

# Genetski čimbenici u etiologiji multiple skleroze

---

**Ristić, Smiljana**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**1996**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:188:149071>

*Rights / Prava:* [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-10**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka Library - SVKRI  
Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET**

**SMILJANA RISTIĆ**

**GENETSKI ČIMBENICI U ETIOLOGIJI MULTIPLE SKLEROZE**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**SVEUČILIŠNA KNJIŽNICA  
RIJEKA**



**930024968**

**RIJEKA, 1996.**

## I AUTOR

Ime i prezime	SMILJANA RISTIĆ
Datum i mjesto rođenja	23. LIKTOPADA 1958. Zemun
Naziv fakulteta, odnosno organizacije za postdiplomski studij i datum završene nastave II i III stupnja	Prirodno-matematički fakultet Beograd, 1985. Prirodno-matematički fakultet Beograd, 1991.
Sadašnje zaposlenje	asistent Medicinskog fakulteta u Rijeci

## II PODACI O DISERTACIJI I MENTORIMA

GENETSKI ČIMBENICI U ETIOLOGIJI MULTIPLE SKLEROZE

Naslov rada	
Broj stranica, slika, tabela, bibliografskih podataka	103 str., 19 sl., 22 tab., 303 ref.,
Ustanova i mjesto gdje je disertacija izrađena	Medicinski fakultet u Rijeci
Znanstvena disciplina	Medicina
Mentori	Prof. dr. sc. Miljenko Kapović Prof. dr. sc. Juraj Sepčić
Fakultet na kojem je disertacija obranjena	Medicinski fakultet u Rijeci

## III OCJENA I OBRANA

Datum prijave teme	2. siječnja 1996.
Datum predaje rada	22. svibnja 1996.
Datum sjednice Vijeća na kojoj je rad prihvaćen	16. srpnja 1996.
Sastav povjerenstva koje disertaciju ocijenilo	prof. dr. Dražena Papeš, doc. dr. Anđelka Radojčić-Badovinac, prof. dr. Miljenko Kapović i prof. dr. Juraj Sepčić.
Datum obrane disertacije	19. srpnja 1996.
Sastav povjerenstva pred kojim je disertacija obranjena	I s t i
Datum promocije	

Rad je izrađen na Zavodu za biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci i na Klinici za neurologiju Kliničkog bolničkog centra u Rijeci.

Mentori rada: Prof. dr. sc. Miljenko Kapović  
Prof. dr. sc. Juraj Sepčić

Rad ima 103 stranice, 19 slika i 22 tablice.



Zahvaljujem se svima koji su mi na bilo koji način pomogli u realiziranju ovog rada.

Posebice bih se željela zahvaliti:

-Prof. dr. Miljenku Kapoviću i prof. dr. Juraju Sepčiću, mentorima rada, na neprocijenjivoj pomoći i dragocjenim savjetima u svakom trenutku.

-Prof. dr. Draženi Papeš na vrijednim sugestijama i neobičnoj susretljivosti.

-Doc.dr. Anđelki Radojčić-Badovinac na stručnoj pomoći i prijateljskoj podršci tijekom izrade rada.

-Kolegama sa Zavoda za biologiju koji su svakako doprinjeli da ovaj rad bude cjelovitiji.

**SVIM ZNANIM I NEZNANIM LJUDIMA KOJI BOLUJU OD MULTIPLE SKLEROZE ČIJE  
SAM ŽIVOTE UGRADILA U OVAJ RAD**

## SAŽETAK

Dosadašnja epidemiološka i genetička istraživanja multiple skleroze (MS) ukazuju da etiologija ove složene bolesti ne može biti objašnjena niti jednim pojedinačnim okolišnim ili genetičkim čimbenikom, već da su za njen nastanak odgovorni faktori okoliša koji djeluju kao "okidači" bolesti u genetički predisponiranih osoba.

Cilj istraživanja u ovom radu je bio sagledati doprinose genetičkih čimbenika u etiologiji MS odnosno procijeniti mogući način nasljeđivanja predispozicije za bolest te ispitivanjem 50 fenotipskih svojstava usporediti genetičku strukturu bolesnika s genetičkom strukturom zdravih osoba.

