colhoun et al (2003) cerca de 95% das propostas iniciais de associações positivas não podem ser replicadas. Apesar deste panorama negativo na abordagem de genes candidatos, diversos estudos têm demonstrado resultados positivos em investigações no âmbito da EM.

5.2.1. Antígeno 4 associado ao Linfócito T citotóxico humano (CTLA-4)

O gene CTLA-4 localiza-se no braço longo (q) do cromossoma 2, região 2q33, e apresenta 4 exões. O CTLA-4 é um receptor expresso principalmente em linfócitos T, possui um papel fundamental na resposta imune, exercendo um efeito regulador na activação das células T. Esta proteína reconhece as moléculas co-estimulatórias CD80 e CD86, inibe respostas dos linfócitos T e promove a anergia celular após ligação.

O CTLA-4 participa na “*down-regulation*” da actividade das células T e tem um papel importante na eliminação das células auto-reactivas. Como se pensa que na EM há o envolvimento de linfócitos T auto-reactivos contra a mielina, associado ao facto de que em várias doenças auto-imunes já se comprovou a associação com o CTLA-4, este gene é um admissível modificador do curso da EM. Contudo, não foi encontrada qualquer associação sólida entre este gene e EM (Tabela 3).

Alguns estudos demonstraram que SNPs localizados no gene CTLA-4 não têm qualquer influência no fenótipo da EM (Luomala et al, 2003; Roxburgh et al, 2006; van Veen et al, 2003; Heidari et al, 2010), enquanto que o SNP 49 tem sido implicado por vários estudos na doença (Bilinska et al, 2004; Karabon et al, 2009; Heggarty et al, 2007). Mesmo entre estudos em que o efeito é demonstrado neste locus específico, o alelo que contribui para o efeito observado pode ser contraditório. Os estudos de replicação promovem alguma segurança relativamente aos erros e enviesamentos que podem surgir num estudo único, proporcionando maior confiança de que todas as associações encontradas reflectem processos de interesse biológico.

Tabela 3 – Associação do gene CTLA-4 com a EM

Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Luomala et al (2003)	Finlândia	116 doentes (86 BO, 30 PP)	O SNP 49 não tem qualquer influência na severidade da doença.
Van Veen et al (2003)	Holanda	514 doentes (103 PP, 231 RR, 180 SP)	Os polimorfismos +49 e -318 do gene CTLA-4 não têm efeito no curso clínico da doença.
Biliska et al (2004)	Polónia	152 doentes (113 RR, 39 SP)	A progressão de EM RR para EM SP poderá estar relacionada com um polimorfismo transitório do SNP 49.
Roxburgh et al (2006)	RU	771 doentes (462 RR, 239 SP, 70 PP)	Não foi encontrada qualquer associação com a severidade da doença.
Heggarty et al (2007)	RU	330 doentes (246 RR, 84 PP)	A presença de adenina ou de timina no SNP 49 do gene CTLA-4 está relacionada com um aumento da susceptibilidade da doença.
Karabon et al (2009)	Polónia	230 doentes (173 RR, 57 SP)	A presença dos alelos Jo31G e CT60G aumentam a propensão para a doença.
Heidari et al (2010)	Irão	135 doentes (135 RR)	Não foi demonstrada qualquer associação entre os polimorfismos +49 e -318 do gene CTLA-4 e a doença.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária.

5.2.2. Interleucina-1 (IL-1 α e IL-1 β) e antagonista do receptor da Interleucina-1 (IL-1ra)

O *cluster* do gene da IL-1 localiza-se no braço longo (q) do cromossoma 2, região 2q12-2q14, contém três genes relacionados dentro de uma região de 430kb: IL-1 α , IL-1 β e IL-1ra. A Interleucina-1 alfa (IL-1 α) e Interleucina-1 beta (IL-1 β) são citocinas pró-inflamatórias, com actividades pleiotrópicas que incluem o crescimento e diferenciação dos linfócitos B e T, activação de outras interleucinas, moléculas de adesão celular, histamina e tromboxano.

Os polimorfismos dos genes IL-1 e IL-1ra têm sido propostos como genes modificadores de doença na EM. As variantes alélicas consideradas têm um interesse particular, visto existir um fundamento biológico plausível para considerar interacções entre estes genes, que exercem funções opostas no sistema imunitário. As interleucinas podem estar envolvidas na evolução das placas, características da EM, e é possível que elas possam contribuir para danos axonais irreparáveis.

Alguns estudos concluíram que os níveis de IL-1 β estão aumentados no soro e no líquido cefalorraquidiano durante uma recaída da doença e são suprimidos pelo tratamento com corticosteroides, enquanto que níveis de IL-1ra aumentam significativamente em resposta ao tratamento com interferão (Nicoletti et al, 1996). A influência específica quer da IL-1 β quer da IL-1ra ainda não está esclarecida (Tabela 4).

Tabela 4 – Associação dos genes IL-1 e LI-1ra com a EM			
Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
i. IL-1ra			
de la Concha et al (1997)	Espanha	135 doentes (113 RR, 22 PP)	A frequência do alelo 2 12(864) do gene da IL-1ra está significativamente aumentada em doentes com EMRR.
Schrijver et al (1999)	Holanda	148 doentes (35 RR, 35 PP, 78 SP)	O alelo 2+ do gene da IL-1ra e o alelo 2- do gene da IL-1 β em combinação contribuem para um aumento da taxa de progressão da doença.
Feakes et al 2000	RU	536 doentes (326 RR, 159 SP, 51 PP)	Não tem influência na severidade da doença.
Kantarci et al (2000b)	EUA	122 doentes (86 BO, 14 PP)	O alelo 3 12(864) do gene da IL-1ra está associado a uma evolução benigna da doença.
Mann et al (2002)	RU	Set 1 – 377 doentes (80 EM ligeira, 120 EM severa) Set 2 – 67 doentes (PP)	A presença do alelo 2 12(864) do gene da IL-1ra está associada com uma progressão ?moderada? da doença.
Van Veen et al (2003)	Holanda	492 doentes (221 RR, 172 SP, 99 PP)	Não foi encontrada qualquer relação entre o <i>cluster</i> do gene da IL-1 e o curso da EM.
Aggelakis et al (2009)	Grécia	351 doentes BO	Não foi encontrada qualquer associação entre os polimorfismos dos genes IL-1 β e IL-1ra e a EM.
Borzani et al (2010)	Itália	160 doentes	Os resultados corroboraram a associação entre a EM e o <i>cluster</i> do gene da IL-1.
ii. IL-1β			
Schrijver et al (1999)	Holanda	148 doentes (35 RR, 35 PP, 78 SP)	A ausência do alelo 2 do gene da IL-1 β está relacionada com mau progóstico.
Feakes et al 2000	RU	536 doentes (326 RR, 159 SP, 51 PP)	Não tem influência na severidade da doença.
Kantarci et al (2000b)	EUA	122 doentes (86 BO, 14 PP)	O alelo 2 do gene da IL-1 β está associado a uma evolução benigna da doença.
Mann et al (2002)	RU	Set 1 – 377 doentes (80 EM ligeira, 120 EM severa) Set 2 – 67 doentes (PP)	O alelo 2 -511 está associado com doença severa.
Van Veen et al (2003)	Holanda	492 doentes (221 RR, 172 SP, 99 PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre os polimorfismos dos genes IL-1 β e IL-1ra e a EM.
Aggelakis et al (2009)	Grécia	351 doentes BO	Não foi encontrada qualquer associação entre os polimorfismos dos genes IL-1 β e IL-1ra e a EM.
Borzani et al (2010)	Itália	160 doentes	Os resultados corroboraram a associação entre a EM e o <i>cluster</i> do gene da IL-1.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária.

Os estudos afirmam que os genes têm um papel na progressão da EM, influenciando se a doença é moderada (de la Concha et al, 1997; Kantarci et al, 2000b), severa (Mann et al, 2002), ou então atestam que não há qualquer associação com o prognóstico da doença (Feakes et al, 2000; van Veen et al, 2003; Aggelakis et al, 2009).

A presença do alelo-2 (alelo associado a uma maior expressão da proteína) num doente é considerado um factor de prognóstico favorável (de la Concha, 1997; Mann et al, 2002; Feakes et al, 2000). Schrijver et al. (1999) por outro lado não encontraram qualquer efeito independente deste alelo.

O papel das várias interleucinas na evolução da doença é difícil de esclarecer visto que os genes da IL-1 α , IL-1 β e IL-1ra fazem parte do mesmo *cluster*, e por isso os resultados obtidos para um gene podem dever-se a um desequilíbrio da ligação genética, merecendo, portanto, investigações mais aprofundadas (Borzani et al, 2010).

5.2.3. Interleucina-4 (IL-4)

O gene da interleucina-4 (*IL-4*) localiza-se no braço longo (q) do cromossoma 5, região 5q31. A IL-4 é uma glicoproteína responsável pela inibição dos linfócitos Th1 enquanto promove a resposta pelos linfócitos Th2. Os linfócitos T que expressam à superfície a molécula co-estimulatória B7-1 e IL-4 intracelular, estão diminuídos em doentes com EM. Em modelos animais, a EAE é mais severa em ratinhos com a inativação do gene da IL-4 por *knockout* do que em ratinhos não modificados (Falcone et al, 1998) e a sobre-expressão da IL-4 ao nível do SNC está relacionada com a diminuição dos sinais clínicos e patológicos da EAE (Martino et al, 2000). As observações de que a IL-4 está diminuída nos doentes com EM, associadas ao papel que aparentemente desempenha na EAE levaram a considerar a associação deste gene com a EM (Tabela 5). Vandebroek et al (1997), MacDonnell et al (2000) e Kamali-Sarvestani et al (2007) não conseguiram confirmar uma associação entre os polimorfismos dos genes IL-4 e a susceptibilidade à EM, curso clínico ou severidade. Por outro lado, Kantarci et al (2003) relacionaram a presença do alelo 13 (709) com um aumento da severidade do curso clínico.

Tabela 5 – Associação dos genes IL-4 com a EM			
Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Vandebroek et al. (1997)	Itália	256 doentes (219 RR, 37PP)	Não foi encontrada qualquer associação com a progressão da doença.
McDonnell et al. (2000)	RU	287 doentes (177 BO, 110 PP)	Não foi encontrada qualquer associação com a progressão da doença.
Kantarci et al. (2003)	USA	122 doentes (86 BO), 14 PP)	O alelo 13(709) está associado com doença mais severa; o genótipo E1(33) TT está associado com EMPP
Suppiah et al. (2005)	Espanha, RU, Bélgica	191 doentes Espanhóis, 126 doentes Belgas e 267 doentes do RU (172 RR, 95 PP)	O genótipo IL-4 33 TT está diminuído em doentes com EMPP relativamente a doentes com EMRR na Irlanda do Norte.
Kamali-Sarvestani et al. (2007)	Irão	270 doentes (199 RR, 60 SP, 11 PP)	Não há associação com a severidade da doença.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária

5.2.4. Interleucina-6 (IL-6)

O gene da IL-6 localiza-se no braço curto (p) do cromossoma 7, região 7p21. A IL-6 é uma citocina que pode ter uma acção pró-inflamatória ou anti-inflamatória. Em geral, pensa-se que concentrações elevadas de IL-6, ao nível do SNC, têm um efeito pró-inflamatório. A presença de níveis aumentados de IL-6 no LCR e no soro de doentes com EM tem sido relatada (Frei et al, 1991). Células mononucleares presentes no LCR e no sangue de doentes com EM expressam altos níveis de RNAm da IL-6 (Navikas et al, 1996). Os ratinhos com a inactivação do gene da IL-6 por *knockout* apresentam resistência à EAE induzida pela glicoproteína da mielina do oligodendrócito (MOG), enquanto que a administração de IL-6 causa EAE típica. Níveis elevados de células que expressam RNAm da IL-6 estão presentes no SNC, no caso de EAE prolongada e recidivante, enquanto que na EAE aguda estavam quase ausentes (Diab et al, 1997). O papel modificador da IL-6 no curso da doença em EAE levou à investigação da influência que este gene poderá ter na severidade da doença em humanos (Tabela 6). Vanderbroeck et al (2000) e Shahbazi et al (2010) relacionaram a presença de alelos A5 e G com o curso clínico e a susceptibilidade à EM, respectivamente; Fedetz et al (2001) e Schmidt et al (2003) não encontraram qualquer associação entre os polimorfismos dos genes IL-6 com a EM.