Ispitanici su bili 105 bolesnika iz Primorsko-goranske i Istarske županije s klinički i laboratorijski potkrijepljenim oblikom sigurne MS prema Poserovim kriterijima. Kontrolna skupina 1 je formirana metodom individualnog uparivanja pri čemu je za svakog bolesnika odabrana zdrava osoba istog spola i uzrasta te mjesta rođenja i prebivanja. Kontrolnu skupinu 2 su činili slučajno odabrani ispitanici s područja Primorsko-goranske i Istarske županije koji u osobnim i obiteljskim anamnezama nisu imali neurodegenerativnih bolesti.

Procjena načina nasljeđivanja predispozicije za MS izvršena je detaljnom analizom geneaoloških stabala te metodama kvantitativne genetike prema Falconeru. Ispitivanje 50 fenotipskih svojstava u bolesnika i zdravih osoba izvršeno je standardnim metodama populacijske genetike te su svi rezultati testirani statističkim testovima značajnosti.

Rezultati istraživanja su ukazali da je u skupini bolesnika s MS pozitivna obiteljska anamneza nađena u 12 od 105 obitelji (11,43%), a u kontrolnoj grupi u 3 od 105 obitelji (2,86%) što govori o postojanju obiteljske pojavnosti bolesti. Učestalost bolesti u srodnika aficiranih osoba je opadala s udaljavanjem stupnjeva srodnosti (1:76 u I, 1:225 u II i 1:441 u III srodnika) te je bila primjetno veća nego u srodnika zdravih osoba (1:564 u I, 1:871 u II i 1:1012 u III srodnika). Vrijednosti koeficijenta heritabilnosti u prvih ( $49,1 \pm 11,5$ ), drugih ( $50,1 \pm 13,7$ ) i trećih srodnika bolesnika ( $48,7 \pm 14,8$ ) se nisu međusobno znatno razlikovali što govori o značaju genetičke komponente u etiologiji MS. Uočena je nešto veća učestalost aficiranih srodnika bolesnika (13,9%) u odnosu na bolesnice s MS (10,1%). Ispitivanje

frekvencije recesivnih alela 50 fenotipskih svojstava u uzorku bolesnika s MS i u zdravih ispitanika je ukazalo da je 29 osobina ispoljavalo značajan stupanj međusobne različitosti dok su se pacijenti i kontrolni ispitanici iz Gorskog kotara razlikovali u 20 svojstava. Procjena stupnja genetičke diferencijacije između skupine oboljelih i zdravih osoba je ukazala na značajnu razliku u zastupljenosti za 31 fenotipsku osobinu što znači da bi se genetička struktura u dvije skupine mogla razlikovati u 62% alelogena. Iako je povećana recesivna homozigotnost, u odnosu na očekivanu, bila zamijećena u cijeloj populaciji, ipak je za 23% bila veća u ukupnom uzorku bolesnika s MS, a za 53% veća u pacijenata iz Gorskog kotara u odnosu na ispitanike iz kontrolnih skupina. Usporedba fertiliteta bolesnika i zdravih osoba ukazala je na značajno veći ukupan broj trudnoća te živorođene djece u kontrolnih ispitanika, dok razlike u gubitku potomstva između obiju skupina nisu potvrđene. Uočena je razlika u značajno većoj učestalosti artificijelnih pobačaja u bolesnica s MS u odnosu na broj pobačaja u supruga muških pacijenata. Bolesnice s MS, u odnosu na kontrolu, imaju menarhe u ranijoj dobi, menstrualna faza mjesečnice duže traje, razmak između ciklusa je kraći nego u zdravih žena, dok razlike u pojavi menopauze između ove dvije skupine nisu uočene. U pacijenata i kontrolnih ispitanika iz Gorskog kotara nije uočena značajna razlika niti za jednu ispitivanu osobinu reprodukcije. Povećana recesivna homozigotnost (15 i više homozigotno-recesivnih osobina) je bila zastupljenija u bolesnika s reproduktivnim problemima u odnosu na aficirane osobe bez reproduktivnih problema. Prvi klinički simptomi bolesti javljali su se znatno ranije u bolesnika s reproduktivnim problemima (20,9 godina) nego u aficiranih ispitanika koji nisu imali problema u reprodukciji (26,7 godina). Ispitivanje redoslijeda rođenja bolesnika s MS je ukazalo da ne postoji združenost bolesti niti s ranijim niti s kasnijim redoslijedom rođenja.

Iz navedenog se daje zaključiti da je MS bolest s multifaktorijskom etiologijom u kojoj je predispozicija poligenski determinirana. Geni koji determiniraju fenotipska svojstva s ispoljenom različitosti u bolesnika i zdravih osoba bi mogli biti biljezi za gene uključene u procese nastanka predispozicije ili otpornosti za MS. Genetička opterećenja koja nastaju kao posljedica povećane recesivne homozigotnosti u bolesnika mogu dovesti do narušavanja genetičko-fiziološke homeostaze organizma te biti uzrokom smanjene otpornosti na okolišne čimbenike koji provociraju MS. Povećana genetička opterećenja mogla bi indirektno utjecati i na adaptivnu vrijednost bolesnika uvjetujući raniji nastup bolesti što bi rezultiralo smanjenim fertilitetom aficiranih osoba.

## SUMMARY

The epidemiologic and genetic researches of multiple sclerosis (MS) carried out to date have shown that the etiology of this complex disease cannot be explained by any single environmental or genetic factor, but that its development is caused by environmental triggers of the disease in genetically susceptible persons.

The aim of this research was to examine the contributions of genetic factors in the MS etiology, i.e. to assess the possible way of inheriting susceptibility for the disease and, through an analysis of 50 phenotypical characteristics, to compare the genetic structure of the patients with that of healthy persons.

The examinees were 105 patients from the Primorsko-goranska and Istarska counties, affected by a form of undoubted MS according to Poser's criteria-proven both clinically and by laboratory tests. The control group 1 was formed by individual matching method in which for each patient a healthy person of the same sex, age, place of birth and living was chosen. The control group 2 was made up of examinees chosen at random from the area of the Primorsko-goranska and Istarska counties who did not have any neurodegenerative disease in their anamneses.

The assessment of the way of inheriting MS susceptibility was effected through a detailed analysis of pedigrees and by methods of quantitative genetics according to Falconer. The analysis of 50 phenotypical characteristics both in patients and in healthy persons was performed by standard methods of population genetics and all findings were tested by statistic tests of significance.

The research results showed that in the group of patients with MS, a positive family anamnesis was found in 12 out of 105 families (11.43%) and in the control group in 3 out of 105 families (2.86%) which indicates the existence of family aggregation of the disease. The greater the distance between degrees of relationship, the more the incidence of the disease in relatives of affected persons declined (1:76 in I, 1:225 in II and 1:441 in III degree relatives) and was perceptibly higher than in relatives of healthy persons (1:564 in I, 1:871 in II and 1:1012 in III degree relatives). The values of heritability coefficients in first ( $49.1 \pm 11.5$ ), second ( $50.1 \pm 13.7$ ) and third degree relatives ( $48.7 \pm 14.8$ ) did not differ much among themselves, which shows the importance of the genetic component in MS etiology. A

somewhat higher incidence of affected male patient's relatives (13.9%) was noticed, as against female patients with MS (10.1%). The analysis of the incidence of recessive alleles of 50 phenotypical characteristics in the sample of patients with MS and in healthy persons, indicated that 29 characteristics showed a considerable degree of mutual difference, while patients and control persons from Gorski kotar differed in 20 characteristics. The estimation of the degree of genetic differentiation between the group of affected and that of healthy persons pointed at a significant difference in representation for 31 phenotypical characteristics which means that the genetic structure un two groups could differ in 62% of allelogenes. Although a recessive homozygosity higher than expected was noticed in the entire population, it was nevertheless by 23% higher in the total sample of patients with MS and by 53% higher in patients from Gorski kotar in comparison with examinees from the control groups. The comparison of fertility between affected and healthy persons indicated a considerably higher number of pregnancies and liveborn children in control persons, while differences in fetal loss between both groups have not been confirmed. A difference was noticed in a considerably higher frequency of artificial abortions in spouses of male patients. In MS female patients, if compared to the control group, menarche appeared at an earlier age, the menstrual stage of menses lasted longer, the interval between periods was shorter than in healthy women, while no differences were noticed in appearance of menopause between two groups. No significant differences were noted between patients and control persons from Gorski kotar in any of the examined reproduction features. Increased recessive homozygosity (15 and more homozygotyc-recessive characteristics) was more frequently present in patients having reproduction problems in comparison with affected persons without reproduction problems. The first clinical symptoms of the disease broke out much earlier in patients with reproduction problems (at age of 20.9) than in affected examinees who did not have reproduction problems (at age of 26.7). A study of birth order in MS patients has shown that there is no association of the disease with either earlier or later birth order.