Tabela 6 – Associação dos genes IL-6 com a EM

Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Vandenbroeck et al. (2000)	Itália	192 famílias (17 curso clínico maligno, 34 curso clínico benigno)	O alelo A5 está associado com o curso clínico benigno da doença.
Fedetz et al. (2001)	Espanha	131 doentes (88 RR, 43 SP)	Não foram encontradas diferenças nos genótipos da IL-6 entre EMRR e EMSP.
Schmidt et al. (2003)	Alemanha	216 doentes (102 RR, 83 SP, 31 PP)	O alelo C do gene da IL-6 não está associado com o curso clínico da doença.
Shahbazi et al. (2010)	Irão	345 doentes	O alelo G no polimorfismo IL-6/-174 poderá estar associado com o desenvolvimento da EM nesta população, efeito que poderá ser reforçado pelo HLA-DRB1*1501.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante.

5.2.5. Receptor da Interleucina-7 (IL7R)

Outro gene de interesse é o gene do receptor da interleucina-7 (IL-7R), este localiza-se no braço curto (p) do cromossoma 5, região 5p13. O IL-7R é o receptor da Interleucina-7, um importante factor de crescimento para a expansão dos linfócitos T e B. Tem sido demonstrado que a IL-7 é responsável por aumentar a proliferação e reactividade dos linfócitos T aos antígenos da mielina, quer na EM, quer na EAE (Traggiai et al, 2001). Num estudo com *análise de Microarrays de cDNA*, demonstrou-se que a expressão de IL-7 era significativamente aumentada em células mononucleares do sangue periférico de doentes com EMRR equiparando com indivíduos saudáveis (Ramanathan et al, 2001).

O papel potencial desempenhado pelo IL-7R na patogénese da EM levou à consideração deste gene como um candidato viável a modificador da susceptibilidade da doença (Tabela 7).

Tabela 7 – Associação do gene IL-7R com a EM			
Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Lundmark et al (2007)	Suécia	1210 doentes	Não foi encontrada qualquer associação entre o gene da IL-7 e susceptibilidade à doença.
Sombekke et al (2011)	Holanda	697 doentes	O alelo C do gene IL-7R em homozigotia está associado com um maior risco de desenvolver EM.
Lundstrom et al (2011)	Suécia	1776 doentes	Sem associação entre o gene IL-7R e a progressão da EM.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante.

5.2.6. Interleucina-10 (IL-10)

A *IL-10* humana é codificada por um *gene* no braço longo (q) do *cromossoma* 1, região 1q31–1q32. A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória secretada pelos linfócitos Th2. A IL-10 possui notáveis propriedades anti-inflamatórias, como a capacidade de inibir a produção do TNF, das interleucinas IL-1, IL-6 e IL-8, de enzimas inflamatórias produzidas por macrófagos activados e de células *natural killer*. Demonstrou-se que a IL-10 desempenha um papel, quer na indução, quer na severidade da EAE (Bettelli et al, 1998). A presença de um baixo número de células mononucleares secretoras de IL-10 e a diminuição dos níveis de IL-10 no soro de doentes com EM têm sido relatadas (Huang et al, 1999).

Em doentes com EMRR, foi demonstrado que os níveis de RNAm da IL-10 se encontravam diminuídos antes de uma recidiva; em contraste, nos doentes com EMPS foi demonstrado que os níveis de RNAm da IL-10 se mantinham baixos e inalteráveis ao longo do tempo, sugerindo assim que a IL-10 desempenha um papel importante no controlo da progressão da doença (van Boxel-Dezaire et al, 1999). Foi observado que doentes com EM têm maior propensão a desenvolver EMRR do que EMPP quando pertencem a famílias em que a produção de IL-10 é baixa (de Jong et al, 2000). Segundo Ersoy et al (2005), a capacidade de induzir a produção de IL-10 relaciona-se com o benefício do INF- β 1b no tratamento da EM (Tabela 8).

Tabela 8 – Associação dos genes IL-10 com a EM			
Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
McDonnell et al. (2000)	RU	287 doentes (177 BO, 110 PP)	Sem efeito no curso da doença.
Almeras et al. (2002)	França	153 doentes (115 PP, 38 BO)	Os genótipos IL-10.G estão associados com a progressão da doença.
de Jong et al. (2002)	Holanda	251 doentes (163 BO, 88PP)	O polimorfismo -2849 encontra-se em níveis mais baixos em doentes com EMPP que em doentes com EMRR/EMSP.
Myhr et al. (2002)	Noruega	168 doentes (135 RR, 33PP)	Não foi encontrada qualquer relação com o curso clínico.
Ersoy et al (2005)	Turquia	45 doentes RR	A capacidade do IFN- β 1b de estimular a produção de IL-10 pode trazer vantagens clínicas no tratamento da EM

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária.

5.2.7. Factor de Necrose Tumoral (TNF)

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória. Os estudos na região do gene do TNF no cromossoma 6 também são de particular interesse porque o TNF alfa (α) e o TNF beta (β) estão localizados dentro do complexo HLA, sugerindo que estes genes se podem encontrar em desequilíbrio de ligação (*Linkage desequilibrium*) com os loci do HLA-DR, que está associado com a EM.

Apenas um estudo (Braun et al, 1996), envolvendo 50 doentes, demonstrou uma associação entre o TNF- α e o curso clínico da EM (Tabela 9). Em estudos com uma amostra maior não foi encontrada qualquer associação entre os polimorfismos do gene do TNF- α e o curso clínico ou severidade da doença (Weinshenker et al, 1997; Maurer et al, 1999; Drulovic et al, 2003). Até agora os estudos não conseguiram confirmar uma associação entre marcadores microsatélites localizados nesta região e a susceptibilidade para EM, curso clínico ou severidade, a qual é independente dos alelos do MHC classe II.

Tabela 9 – Associação dos genes TNF- α com a EM

Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Braun et al. (1996)	Alemanha	50 doentes (23 RR, 21 PP, 6SP)	14% dos doentes com EMPP tinham uma mutação pontual na posição -308 em homozigotia, não encontrada nos doentes com EMRR.
Weinshenker et al. (1997)	EUA	78 doentes	Não foi encontrada qualquer associação com o curso da doença.
Maurer et al. (1999)	Alemanha	282 doentes (205 BO, 31 PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre o alelo 2 do gene do TNF- α e o curso clínico da doença.
Drulovic et al. (2003)	Sérvia	143 doentes (83 RR, 48 SP, 12PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre o alelo 2 do gene do TNF- α e o curso clínico da doença.
Kamali-Sarvestani et al. (2007)	Irão	270 doentes (199 RR, 60 SP, 11PP)	Não foi encontrada qualquer relação com o grau de incapacidade da doença.
Ristic et al. (2007)	Croácia	338 doentes (26 PP, 127SP, 185 RR)	Não há associação entre a presença do alelo 2 do gene do TNF- α e a progressão da doença.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária.

5.2.8. Apolipoproteína E (APOE)

O gene da APOE está localizado no braço longo (q) do cromossoma 19, região 19q13.2. Este gene codifica uma importante proteína transportadora de lípidos. O SNC é, a seguir ao fígado, o órgão que contém mais RNAm da APOE. A APOE possui um importante papel na regulação da homeostase lipídica e é necessária para o crescimento e regeneração de axónios e de mielina após lesão do SNC ou do Sistema Nervoso Periférico (SNP). Existem quatro isoformas da APOE ($\epsilon 1$, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$); as três isoformas mais frequentes ($\epsilon 4$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 2$) são determinadas por locus separados originando seis fenótipos.

Resultados de estudos de outras doenças neurológicas, nomeadamente da Doença de Alzheimer, sustentam a noção de que as variantes alélicas da APOE podem estar relacionadas com a severidade da doença.

Ao proporcionar uma via de apresentação de antígenos lipídicos, a APOE pode contribuir para a patogénese da EM. O papel que esta proteína poderá ter na remodelação neuronal juntamente com as observações de que na EM há uma perda axonal significativa (DeLuca et al, 2004) e que o grau de incapacidade clínica está relacionado com essa perda axonal, o gene da APOE é um candidato possível a modificador do curso clínico da EM. Conforme o referido, vários estudos tentaram comprovar a presumida influência do gene da APOE na EM (Tabela 10).

Os resultados são controversos relativamente ao papel que o gene da APOE poderá desempenhar na EM. Alguns autores relatam que a presença do alelo APOE $\epsilon 4$ está relacionada com pior prognóstico. Por outro lado, outros investigadores não encontraram qualquer associação entre este alelo e o prognóstico. Schmidt et al (2006) sugeriram que o efeito modificador de doença no cromossoma 19 não viria do gene da APOE, mas sim do gene do *Herpes Vírus Entry Mediator-B* (PVRL2), que se encontra em desequilíbrio de ligação com o gene da APOE, embora tal seja controverso (Ramagopalan et al, 2007a).

Tabela 10 – Associação do gene APOE com a EM

Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Pirttila et al. (2000)	Finlândia	105 doentes (61 RR, 17 SP, 27 PP)	Não foi encontrada qualquer associação com o curso clínico da doença.
Hogh et al. (2000)	Dinamarca	240 doentes (104 RR, 105 SP, 29 PP)	O alelo APOE ϵ 4 em homozigotia aumenta a taxa de progressão da doença.
Weatherby et al. (2000a)	RU	50 doentes PP	Não foi encontrada qualquer associação entre o alelo ϵ 4 e a evolução da EM.
Weatherby et al. (2000b)	RU	370 doentes (162 RR, 188 SP, 20 PP)	Não foi encontrada alguma associação com a severidade da doença.
Ballerini et al. (2000)	Itália	66 doentes (32PP, 34RR)	O alelo APOE ϵ 2 proporciona um início tardio na EM progressiva
Fazekas et al. (2001)	Austria	374 doentes (253 RR, 97 SP, 24PP)	O alelo APOE ϵ 4 está associado com doença grave.
Masterman et al. (2002b)	Suécia	913 doentes (124 curso clínico benigno, 140 curso clínico severo)	No significant differences in APOE genotype and benign and severe MS
Schreiber et al. (2002)	Dinamarca	70 doentes (21RR, 40SP, 10PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre o alelo APOE ϵ 4 e a progressão da doença.
Schmidt et al. (2002)	EUA	614 doentes (379 RR, 30PP, 182 SP, 19 PR)	Os portadores do alelo APOE ϵ 2 manifestam um curso clínico benigno da EM.
Savettieri et al. (2003)	Itália	428 doentes (319 RR, 90 SP, 19 PP)	Não há associação entre o alelo APOE ϵ 4 e o polimorfismo APOE -491 A/T e o curso clínico da EM.
Santos et al. (2004)	Portugal	243 doentes (34 PP, 184 outros)	O alelo APOE ϵ 4 não está associado com a progressão da doença.
Kantarci et al. (2004)	EUA	221 doentes (12 PP, 189 BO)	Mulheres portadoras do alelo APOE ϵ 2 demoram mais tempo a atingir o score 6 na EDSS (<i>Expanded Disability Status Scale</i>)
Zwemmer et al. (2004)	Holanda	408 doentes (159RR, 159SP, 90PP)	Alelos APOE ϵ 4 e ϵ 2 não estão associados com a severidade da doença.
Al-Shammri et al. (2005)	Kuwait	39 doentes (33RR, 5RP)	Não foi encontrada qualquer relação entre os polimorfismos do gene da APOE e o fenótipo clínico (contudo, notou-se uma tendência para a frequência do alelo APOE ϵ 4 aumentar com doença grave)
Cocco et al. (2005)	Sardenha	871 doentes (773 BO, 98 PP)	O risco de ter EMPP aumenta em mulheres portadoras do alelo APOE ϵ 4.
Pinholt et al. (2005)	Dinamarca	385 doentes (249 RR, 94 SP, 42 PP)	O alelo APOE ϵ 4 está associado com uma progressão mais rápida da doença.
Schmidt et al. (2006)	RU e EUA	1752 doentes (1078 RR, 495 SP, 17PR, 112PP)	O gene da APOE não tem qualquer efeito na severidade da doença.
Ramagopalan et al. (2007a)	Canadá e Sardenha	112 curso benigno, 51 maligno 62 curso benigno, 13 maligno	O gene da APOE não tem qualquer efeito na severidade da doença.
Koutsis et al. (2007)	Grécia	212 doentes (128 RR, 48 SP, 36 PP)	O gene da APOE não tem qualquer efeito na severidade da doença.
Guerrero et al. (2008)	Espanha	82 doentes (61 RR, 12 SP, 9 PP)	O gene da APOE não tem qualquer efeito na severidade da doença.
Ghaffar et al. (2010)	Canadá	50 doentes	A presença do alelo APOE ϵ 4 não está relacionada com a disfunção cognitiva em doentes com EM.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária (adaptado de Ghaffar and Feinstein, 2010).

5.2.9. Factor transformador de crescimento beta 1 (TGF- β 1)

O gene do TGF- β 1 está localizado no braço longo (q) do cromossoma 19, região 19q13. Trata-se de uma citocina pleiotrópica que nos estádios iniciais da resposta inflamatória funciona como agente quimiotáxico, e na sua resolução como imunossupressor. Em doentes com EM, a detecção de altos níveis de RNAm do TGF- β 1 em células mononucleares do sangue periférico, tem sido associada com diminuição do grau de incapacidade (Link et al, 1994) e da duração da doença (Soderstrom et al, 1995). Green et al (2001) e Weinshenker et al (2001) analisaram a associação entre o gene do TGF- β 1 e o curso clínico da doença e expuseram resultados contraditórios (Tabela 11). Segundo Meoli et al (2011) há um comprometimento das vias de sinalização do TGF- β 1 na EM, o que poderá contribuir para a patogénese da doença.

Está bem estabelecido que as citocinas desempenham um papel na imunorregulação. A concepção de que citocinas pró-inflamatórias promovem as doenças auto-imunes, enquanto que o papel das citocinas regulatórias/anti-inflamatórias seria suprimi-las, é demasiado simples para explicar os mecanismos subjacentes à patogénese da EM. Como genes candidatos promissores a modificadores da doença, as acções individuais das citocinas e as suas relações epistáticas potenciais devem ser esclarecidas no sentido de se apurar a sua influência na EM.

Tabela 11 – Associação do gene TGF- β 1 com a EM

Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Green et al (2001)	EUA	412 doentes (52 curso clínico benigno, 18 curso clínico severo)	Associação entre os doentes portadores do genótipo TGF- β 1 de tipo natural e curso clínico benigno da doença.
Weinshenker et al. (2001)	EUA	Set 1 - 122 doentes (100 BO, 14PP) Set 2 – 141 doentes	Não foi encontrada qualquer associação com o curso da doença.
Schrijver et al (2004)	Holanda	247 doentes	O polimorfismo TGF- β 1 +869C (Leu10Pro) pode estar associado com aumento da susceptibilidade à EM, especialmente em homens, e com um aumento do grau de incapacidade.
Meoli et al (2010)	EUA	25 doentes (EM não tratada)	Há um comprometimento das vias de sinalização do TGF- β 1 em doentes com EM.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (bout-onset): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária.

5.2.10. Osteopontina (OPN)

O gene da osteopontina (OPN) localiza-se no braço longo (q) do cromossoma 4, região 4q21-q25. A OPN é uma fosfoproteína que pode circular livremente nos fluidos corporais, como citocina ou então fazer parte da matriz extracelular nos tecidos mineralizados. Os níveis séricos de OPN são mais elevados em doentes com EMRR, do que em doentes com EMPP ou EMPS, sendo mais altos na fase de recidiva comparativamente à fase de remissão (Börnsen et al, 2011).

O RNAm da OPN foi encontrado em grandes quantidades nas lesões cerebrais dissecadas de doentes com EM, enquanto que no tecido cerebral dos controlos está ausente, esta descoberta foi confirmada em modelos de EAE por *análise de Microarrays* de cDNA de tecido da espinhal medula (Chabas et al, 2001). Em ratinhos a OPN aumenta a resposta pró-inflamatória dos linfócitos Th1 e inibe a resposta dos linfócitos Th2. Além disso, observou-se que ratinhos com a inativação do gene da OPN por *knockout* apresentavam um curso clínico benigno da EAE comparando com ratinhos não modificados com EAE (Jansson et al, 2002), tornando-se portanto este gene num candidato viável a modificador da expressão clínica da doença em humanos.

Tal como o sucedido no caso da IL-4, IL-6 e IL-10, a maioria dos estudos falharam ao tentar provar qualquer associação entre o gene da OPN e a EM (Tabela 12).

Tabela 12 – Associação do gene OPN com a EM			
Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Caillier et al. (2003)	EUA	821 doentes (482 RR, 227 SP, 54 PP)	Não foi encontrada qualquer associação com o curso clínico da doença.
Hensiek et al. (2003)	EUA	1056 doentes	Não foi encontrada qualquer associação com a severidade da doença.
Niino et al. (2003a)	Japão	116 doentes (81RR, 35 SP)	Não há associação entre os polimorfismos do gene OPN e a progressão da doença.
Chiocchetti et al. (2005)	Itália	425 doentes (303 RR, 89 SP, 33PP)	A presença do haplotipo A em homozigotia está relacionada com um curso clínico benigno.
Chowdhury et al (2008)	EUA	30 doentes	Não foi encontrada qualquer associação com o grau de incapacidade dos doentes.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária (adaptado de Oksenberg and Barcellos, 2005).

5.2.11. Receptor 5 da quimiocina CC (CCR5)

O gene CCR5 está localizado no braço curto (p) do cromossoma 3, região 3p21. As quimiocinas RANTES (Reguladas por Ativação Expressa e Secretada por linfócitos T Normais), as proteínas inflamatórias dos macrófagos (MIP)-1 alfa e MIP-1 beta usam o receptor das quimiocinas CCR5 nas vias de sinalização celular. As quimiocinas e os seus receptores desempenham um papel importante na quimiotaxia de várias células, entre as quais estão os leucócitos. A passagem de linfócitos T inflamatórios para o SNC é um dos passos propostos para a patogénese da EM. Dentro dos vários receptores de quimiocinas, o CCR5 tem-se destacado, por ser um receptor essencial para os linfócitos Th1. Dado que há um aumento da expressão de CCR5 em linfócitos T de doentes com EM, em comparação com indivíduos saudáveis (Strunk et al, 2000) e que há um aumento do número de CCR5 nos linfócitos CD4+ durante surtos agudos em doentes com EM, o efeito do CCR5 na evolução da EM foi investigado (Tabela 13).

Tabela 13 – Associação do gene CCR5 com a EM			
Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Sellebjerg et al. (2000)	Dinamarca	80 doentes RR	Os portadores do polimorfismo delta 32 apresentam um menor risco de recidiva da doença.
Haase et al. (2002)	Alemanha	243 doentes (117 RR, 84 SP, 42 PP)	O polimorfismo delta 32 não tem qualquer efeito no curso clínico da doença.
Kantor et al. (2003)	Israel	256 doentes (215 RR, 41 PP)	A progressão para a incapacidade foi mais demorada em portadores do polimorfismo delta 32, homo ou heterozigóticos.
Gade-Andavolu et al. (2004)	EUA	132 doentes (38 PP, 45 RR)	A frequência aumentada do alelo delta 32 está associada a morte precoce.
Pulkkinen et al. (2004)	Finlândia	89 doentes (32RR, 31SP, 26PP)	A presença do alelo delta 32 em homozigotia está aumentada em doentes com EMPP.
Silversides et al. (2004)	RU	439 doentes (331 RR e SP, 108 PP)	O polimorfismo delta 32 não tem qualquer efeito no curso clínico da doença.
Kantarci et al. (2005)	EUA	221 doentes (198 BO, 17 PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre o alelo delta 32 e a severidade da doença.
Ristic et al. (2006)	Croácia e Eslovénia	325 doentes (175 RR, 127 SP, 25 PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre o alelo delta 32 e a severidade da doença.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária (adaptado de Oksenberg and Barcellos, 2005).

As descobertas relativamente à influência do CCR5 na evolução da EM são discordantes. Os estudos com amostras maiores concluem que o CCR5 não tem qualquer efeito no curso clínico da EM (Oksenberg and Barcellos, 2005).

5.2.12. Receptor dos estrogénios 1 (ESR1)

O gene do ESR1 localiza-se no braço longo (q) do cromossoma 6, região 6q25.1.

As mulheres apresentam um maior risco de desenvolver doenças auto-imunes. Na gravidez há uma redução da frequência de surtos, especialmente no 3º trimestre e depois volta a aumentar no puerpério (Confavreux et al, 1998). Considera-se que os estrogénios afectam de forma diferente as respostas imunitárias durante a gravidez, o ciclo menstrual e o período pós-menopausa. Vários estudos têm demonstrado que os estrogénios são capazes de inibir a progressão da EAE. Os mecanismos propostos para o efeito protector incluem a inibição da migração dos linfócitos T ou modulação da secreção de citocinas. Os estrogénios actuam em receptores como o receptor de estrogénios 1, motivando especial interesse no estudo da associação entre o ESR1 e a evolução da EM (Tabela 14).

Tabela 14 – Associação do gene ESR1 com a EM			
Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Kikuchi et al. (2002)	Japão	116 doentes RR ou SP	A progressão para a incapacidade foi mais marcada nos portadores do alelo PvuII P.
Savettieri et al. (2002)	Itália	132 doentes (104 RR, 21 SP, 7 PP)	O polimorfismo não tem qualquer efeito no curso clínico da doença.
Tajouri et al (2007)	Austrália	110 doentes	Não foi encontrada qualquer associação entre os polimorfismos G594A e T938C (PvuII) e a susceptibilidade à doença.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante (adaptado de Oksenberg and Barcellos, 2005).

5.2.3. Complexo Major de Histocompatibilidade (MHC) e heterogeneidade

O MHC está inequivocamente associado com a EM (Olerup et al, 1991). O MHC tem grande parte de sua codificação genética localizada no cromossoma 6, contendo mais de 200 genes.

Os genes do MHC estão presentes em todos os vertebrados, sendo que no homem recebem a designação de HLA (*Human Leukocyte Antigens*), por terem sido inicialmente identificados nos leucócitos. Os genes HLA são os mais polimórficos do genoma humano e centenas de alelos já foram descritos. Estas moléculas influenciam numerosas funções imunológicas, incluindo a seleção dos linfócitos T, indução de tolerância, produção de anticorpos, imunidade mediada por linfócitos T, respostas inflamatórias e diversos outros factores ligados ao sistema imunitário e ao seu funcionamento.

Os genes do sistema MHC têm uma estrutura semelhante e a maioria das sequências reguladoras estão localizadas no braço curto (p) do cromossoma 6. Os investigadores identificaram aproximadamente 224 locus genéticos com 4,5 megabases de DNA nas regiões do MHC. Destes, 180 genes possivelmente são expressos e cerca de 40% têm alguma função no sistema imunitário. Esta região foi uma das primeiras “multimegabase” do genoma humano a ser completamente sequenciada. Além disso, ela codifica a mais polimórfica das proteínas humanas, a classe I e II do MHC, tendo algumas mais de 200 variações alélicas.

Os produtos dos genes HLA de classe I e de classe II são glicoproteínas de membrana, cuja função primordial é a apresentação de antígenos na superfície das células e, em última análise, a regulação das respostas imunes.

Surpreendentemente, desde a primeira associação entre o MHC e a EM descrita há cerca de 30 anos (Jersild et al, 1972), os progressos no sentido de identificar os alelos com influência na EM têm evoluído lentamente.

O locus mais importante e que confere maior risco na susceptibilidade à EM está localizado dentro da região de classe II do MHC (Chao et al, 2008).

Os estudos iniciais demonstraram uma associação entre a EM e os antígenos HLA-A3 e HLA-B7 de classe I (Jersild et al, 1972), contudo estudos posteriores indicaram a existência de associações mais fortes com a região de classe II, envolvendo principalmente as sub-regiões DR e DQ (Lincoln et al, 2009).

Como a associação entre o HLA-DRB1 e a susceptibilidade à EM é definitiva, vários estudos têm-se focado no papel que este haplótipo poderá desempenhar como modificador da expressão da doença, contudo os resultados destes estudos têm sido contraditórios (Tabela 15).

Nos Europeus do Norte, regiões do genoma (loci) relacionadas com a susceptibilidade à doença foram mapeadas – haplótipo HLA classe II (DQA1*0102-DQB1*0602-DRB1*1501-DRB5*0101) (Lincoln et al, 2009). Contudo populações com outras características étnicas apresentam diferentes associações alélicas do HLA-DRB1 com a EM. Em doentes com EM naturais da Sardenha, foi encontrada uma associação com os alelos HLA-DRB1*1501, DRB1*0301 (DRB1*17) e DRB1*0405 (Marrosu et al, 2001). Nas ilhas Canárias e na Turquia a EM está associada com o alelo HLA-DR4 (Corradu et al, 1998; Saruhan-Direskeneli et al, 1997). Existem pelo menos duas explicações para justificar a variedade alélica observada. Em primeiro lugar, pode existir uma espécie de hierarquia entre os haplótipos do HLA-DRB1, que influenciará directamente o risco de doença em graus diferentes (Dyment et al, 2005). Em segundo lugar, poderá existir outra variante genética na proximidade e estar presente em todos os haplótipos do HLA-DRB1 associados.

Mesmo entre indivíduos com EM que apresentam uma região de susceptibilidade comum há uma acentuada heterogeneidade clínica, com manifestações clínicas e evolução da doença substancialmente diferentes de doente para doente. Há dados que permitem afastar a

noção de que a susceptibilidade relacionada com o MHC provém apenas de um alelo HLA-DRB1*1501 de classe II (Ramagopalan et al, 2007a; Ramagopalan et al, 2007b); existe uma hierarquia de susceptibilidade e resistência dentro dos haplótipos do HLA-DRB1 e é o genótipo completo do HLA-DRB1 que determina o risco (Dyment et al, 2005). Dado que a susceptibilidade e a evolução clínica na EM podem estar intrinsecamente ligadas, a variação na região MHC poderá afectar ambas.

Têm surgido evidências de que dois dos principais haplótipos, HLA-DR2 e HLA-DR3, possam desempenhar um papel na evolução da doença, embora algum relevo tenha também sido dado aos haplótipos HLA-DR1 e HLA-DR4. Masterman et al (2000) sugeriram que o HLA-DRB1*15 estaria associado com um início mais precoce da doença, embora não tenham encontrado evidência de que qualquer alelo HLA-DRB1 influenciasse o curso clínico. A investigação inicial do HLA-DR2 por Barcellos et al (2002) não demonstrou nenhum efeito do haplótipo no curso clínico da doença, embora posteriormente se tenha evidenciado que a presença de homozigotia para o alelo HLA-DR2 se associava a doença mais severa (Barcellos et al, 2003).

É importante, contudo, considerar que os estudos realizados por Barcellos et al (2002) e Barcellos et al (2003) não examinaram todos os alelos do locus HLA-DR quando da sua realização. Estudos genéticos de associação não detectam interacções epistáticas a menos que especificamente procuradas.

De la Concha et al (1997) sugeriram uma associação entre o alelo HLA-DR2 e o tipo clínico RR, sendo esta associação apenas válida para mulheres.

Outro haplótipo que também pode actuar como modificador do curso da doença é o HLA-DR3. Van Lambalgen et al (1986) relataram a associação entre este locus e o tipo clínico PP. Segundo Runmarker et al (1994) há uma associação entre a presença do alelo HLA-DRB1*17 e o curso clínico severo da doença na população sueca. Pelo contrário, Olerup et al (1989)

sugeriram uma associação entre o alelo DRB1*17 e o tipo clínico RR. Hillert et al. (1992) e Duquette et al. (1985) reforçam a ideia de que o haplótipo HLA-DR3 (DRB1*17) tem um papel favorável no curso clínico da EM.

Tabela 15 – Associação dos haplótipos do HLA com a EM

Estudo	País	Tamanho da amostra	Resultados
Van Lambalgen et al. (1986)	Holanda	54 doentes (31 RR, 23 PP)	B8-DR3 e B35-DR1 estão aumentados na EMPP. DR2 está associado com a EMRR, em mulheres.
British and Dutch Azathioprine Trial Group (1988)	RU	283 doentes (196 RR, 87 PP)	Sem relação entre a severidade da doença e qualquer alelo do HLA.
Olerup et al. (1989)	Suécia	100 doentes (74 RR, 26 PP)	O tipo clínico PP está associado com os haplótipos DR4, DQ8; DR7,DQw9 e DRw8,DQw4. O tipo clínico RR está associado com o haplótipo DRw17,DQw2.
Hillert et al. (1992)	Noruega	62 doentes (42 RR, 20 PP)	O haplótipo DRw17,DQw2 é mais comum em doentes com EMRR.
Runmarker et al. (1994)	Suécia	121 doentes (14 PP, 102 RR)	O haplótipo DR17-DQ2 está presente em ¼ dos doentes com curso clínico maligno.
de la Concha et al. (1997)	Espanha	135 doentes (113 RR, 22 PP)	O alelo DRB1*1501 é significativamente mais comum em doentes com o tipo clínico RR.
Weinshenker et al. (1998)	EUA	119 doentes (12 PP, 107 BO)	Não foi encontrada uma associação clara entre o curso clínico da EM e o MHC.
Celius et al. (2000)	Noruega	286 doentes (220 RR, 60 PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre o tipo clínico de EM e os alelos DR2 ou DQ6.
Masterman et al. (2000)	Suécia	948 doentes (727 BO, 85 PP)	Nenhum dos alelos do DRB1 foi associado com o curso ou evolução clínica dos doentes.
Barcellos et al. (2002)	EUA	473 doentes (37 curso clínico benigno, 19 curso clínico severo)	Não foi encontrada qualquer associação entre o alelo DR2 e o sub-grupo clínico.
Hensiek et al. (2002)	RU	729 doentes (660 BO, 69 PP)	Não há associação entre o DRB1*1501 e a evolução da EM.
Villoslada et al. (2002)	Espanha	202 doentes (141 RR, 26 SP, 20 PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre o curso clínico e o DR2.
Barcellos et al. (2003)	EUA	808 doentes (487 RR, 235 SP)	A presença de homozigotia para o gene DR2 está associada com aumento da severidade da doença.
Ballerini et al. (2004)	Itália	609 doentes (541 RR, 68 PP)	Não há influência do DRB1 no curso clínico da doença.
Fernandez et al. (2004)	Espanha	149 doentes (87 RR, 48 SP, 14 PP)	Não foi encontrada qualquer associação entre os alelos do HLA classe II e as características clínicas da EM.
Greer and Pender (2005)	Austrália	121 doentes (50 PP, 71 BO)	Os alelos do HLA-DRB1 que codificam moléculas contendo o ácido glutâmico na posição beta1(71) /beta1(74) estão associados com a EMPP.
Barcellos et al. (2006)	RU, EUA, Espanha e Itália	2201 doentes (2072 RR/SP)	O genótipo HLA-DRB1*15 não tem influência no curso clínico da doença.
Silva et al. (2007)	Portugal	248 doentes (179 RR, 51 SP, 18 PP)	O alelo DRB1*15 está associado com um curso clínico benigno da doença.
Smestad et al. (2007)	Suécia e Noruega	1457 doentes (1281 RR, 164 PP)	Os alelos do HLA-DRB1 não influenciam o curso clínico da EM.
DeLuca et al. (2007)	Canadá e Sardenha	112 curso clínico benigno, 51 maligno 62 curso clínico benigno, 13 maligno	O alelo DRB1*01 é protector de doença severa.
Bergamaschi et al (2010)	Itália	1273 doentes	O polimorfismo HLA-Cw*05 comporta-se como alelo de risco ou alelo com função protectora consoante a ausência ou presença do alelo HLA-A*02, respectivamente.

RR: EM Recidivante/Remitente; SP: EM Progressiva Secundária; PP: EM Progressiva Primária; PR: EM Progressiva/Recidivante; BO (*bout-onset*): EM Recidivante/Remitente e EM Progressiva Secundária (adaptado de Disanto et al, 2010)

5.3. Estudos de associação tipo “genome wide association scans” (GWAs)

Para compreender de que forma as variantes genéticas contribuem para a diversidade fenotípica de uma doença, foram iniciados vários estudos de larga escala que identificaram associações estatísticas em muitos *loci* do genoma humano em doenças complexas.

Os contínuos avanços nas tecnologias de genotipagem e o aparecimento de melhores algoritmos de análise contribuíram para que os GWAs se tornassem possíveis. Estes são estudos que exploram as relações entre as variantes genéticas comuns (SNPs) ao longo de todo o genoma e a predisposição à doença, com o objectivo de mapear regiões de susceptibilidade. A interpretação dos resultados tem permitido identificar novos loci de susceptibilidade, novos mecanismos biológicos e compreender mais sobre a complexidade das relações entre a componente genética e a heterogeneidade fenotípica.

Muitos dos desafios que se colocam nos próximos anos será a identificação de sinais de associação e, talvez mais relevante, definir os mecanismos moleculares que influenciam o risco de susceptibilidade à doença e/ou a expressão fenotípica (McCarthy et al, 2008). Os GWAs são mais um gerador de hipóteses do que um método que testa uma hipótese (Seng and Seng, 2008). É importante reconhecer que não é esperado encontrar todas as variantes causais, mas sim encontrar padrões de variantes causais comuns na população de casos em relação aos controlos (Manolio et al, 2009).

É indiscutível o papel destes estudos nas doenças complexas, como a EM, no seu grande contributo na identificação de novas variantes de susceptibilidade, nos esforços feitos para o recrutamento de maiores amostras populacionais, identificação de regiões de desequilíbrio de ligação (*Linkage disequilibrium*) e SNPs no genoma, no desenvolvimento de novas e melhores plataformas tecnológicas e novas metodologias de análise bioinformática (McCarthy et al, 2008; Manolio et al, 2009).

Comparativamente aos estudos de *linkage* e de genes candidatos, os GWAs têm um maior poder e eficácia no rastreio do genoma humano, utilizando centenas de milhares de SNPs em milhares de indivíduos, tornando-se uma das ferramentas de investigação da arquitectura genética da EM desde há cerca de 4 anos.

Hafler et al (2007) realizou um dos primeiros GWAs no âmbito da EM, resultando na confirmação do gene do receptor da Interleucina-7 (IL-7R) como gene modificador na EM e na identificação de outras associações genéticas. Este GWAs permitiu ainda identificar outro gene, o gene do receptor da Interleucina-2 (IL-2R), como um possível locus de influência na EM (Tabela 16). Com base nos resultados dos GWAs realizados, outros genes, como o CLEC16A e o CD226, foram identificados e associados com a EM (*International Multiple Sclerosis Genetics Consortium*, 2009).

ID	Reference	Study population	Gene chip	Original sample	Replication sample	Phenotypes	Most significant non-HLA associations in the original genome scan/after replication
1	Hafler et al., 2007 [13]	UK/US (International MS Genetic Consortium)	500 K	931 trios	1540 trios, 2322 cases and 5418 controls	MS	<i>IL2RA</i> rs12722489: $p = 2.96 \times 10^{-8}$ rs2104286: $p = 2.16 \times 10^{-7}$ <i>IL7RA</i> rs6897932: $p = 2.94 \times 10^{-7}$ 13q31.3 (unnotated region) rs1327328: $p = 7 \times 10^{-4}$
2	Comabella et al., 2008 [65]	Spanish	500 K	242 cases and 242 controls (pooled analysis)	275 cases and 275 controls (US)	MS	rs6897932: $p = 2.94 \times 10^{-7}$ 13q31.3 (unnotated region) rs1327328: $p = 7 \times 10^{-4}$
3	Aulchenko et al., 2008 [66]	Dutch	500 K	45 cases and 195 controls	2634 cases and 2930 controls	MS	<i>KIF1B</i> rs10492972: $p = 4 \times 10^{-4}$
4	Baranzini et al., 2009	European (Gene MSA consortium)	500 K	978 cases and 883 controls	–	MS Age of onset MS severity	<i>GPC5</i> rs9523762: $p = 1 \times 10^{-5}$
5	The Australia and New Zealand MS Genetics consortium, 2009 [32]	Australian/New Zealand (ANZgene)	370 K	1618 cases and 3413 controls (UK/US)	2256 cases and 2310 controls	MS	12q13–14 rs703842: $p = 5.4 \times 10^{-11}$ 20q13 rs6074022: $p = 1.3 \times 10^{-7}$
6	Jakkula et al., 2010 [67]	Finnish	300 K	68 cases and 136 controls from a high-risk isolate	3859 cases and 9110 controls	MS	<i>STAT3</i> rs744166: $p = 2.75 \times 10^{-10}$
Meta-analysis:							
7	De Jager et al., 2009 [68]	GWAS 1, 4 and 860 additional US cases	500 K	2624 cases and 7220 controls	2215 cases and 2116 controls	MS	<i>TNFRSF1A</i> rs1800693: $p = 1.59 \times 10^{-11}$ <i>IRF8</i> rs17445836: $p = 3.73 \times 10^{-9}$ <i>CD6</i> rs17824933: $p = 3.79 \times 10^{-9}$
Pharmacogenetic studies:							
8	Buyn et al., 2008 [53]	Spanish/French	100 K (pooled DNA samples)	206 rrMS patients (99 responders and 107 non-responders)	Joint analysis: original sample plus 81 additional rrMS patients	Response to IFNb	<i>HALPN1</i> rs4466137: $p = 0.004$ <i>GPC5</i> rs10492503: $p = 0.007$
9	Comabella et al., 2009 [55]	Spanish	500 K (pooled DNA samples)	106 rrMS patients (53 responders and 53 non-responders)	94 rrMS patients (49 responders and 45 non-responders)	Response to IFNb	<i>GRIA3</i> rs12557782: $p = 0.002$ <i>CIT</i> rs7308076: $p = 0.003$

Tabela 16 – GWAs na EM (adaptado de Hoffjan et al, 2010)

5.4. Farmacogenómica

A farmacogenómica consiste no estudo das variações ao nível do genoma e da forma como estas controlam os efeitos terapêuticos num indivíduo. Se se falar de uma alteração ou variação específica de um gene, e da forma como essa situação afecta a resposta terapêutica do indivíduo, falamos em farmacogenética (Shin et al, 2009).

Estudos recentes indicaram que a resposta à terapêutica em doentes com EM varia substancialmente de indivíduo para indivíduo, sendo que a terapêutica não deve ser instituída no sentido de tratar a doença, mas sim no sentido de tratar o doente (Miller et al, 2008).

Os investigadores acreditam que o perfil genético individual é a chave para a terapêutica individualizada, o que permitirá aumentar a efectividade da terapêutica e reduzir os problemas relacionados com a segurança (Evans et al, 2003).

As diferenças interindividuais podem fazer com que as doses terapêuticamente recomendadas sejam inesperadamente elevadas ou baixas (conforme o perfil genético), causando um efeito tóxico, no primeiro caso, ou não registando efectividade terapêutica, no segundo caso (Evans et al, 2003); estas diferenças podem ainda ser responsáveis pelo desenvolvimento de efeitos adversos medicamentosos. Cabe, portanto, à farmacogenómica o esclarecimento de tais variações genéticas nas respostas individuais aos fármacos.

Os estudos farmacogenómicos na EM têm-se focado na resposta terapêutica ao Interferão-beta (IFN- β) recombinante, uma terapêutica-padrão utilizada na EMRR. O IFN- β possui actividade anti-viral, anti-proliferativa e pró-apoptótica, e, em alguns doentes, reduz, efectivamente, os sintomas e atrasa a progressão da doença (Miller et al, 2008). No entanto, cerca de 50% dos doentes não respondem adequadamente ao IFN- β , e alguns desenvolvem efeitos adversos graves (Miller et al, 2008). Assim, a selecção de potenciais respondedores ou não-respondedores antes desta dispendiosa terapêutica ser instituída, seria o melhor quer para os doentes, quer para os médicos.

Até recentemente, os estudos farmacogenómicos na EM baseavam-se na proposta de um gene candidato, seguido da comparação das variações alélicas desse gene encontradas entre os indivíduos respondedores e não-respondedores à terapêutica. Ainda que algumas associações significativas tenham sido reportadas, a replicação destes resultados em estudos posteriores era raramente conseguida. Uma das principais causas poderá ser a falta de critérios definidos para cada categoria, respondedores vs não-respondedores (Miller et al, 2008). Para além disso, poderá ser difícil fazer a distinção entre verdadeiros respondedores à medicação e indivíduos com um curso clínico benigno *ab initio* que não iriam ter surtos, mesmo sem a terapêutica.

Recentemente, os dois primeiros estudos de associação tipo GWAs sobre a resposta ao tratamento com o IFN- β em doentes com EM foram publicados (Tabela 15). Apesar dos problemas em definir com precisão a resposta clínica serem os mesmos supracitados, foram feitas algumas descobertas interessantes. Em 2007, Byun et al demonstraram que dois genes poderiam estar intrinsecamente implicados na resposta ao tratamento com INF- β : o gene de uma proteína de ligação aos proteoglicanos (HAPLN1) e o gene do glipicano 5 (GPC5) (Tabela 15). Um estudo posterior de replicação destes resultados confirmou o envolvimento do gene GPC5, contudo falhou na associação para o gene HAPLN1 (Cenita et al, 2009). Um segundo GWAs (Comabella et al, 2009) demonstrou uma associação significativa entre a resposta ao tratamento e um SNP do gene GRIA3, que codifica um receptor do glutamato tipo AMPA e se localiza no cromossoma X; esta associação positiva foi apenas encontrada em mulheres e não em homens (Comabella et al, 2009). De facto, este GWAs providenciou a primeira evidência de uma potencial associação entre genes codificadores de canais acoplados a neurotransmissores e a resposta ao tratamento com o IFN- β . No entanto, estudos posteriores de replicação serão necessários para verificar estes resultados preliminares e ainda há, forçosamente, muitos aspectos a clarificar antes destas descobertas se tornarem clinicamente relevantes.

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

A EM é uma doença desmielinizante, inflamatória e crónica do SNC, bastante complexa. A sua etiologia não é bem compreendida, todavia inúmeros estudos epidemiológicos demonstraram a existência de uma base genética na EM.

A agregação familiar serve de ponto de partida para a compreensão de doenças que são influenciadas por factores genéticos. Relativamente à EM, foi comprovado que o risco de desenvolvimento da doença é significativamente superior em familiares de doentes, comparativamente com a população em geral (Sadovnick et al, 1988). Os indivíduos com EM têm 10 a 20 % de probabilidade de terem um parente afectado, uma percentagem significativa que não seria de esperar se a doença não tivesse qualquer componente genético. Para além disso é de referir que a EM é mais prevalente em certos grupos étnicos, na raça Caucasóide, mesmo controlando o efeito da latitude.

No entanto, sabe-se que a transmissão da doença não seguirá o modelo Mendeliano, facto apoiado pelos estudos em gémeos monozigóticos, em que apenas em 25-30 % dos casos, ambos tinham EM (Sadovnick et al, 1993).

Apesar da vasta quantidade de dados, poucos progressos foram feitos na identificação de genes relevantes na EM. Até agora, não foram encontrados quaisquer genes ou variantes alélicas que estivessem presentes em todos os indivíduos com EM, e os polimorfismos que foram associados com a EM foram também identificados em indivíduos saudáveis.

Logo, a susceptibilidade para desenvolver a EM não envolverá alterações em genes, individualmente, mas sim em vários genes, interagindo entre si, cada um exercendo um efeito de leve a moderado. A EM terá, portanto, uma base poligénica com a presença de interacções epistáticas.

Durante mais de 30 anos, um único locus de risco foi comprovadamente associado à EM, o locus do MHC classe II, localizado no cromossoma 6p21, particularmente, os polimorfismos HLA-DR15 (alelo DRB1*1501) e HLA-DQ6. O polimorfismo HLA-DR15 é comum na raça

Caucasóide, havendo outros polimorfismos mais frequentes noutros grupos étnicos. Apesar da associação entre o MHC e a susceptibilidade à EM estar bem estabelecida, a maior parte dos factores genéticos que influenciam a doença estão por explicar. Alguns *loci* poderão estar associados com os eventos patogénicos iniciais, enquanto que outros podem influenciar a evolução clínica e a progressão da doença.

Recentemente, ocorreram progressos notáveis no desenvolvimento de novas tecnologias, para abordagem da complexa e intrincada base genética das doenças complexas, como a EM; um exemplo a referir são os GWAs, que permitiram associar a EM com outros genes, ainda que de menor efeito, como os genes do IL-7R e do IL-2R.

Até à data, os GWAs detectaram quase exclusivamente variantes alélicas comuns (frequência do alelo menos comum > 5%). Contudo as variantes menos comuns poderão também ter um papel preponderante na EM (Manolio et al, 2009). Uma avaliação mais abrangente das variantes raras tornou-se tecnicamente possível com a nova geração de técnicas de sequenciamento genético (Mardis et al, 2008). De facto, o “1000 Genome Project” já teve início, sendo o seu objectivo o sequenciamento dos genomas de pelo menos 1000 indivíduos de várias regiões do mundo, no sentido de criar uma base de dados pública dos polimorfismos humanos, no fundo, um catálogo funcional da variabilidade genética. O conhecimento mais detalhado dos fundamentos genéticos inerentes à EM poderá beneficiar deste projecto e das possibilidades analíticas que daí advêm.

Num futuro próximo, uma melhor compreensão dos fundamentos genéticos da EM poderá auxiliar a antever a susceptibilidade à EM, como parte de um algoritmo de diagnóstico, ou na identificação de indivíduos com elevado risco de desenvolver a doença.

Outra perspectiva de grande interesse, pela sua relevância na prática clínica, será o desenvolvimento da farmacogenómica. O desenvolvimento de uma medicina individualizada, em que o perfil genético do doente permitirá seleccionar o fármaco ideal, revolucionará o tratamento e a evolução da EM.

7. BIBLIOGRAFIA

Aggelakis K, Zacharaki F, Dardiotis E, Xiromerisiou G, Tsimourtou V, Ralli S, Gkaraveli M, Bourpoulas D, Rodopoulou P, Papadimitriou A, Hadjigeorgiou G (2009). Interleukin-1 Band interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in Greek multiple sclerosis (MS) patients with bout-onset MS. *Neurol Sci* 31(3):253-7.

Almeras L, Meresse B, Seze J, De Lefranc D, Dubucquoi S, Fajardy I, Vermersch P, Prin L (2002) Interleukin-10 promoter polymorphism in multiple sclerosis: association with disease progression. *Eur Cytokine Netw* 13:200–206.

Alonso A, Hernan MA (2008) Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review. *Neurology* 71(2):129-35.

Barcellos LF, Oksenberg JR, Green AJ, Bucher P, Rimmler JB, Schmidt S, Garcia ME, Lincoln RR, Pericak-Vance MA, Haines JL, Hauser SL (2002) Genetic basis for clinical expression in multiple sclerosis. *Brain* 125:150–158.

Barcellos LF, Oksenberg JR, Begovich AB, Martin ER, Schmidt S, Vittinghoff E, Goodin DS, Pelletier D, Lincoln RR, Bucher P, Swerdlin A, Pericak-Vance MA, Haines JL, Hauser SL (2003) HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. *Am. J. Hum. Genet* 72:710–716.

Bettelli E, Das MP, Howard ED, Weiner HL, Sobel RA, Kuchroo VK (1998) IL-10 is critical in the regulation of autoimmune encephalomyelitis as demonstrated by studies of IL-10- and IL-4-deficient and transgenic mice. *J Immunol* 161:3299–3306.

Bilinska M, Frydecka I, Noga L, Dobosz T, Zoledziewska M, Suwalska K, Tutak A, Pokryszko-Dragan A (2004). Progression of multiple sclerosis is associated with exon 1 CTLA-4 gene polymorphism. *Acta Neurol Scand* 110:67–71.

Börnsen L, Khademi M, Olsson T, Sørensen PS, Sellebjerg F (2011) Osteopontin concentrations are increased in cerebrospinal fluid during attacks of multiple sclerosis. *Mult Scler* 17(1):32-42.

Borzani I, Tola MR, Caniatti L, Collins A, De Santis G, Luiselli D, Mamolini E, Scapoli C (2010). The interleukin-1 cluster gene region is associated with multiple sclerosis in an Italian Caucasian population. *Eur J Neurol* 17(7):930-8.

Braun N, Michel U, Ernst BP, Metzner R, Bitsch A, Weber F, Rieckmann P (1996) Gene polymorphism at position-308 of the tumor-necrosis-factoralpha (TNF-alpha) in multiple sclerosis and its influence on the regulation of TNF-alpha production. *Neurosci Lett* 215: 75–78.

Byun E, Caillier SJ, Montalban X, Villoslada P, Fernandez O, Brassat D, Comabella M, Wang J, Barcellos LF, Baranzini SE, Oksenberg JR (2008) Genome-wide pharmacogenomic analysis of the response to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 65:337-44.

Cenit MD, Blanco-Kelly F, de las Heras V, Bartolome M, de la Concha EG, Urcelay E, Arroyo R, Martínez A (2009) Glypican 5 is an interferon-beta response gene: a replication study. *Mult Scler* 15:913-7.

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 (2001) The influence of the

proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease. *Science* 294(5547):1731-5.

Chao MJ, Barnardo MC, Lincoln MR, Ramagopalan SV, Herrera BM, Dyment DA, Montpetit A, Sadovnick AD, Knight JC, Ebers GC (2008) HLA class I alleles tag HLA-DRB1*1501 haplotypes for differential risk in multiple sclerosis susceptibility. *Proc Natl Acad Sci USA* 105(35):13069-13074.

Colhoun HM, McKeigue PM, Davie-Smith G (2003) Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 361: 865–72.

Comabella M, Craig DW, Morcillo-Suarez C, Rio J, Navarro A, Fernandez M, Martin R, Montalban X (2009) Genome-wide scan of 500,000 single-nucleotide polymorphisms among responders and nonresponders to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 66:972-8.

Confavreux, Vukusic (2006) The natural history of Multiple Sclerosis. *Rev Prat.* 56(12):1313-1320.

Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM, Cortinovis-Tourniaire P, Moreau T (1998) Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. *Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. N Engl J Med* 339:285–291.

Corradu F, Reyes Yanez MP, Parra A, Gray J, Smith SI, Taylor CJ, Compston DA (1998) HLA associations with multiple sclerosis in the Canary Islands. *J Neuroimmunol* 87:130–35.

Cottrell DA, Rice GPA, Hader W, Baskerville J, Koopman WJ, Ebers GC (1999) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study, 5: the clinical features and natural history of primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 122:625–39.

de Jong BA, Schrijver HM, Huizinga TW, Bollen EL, Polman CH, Uitdehaag BM, Kersbergen MC, Sturk A, Westendorp RG (2000) Innate production of interleukin-10 and tumor necrosis factor affects the risk of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 48:641–646.

de Jong BA, Westendorp RG, Eskdale J, Uitdehaag BM, Huizinga TW (2002) Frequency of functional interleukin-10 promoter polymorphism is different between relapse-onset and primary progressive multiple sclerosis. *Hum Immunol* 63:281–285.

de la Concha EG, Arroyo R, Crusius JB, Campillo JA, Martin C, Varela de Seijas E, Pena AS, Claveria LE, Fernandez-Arquero M (1997) Combined effect of HLA-DRB1*1501 and interleukin-1 receptor antagonist gene allele 2 in susceptibility to relapsing/remitting multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 80:172–178.

De Sá J, Paulos A, Mendes H, Becho J, Marques J, Roxo J (2006) The prevalence of Multiple Sclerosis in the District of Santarém, Portugal. *J Neurol* 253:914-918.

DeLuca GC, Ebers GC, Esiri MM (2004) Axonal loss in multiple sclerosis: a pathological survey of the corticospinal and sensory tracts. *Brain* 127:1009–1018.

Diab A, Zhu J, Xiao BG, Mustafa M, Link H (1997) High IL-6 and low IL-10 in the central nervous system are associated with protracted relapsing EAE in DA rats. *J Neuropathol Exp Neurol* 56:641–650.

Disanto G, Berlanga AJ, Handel AE, Para AE, Burrell AM, Fries A, Handunnetthi L, De Luca G, Morahan JM (2010) Heterogeneity in multiple sclerosis: scratching the surface of a complex disease. *Autoimmune Dis.* 2011:932351.

Drulovic J, Popadic D, Mesáros S, Dujmovic I, Cvetkovic I, Miljkovic D, Stojavljevic N, Pravica V, Pekmezovic T, Bogdanovic G, Jarebinski M, Mostarica Stojkovic M (2003)

Decreased frequency of the tumor necrosis factor alpha -308 allele in Serbian patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol* 50:25–29.

Duquette P, Decary F, Pleines J, Boivin D, Lamoureux G, Cosgrove JB, Lapierre Y (1985) Clinical sub-groups of multiple sclerosis in relation to HLA: DR alleles as possible markers of disease progression. *Can J Neurol Sci* 12:106–110.

Duquette P, Murray TJ, Pleines J, Ebers GC, Sadovnick D, Weldon P, Warren S, Paty DW, Upton A, Hader W (1987) Multiple Sclerosis in childhood: clinical profile in 125 patients. *J Pediatr* 111:359-363.

Dyment D, Ebers G, Sadovnik A (2004) Genetics of multiple sclerosis. *The Lancet Neurology* 3:104-110.

Dyment DA, Herrera BM, Cader MZ, Willer CJ, Lincoln MR, Sadovnick AD, Risch N, Ebers GC (2005). Complex interactions among MHC haplotypes in Multiple Sclerosis: susceptibility and resistance. *Hum.Mol. Genet.* 14:2019–2026.

Dyment DA, Ebers GC (2007) Microsatellites and genome scans - a GAMES postscript. *J Neuroimmunol* 190:5–7.

Ebers GC, Bulman DE, Sadovnick AD, Paty DW, Warren S, Hader W, Murray TJ, Seland TP, Duquette P, Grey T (1986) A population-based study of multiple sclerosis in twins. *New Engl J Med* 315: 1638–42.

Ebers GC, Sadovnick AD, Risch NJ, and the Canadian Collaborative Study Group (1995) A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. *Nature* 377: 150–51.

Ebers GC, Yee IML, Sadovnick AD, Duquette P and the Canadian Collaborative Study Group (2000) Conjugal multiple sclerosis: population-based prevalence and recurrence risks in offspring. *Ann Neurol* 48: 927–31.

Ersoy E, Kuş CN, Sener U, Coker I, Zorlu Y (2005) The effects of interferon-beta on interleukin-10 in multiple sclerosis patients. *Eur J Neurol* 12(3):208-11.

Evans W, McLeod H (2003) Pharmacogenomics - Drug Disposition, Drug Targets and Side Effects. *The New England Journal of Medicine* 348:538-49.

Falcone M, Rajan AJ, Bloom BR, Brosnan CF (1998) A critical role for IL-4 in regulating disease severity in experimental allergic encephalomyelitis as demonstrated in IL-4-deficient C57BL/6 mice and BALB/c mice. *J Immunol* 160:4822–4830.

Feakes R, Sawcer S, Broadley S, Corradu F, Roxburgh R, Gray J, Clayton D, Compston A (2000) Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 105:96–101.

Fedetz M, Matesanz F, Pascual M, Martin J, Fernandez O, Guerrero M, Alcina A (2001) The -174/-597 promoter polymorphisms in the interleukin-6 gene are not associated with susceptibility to multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 190:69–72.

Frei K, Fredrikson S, Fontana A, Link H (1991) Interleukin-6 is elevated in plasma in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 31:147–153.

Galton F (1883) “History of twins” in human faculty and its development. London: McMillan and Co.

Ghaffar O, Feinstein A (2010) APOE epsilon4 and cognitive dysfunction in multiple sclerosis: a review. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 22(2):155-65.

Gottesman I (1994) Complications to the complex inheritance of schizophrenia. *Clin Genet* 46: 116–23.

Goverman J (2009) Autoimmune T cell responses in the central nervous system. *Nat Rev Immunol* 9(6):393-407.

Green AJ, Barcellos LF, Rimmler JB, Garcia ME, Caillier S, Lincoln RR, Bucher P, Pericak-Vance MA, Haines JL, Hauser SL, Oksenberg JR (2001) Sequence variation in the transforming growth factor-beta1 (TGFB1) gene and multiple sclerosis susceptibility. *J Neuroimmunol* 116:116–124.

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 (2007) Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med* 357:851-62.

Hauser SL, Goodin DS (2005) Multiple sclerosis and other demyelinating diseases. In: *Harrison's Principle of Internal Medicine Sixteenth Edition*, D.L. Kasper, E. Braunwald, A.D. Fauci, S.L. Hauser, D.L. Longo, and J.L. Jameson, eds. (New York: McGraw Hill), pp. 2461–2471.

Heggarty S, Suppiah V, Silversides J, O'doherty C, Droogan A, McDonnell G, Hawkins S, Graham C, Vandenbroeck K (2007) CTLA4 gene polymorphisms and multiple sclerosis in Northern Ireland. *J Neuroimmunol* 187(1-2):187-91.

Heidari A, Noori Dalooi MR, Keramatipour M, Rashikinezhad A, Sahmani AA, Amirzargar AA (2010). CTLA-4 gene polymorphisms (-318C/T, +49A/G, +6230A/G) in Iranian patients with multiple sclerosis. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 9(4):219-23.

Herrera BM, Ramagopalan SV, Lincoln MR, Orton SM, Chao MJ, Sadovnick AD, Ebers GC (2008). Parent-of-origin effects in MS: observations from avuncular pairs. *Neurology* 71(11):799-803.

Hillert J, Gronning M, Nyland H, Link H, Olerup O (1992) An immunogenetic heterogeneity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 55:887–890.

Hjelmström P, Juedes AE, Fjell J, Ruddle NH (1998) B-cell-deficient mice develop experimental allergic encephalomyelitis with demyelination after myelin oligodendrocyte glycoprotein sensitization. *J Immunol* 161(9):4480-4483.

Hoffjan S, Akkad DA (2010) The genetics of multiple sclerosis: an update 2010. *Mol Cell Probes* 24(5):237-43.

Huang WX, Huang P, Link H, Hillert J (1999) Cytokine analysis in multiple sclerosis by competitive RT-PCR: a decreased expression of IL-10 and an increased expression of TNF-alpha in chronic progression. *Mult Scler* 5:342–348.

International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (2009) The expanding genetic overlap between multiple sclerosis and type I diabetes. *Genes Immun* 10(1):11–4.

Jansson M, Panoutsakopoulou V, Baker J, Klein L, Cantor H (2002) Cutting edge: attenuated experimental autoimmune encephalomyelitis in eta-1/osteopontin-deficient mice. *J Immunol* 168:2096–2099.

- Jersild C, Svejgaard A, Fog T (1972) HLA antigens and multiple sclerosis. *Lancet* 2:1240–41.
- Kamali-Sarvestani E, Nikseresht A, Aflaki E, Sarvari J, Gharesi-Fard B (2007) TNF-alpha, TNF-beta and IL-4 gene polymorphisms in Iranian patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 115:161–166.
- Kantarci OH, Atkinson EJ, Hebrink DD, McMurray CT, Weinshenker BG (2000b). Association of two variants in IL-1beta and IL-1 receptor antagonist genes with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 106:220–227.
- Kantarci OH, Schaefer-Klein JL, Hebrink DD, Achenbach SJ, Atkinson EJ, McMurray CT, Weinshenker BG (2003) A population-based study of IL4 polymorphisms in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 137(1-2):134-9.
- Karabon L, Kosmaczewska A, Bilinska M, Pawlak E, Cizak L, Jedynak A, Jonkisz A, Noga L, Pokryszko-Dragan A, Koszewicz M, Frydecka I (2009) The *CTLA-4* gene polymorphisms are associated with CTLA-4 protein expression levels in multiple sclerosis patients and with susceptibility to disease. *Immunology* 128(1 Suppl):e787-96.
- Kenealy S, Pericak-Vance M, Haines J (2003) The Genetic Epidemiology of Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 143:7-12.
- Koch-Henriksen N, Sørensen PS (2010) The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol* 9(5):520-32.
- Korn T. (2008) Pathophysiology of multiple sclerosis. *J Neurol* 255 Suppl 6:2-6.
- Kruglyak L, Nickerson DA (2001) Variation is the spice of life. *Nat Genet* 27:234–236.

Lincoln MR, Ramagopalan SV, Chao MJ, Herrera BM, Deluca GC, Orton SM, Dymment DA, Sadovnick AD, Ebers GC (2009) Epistasis among HLA-DRB1, HLA-DQA1 e HLA-DQB1 loci determines multiple sclerosis susceptibility. *Proc Natl Sci USA* 106(18):7542-7547.

Link J, Soderstrom M, Olsson T, Hojberg B, Ljungdahl A, Link H (1994) Increased transforming growth factor-beta, interleukin-4, and interferon-gamma in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 36:379–386.

Lundmark F, Duvefelt K, Hillert J (2007) Genetic association analysis of the interleukin 7 gene (IL7) in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 192(1-2):171-3.

Lundström W, Greiner E, Lundmark F, Westerlind H, Smestad C, Lorentzen AR, Kockum I, Link J, Brynedal B, Celius EG, Harbo HF, Masterman T, Hillert J (2011) No influence on disease progression of non-HLA susceptibility genes in MS. *J Neuroimmunol* 237(1-2):98-100.

Luomala M, Lehtimäki T, Huhtala H, Ukkonen M, Koivula T, Hurme M, Elovaara I (2003) Promoter polymorphism of IL-10 and severity of multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* 108:396–400.

Mackay RP (1950) The familial occurrence of multiple sclerosis and its implications. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 28:149–77.

Mackay RP, Myrianthopoulos NC (1966) Multiple sclerosis in twins and their relatives: final report. *Arch Neurol* 15: 449–62.

Mann CL, Davies MB, Stevenson VL, Leary SM, Boggild MD, Ko Ko C, Jones PW, Fryer AA, Strange RC, Thompson AJ, Hawkins CP (2002) Interleukin 1 genotypes in multiple sclerosis and relationship to disease severity. *J Neuroimmunol* 129:197–204.

Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH, Guttmacher AE, Kong A, Kruglyak L, Mardis E, Rotimi CN, Slatkin M, Valle D, Whittemore AS, Boehnke M, Clark AG, Eichler EE, Gibson G, Haines JL, Mackay TF, McCarroll SA, Visscher PM (2009) Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461:747-53.

Mardis ER (2008) The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet* 24:133-41.

Marrosu MG, Murru R, Murru MR, Costa G, Zavattari P, Whalen M, Cocco E, Mancosu C, Schirru L, Solla E, Fadda E, Melis C, Porru I, Rolesu M, Cucca F (2001) Dissection of the HLA association with multiple sclerosis in the founder isolated population of Sardinia. *Hum Mol Genet* 10:2907-16.

Martino G, Poliani PL, Furlan R, Marconi P, Glorioso JC, Adorini L, Comi G (2000) Cytokine therapy in immune-mediated demyelinating diseases of the central nervous system: a novel gene therapy approach. *J Neuroimmunol* 107:184-190.

Maurer M, Kruse N, Giess R, Kyriallis K, Toyka KV, Rieckmann P (1999) Gene polymorphism at position -308 of the tumor necrosis factor alpha promoter is not associated with disease progression in multiple sclerosis patients. *J Neurol* 246:949-954.

McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, Goldstein DB, Little J, Ioannidis JPA, Hirschhorn JN (2008) Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nature Reviews Genetics* 9: 356-369.

McDonnell GV, Kirk CW, Hawkins SA, Graham CA (2000) An evaluation of interleukin genes fails to identify clear susceptibility loci for multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 176:4-12.

- Meoli EM, Oh U, Grant CW, Jacobson S (2011) TGF- β signaling is altered in the peripheral blood of subjects with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 230(1-2):164-8.
- Miller A, Avidan N, Tzunz-Henig N, Glass-Marmor L, Lejtkowicz I, Pinter RY, Paperna T (2008) Translation towards personalized medicina in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 274:68-75.
- Misu T, Onodera H, Fujihara K, Matsushima K, Yoshie O, Okita N, Takase S, Itoyama Y (2001) Chemokine receptor expression on T cells in blood and cerebrospinal fluid at relapse and remission of multiple sclerosis: imbalance of Th1/Th2-associated chemokine signaling. *J Neuroimmunol* 114:207–212.
- Montomoli C, Prokopenko I, Caria A, Ferrai R, Mander A, Seaman S, Musu L, Piras ML, Ticca AF, Murgia SB, Bernardinelli L (2002) Multiple sclerosis recurrence risk for siblings in an isolated population of central Sardinia, Italy. *Genet Epidemiol* 22:265–71.
- Myhr KM, Vagnes KS, Maroy TH, Aarseth JH, Nyland HI, Vedeler CA (2002) Interleukin-10 promoter polymorphisms in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 202:93–97.
- Navikas V, Matusevicius D, Soderstrom M, Fredrikson S, Kivisakk P, Ljungdahl A, Hojeberg B, Link H (1996) Increased interleukin-6 mRNA expression in blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 64:63–69.
- Nicoletti F, Patti F, DiMarco R, Zaccone P, Nicoletti A, Meroni P, Reggio A (1996) 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* 8:395–400.

Noseworth J, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG (2000) Multiple Sclerosis. *N Engl J Med.* 343(13):938-52.

Oksenberg JR, Barcellos LF (2005) Multiple sclerosis genetics: leaving no stone unturned. *Genes Immun* 6(5):375-87.

Olerup O, Hillert J, Fredrikson S, Olsson T, Kam-Hansen S, Moller E, Carlsson B, Wallin J (1989) Primarily chronic progressive and relapsing/ remitting multiple sclerosis: two immunogenetically distinct disease entities. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:7113–7117.

Olerup O, Hillert J (1991) HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue Antigens* 38:1–15.

Paty D (2000) Initial symptoms. In: Burks J, Johnson K, eds. *Multiple Sclerosis Diagnosis, Medical Management, and Rehabilitation*. New York, NY: Demos.

Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW (1983) New diagnostic criteria for Multiple Sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 13:227-231.

Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G (2002) The worldwide prevalence of multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 104:182-191.

Pugliatti M, Harbo HF, Holmøy T, Kampman MT, Myhr KM, Riise T, Wolfson C (2008) Environmental risk factors in multiple sclerosis. *Acta Neural Scand Suppl* 188:34-40.

Ramagopalan SV, Deluca GC, Morrison KM, Herrera BM, Dymment DA, Orton S, Bihoreau MT, Degenhardt A, Pugliatti M, Sadovnick AD, Sotgiu S, Ebers GC (2007a) No effect of

APOE and PVRL2 on the clinical outcome of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 186:156–160.

Ramagopalan SV, Morris AP, Dymont DA, Herrera BM, DeLuca GC, Lincoln MR, Orton SM, Chao MJ, Sadovnick AD, Ebers GC (2007b) The inheritance of resistance alleles in multiple sclerosis. *PLoS Genet* 3:1607–1613.

Ramanathan M, Weinstock-Guttman B, Nguyen LT, Badgett D, Miller C, Patrick K, Brownscheidle C, Jacobs L (2001) In vivo gene expression revealed by cDNA arrays: the pattern in relapsing–remitting multiple sclerosis patients compared with normal subjects. *J Neuroimmunol* 116:213–219.

Risch N (1990) Linkage strategies for genetically complex traits, I: multilocus models. *Am J Hum Genet* 46: 222–28.

Ristic S, Lovrecic L, Starcevic-Cizmarevic N, Brajenovic-Milic B, Segajazbec S, Sepcic J, Kapovic M, Peterlin B (2007) Tumor necrosis factor- α -308 gene polymorphism in Croatian and Slovenian multiple sclerosis patients. *Eur Neurol* 57:203–207.

Robertson NP, Fraser M, Deans J, Clayton D, Walker N, Compston DAS (1996) Age-adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis. *Brain* 119:449–55.

Robertson NP, O’Riordan JI, Chataway J, Kingsley DP, Miller DH, Clayton D, Compston DA (1997) Offspring recurrence rates and clinical characteristics of conjugal multiple sclerosis. *Lancet* 349: 1587–90.

Roxburgh RH, Sawcer S, Maranian M, Seaman S, Hensiek A, Yeo T, Deans J, Compston A, (2006) No evidence of a significant role for CTLA-4 in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 171:193–197.

Runmarker B, Martinsson T, Wahlstrom J, Andersen O (1994) HLA and prognosis in multiple sclerosis. *J Neurol* 241:385–390.

Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH (1988) Multiple Sclerosis: updated risks for relatives. *Am J Med Genet* 29:533–41.

Sadovnick AD, Bulman DE, Hashimoto L, D’Hooghe MB, Ebers GC (1991) The influence of gender on the susceptibility to multiple sclerosis in sibships. *Arch Neurol* 48:586–88.

Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GPA, Bulman D, Hashimoto L, Paty DW, Hashimoto SA, Warren S, Hader W, Murray TJ (1993) A population-based study of Multiple Sclerosis in twins: update. *Ann Neurol* 33: 281–85.

Sadovnick AD, Ebers GC, Dyment D, Risch NJ and the Canadian Collaborative Study Group (1996) Evidence for the genetic basis of multiple sclerosis. *Lancet* 347: 1728–30.

Sadovnick AD, Yee IML, Ebers GC, Risch NJ (1998) The effect of age onset and parental disease status on sib risks for multiple sclerosis. *Neurology* 50:719–23.

Sadovnick AD, Dircks A, Ebers GC (1999) Genetic counselling in multiple sclerosis. *Clin Genet* 56:118–122.

Sadovnick AD, Yee IML, Ebers GC and the Canadian Collaborative Study Group (2001) Recurrence risks to sibs of MS index cases: impact of consanguineous mating. *Neurology* 56: 784–85.

Saruhan-Direskeneli G, Esin S, Baykan-Kurt B, Ornek I, Vaughan R, Eraksoy M (1997) HLA-DR and –DQ associations with multiple sclerosis in Turkey. *Hum Immunol* 55:59–65.

Sawcer S (2008) The complex genetics of multiple sclerosis: pitfalls and prospects. *Brain* 131:3118–3131.

Schmidt S, Papassotiropoulos A, Sotgiu S, Kolsch H, Arru G, Fois ML, Haase CG, Schmitz S, König N, Harzheim M, Heun R, Klockgether T (2003) Investigation of a genetic variation of a variable number tandem repeat polymorphism of interleukin-6 gene in patients with multiple sclerosis. *J Neurol* 250:607–611.

Schmidt S, Pericak-Vance MA, Sawcer S, Barcellos LF, Hart J, Sims J, Prokop AM, van der Walt J, DeLoa C, Lincoln RR, Oksenberg JR, Compston A, Hauser SL, Haines JL, Gregory SG (2006) Allelic association of sequence variants in the herpes virus entry mediator-B gene (PVRL2) with the severity of multiple sclerosis. *Genes Immun* 7:384–392.

Schrijver HM, Crusius JB, Uitdehaag BM, Garcia Gonzalez MA, Kostense PJ, Polman CH, Pena AS (1999) Association of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist genes with disease severity in MS. *Neurology* 52:595–599.

Seng KC, Seng CK (2008) The success of the genome-wide association approach: a brief story of a long struggle. *European Journal of Human Genetics* 16: 554–564.

Shahbazi M, Ebadi H, Fathi D, Roshandel D, Mohamadhosseni M, Tahmasebi A, Shahbazi S, Zamani M, Rashidbaghan A (2010). HLA-DRB1*1501 intensifies the impact of IL-6 promoter polymorphism on the susceptibility to multiple sclerosis in an Iranian population. *Mult Scler* 16(10):1173-7.

Shin J, Kayser SR, Langaee TY (2009) Pharmacogenetics: from discovery to patient care. *American Journal of Health-System Pharmacy* 66:625-37.

Silva AM, Pereira C, Bettencourt A, Carvalho C, Couto AR, Leite MI, Marta M, Freijo M, Costa PP, Mendonca D, Monteiro L, Armas JB, Martins B (2007) The role of HLA-DRB1 alleles on susceptibility and outcome of a Portuguese Multiple Sclerosis population. *J Neurol Sci* 258:69–74.

Soderstrom M, Hillert J, Link J, Navikas V, Fredrikson S, Link H (1995) Expression of IFN-gamma, IL-4, and TGF-beta in multiple sclerosis in relation to HLA-Dw2 phenotype and stage of disease. *Mult Scler* 1:173–180.

Sombekke MH, van der Voort LF, Kragt JJ, Nielsen JM, Guzel H, Visser A, Oudejans CB, Crusius JB, Peña AS, Vrenken H, Polman CH, Killestein J (2011) Relevance of IL7R genotype and mRNA expression in Dutch patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 17(8):922-30.

Strunk T, Bubel S, Mascher B, Schlenke P, Kirchner H, Wandinger KP (2000) Increased numbers of CCR5+ interferon-gamma- and tumor necrosis factor-alpha-secreting T lymphocytes in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 47:69–273.

Suppiah V, Goris A, Alloza I, Heggarty S, Dubois B, Carton H, Antigüedad A, Mendibe M, McDonnell G, Droogan A, Hawkins S, Graham C, Vandebroek K (2005) Polymorphisms in the interleukin-4 and IL-4 receptor genes and multiple sclerosis: a study in Spanish-Basque, Northern Irish and Belgian populations. *Int J Immunogenet* 32(6):383-8.

The Wellcome Trust Case Control Consortium (2007) Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 447:661–678.

Traggiai E, Biagioli T, Rosati E, Ballerini C, Mazzanti B, Ben Nun A, Massacesi L, Vergelli M (2001) IL-7 enhanced T-cell response to myelin proteins in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 121:111–119.

van Boxel-Dezaire AH, Hoff SC, van Oosten BW, Verweij CL, Drager AM, Ader HJ, van Houwelingen JC, Barkhof F, Polman CH, Nagelkerken L (1999) Decreased interleukin-10 and increased interleukin-12p40 mRNA are associated with disease activity and characterize different disease stages in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 45:695–703.

Van Lambalgen R, Sanders EA, D'Amaro J (1986) Sex distribution, age of onset and HLA profiles in two types of multiple sclerosis. A role for sex hormones and microbial infections in the development of autoimmunity? *J Neurol Sci* 76:13–21.

van Veen T, Crusius JB, vanWinsen L, Xia B, Barkhof F, Salvador Pena A, Polman CH, Uitdehaag BM (2003) CTLA-4 and CD28 gene polymorphisms in susceptibility, clinical course and progression of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 140:188–193.

van Veen T, Schrijver HM, Zwiers A, Crusius JB, Knol DL, Kalkers NF, Laine ML, Barkhof F, Pena AS, Polman CH, Uitdehaag BM (2003) The interleukin-1 gene family in multiple sclerosis susceptibility and disease course. *Mult Scler* 9:535–539.

Vandenbroeck K, Martino G, Marrosu M, Consiglio A, Zaffaroni M, Vaccargiu S, Franciotta D, Ruggeri M, Comi G, Grimaldi LM (1997) Occurrence and clinical relevance of an interleukin-4 gene polymorphism in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 76(1-2):189-92.

Vandenbroeck K, Fiten P, Ronsse I, Goris A, Porru I, Melis C, Rolesu M, Billiau A, Marrosu, MG, Opdenakker G (2000) High-resolution analysis of IL-6 minisatellite polymorphism in Sardinian multiple sclerosis: effect on course and onset of disease. *Genes Immun* 1:460–463.

Weinshenker BG, Wingerchuk DM, Liu Q, Bissonet AS, Schaid DJ, Sommer SS (1997) Genetic variation in the tumor necrosis factor alpha gene and the outcome of multiple sclerosis. *Neurology* 49:378–385.

Weinshenker BG, Hebrink D, Kantarci OH, Schaefer-Klein J, Atkinson E, Schaid D, McMurray CM (2001) Genetic variation in the transforming growth factor beta1 gene in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 120:138–145.

Willer CJ, Sadovnick AD, Ebers GC (2002) Microchimerism in autoimmunity and transplantation: potential relevance to multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 126: 126–33.

Willer CJ, Dyment DA, Sadovnick AD, Risch NJ, Ebers GE (2003) Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis: The Canadian Collaborative Study. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:12877–82.

Windhagen A, Newcombe J, Dangond F, Strand C, Woodroffe MN, Cuzner ML, Hafler DA (1995) Expression of costimulatory molecules B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), and interleukin 12 cytokine in multiple sclerosis lesions. *J Exp Med.* 182(6):1985-96.