A conclusion may be drawn from the above mentioned that MS is a disease with multifactorial etiology for which susceptibility is poligenically determined. Genes determining the phenotypical characteristics with evident differences between patients and healthy persons could be the markers for polygenes participating in the process of creating either susceptibility or resistance to MS. Genetic loads arising as the consequence of increased recessive homozygosity in patients may disrupt the genetic-physiological homeostasis of the body and be



the cause of reduced resistance towards environmental triggers of MS. Increased genetic loads could also influence indirectly the adaptive degree of patients creating the conditions for an earlier onset of the disease which would result in decreased fertility of affected persons.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	1
1.1. MULTIPLA SKLEROZA	2
1.1.1. Patološka slika multiple skleroze	2
1.1.2. Klinička slika multiple skleroze	3
1.1.3. Tijek i prognoza multiple skleroze	5
1.2. EPIDEMIOLOGIJA MULTIPLE SKLEROZE	5
1.2.1. Geografska rasprostranjenost multiple skleroze	6
1.2.2. Migracija i multipla skleroza	7
1.2.3. Rasna i etnička podložnost u multiploj sklerozi	8
1.2.4. Familijarna i blizanačka multipla skleroza	9
1.2.5. Multipla skleroza u konjugalnih parova	10
1.2.6. Mogući geni podložnosti za multiplu sklerozu	11
1.2.7. Okolišni čimbenici i multipla skleroza	14
1.2.8. Virusi u etiologiji multiple skleroze	18
1.2.9. Redoslijed rođenja i multipla skleroza	19
1.3. HIPOTEZE O ETIOLOGIJI MULTIPLE SKLEROZE	20
1.4. FENOTIPSKA SVOJSTVA KAO GENETIČKI BILJEZI U HUMANIM BOLESTIMA	21
1.4.1. Genetička determinacija fenotipskih svojstava	21
1.4.2. Fenotipska svojstva i humane bolesti	23
<b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA</b>	25
<b>3. ISPITANICI, METODE I OBRADA PODATAKA</b>	27
3.1. ISPITANICI	27
3.2. METODE I OBRADA PODATAKA	27



## SADRŽAJ

<b>4. REZULTATI</b>	31
4.1. OBITELJSKA POJAVNOST MULTIPLE SKLEROZE	31
4.2. STUPANJ GENETIČKE DETERMINIRANOSTI MULTIPLE SKLEROZE	44
4.3. FENOTIPSKA SVOJSTVA I MULTIPLA SKLEROZA	45
4.4. FERTILITET BOLESNIKA S MULTIPLOM SKLEROZOM	58
4.5. REDOSLIJED ROĐENJA BOLESNIKA S MULTIPLOM SKLEROZOM	65
<b>5. RASPRAVA</b>	69
<b>6. ZAKLJUČCI</b>	81
<b>7. LITERATURA</b>	83

## 1. U V O D

Multipla skleroza (MS) je demijelinizacijska bolest središnjeg živčanog sustava od koje najčešće oboljevaju mlađe odrasle osobe. Klinička slika ove iznimno intrigantne bolesti varijabilnog kliničkog izraza i nepredvidivog tijeka odlikuje se razasutošću živčanih ispada "u vremenu i prostoru", valovitim tokom s remisijama i pogoršanjima istih ili drugih simptoma, svaki put sve izrazitijih i raširenijih<sup>1</sup>.

Prevalencija MS u svijetu nije jednolična već varira ovisno o geografskoj širini, klimi te stupnju ekonomskog razvoja određenog područja. Tako se rasprostranjenost MS u svijetu dijeli na područja s visokom (prevalencija od ili više  $30/10^5$  stanovnika), srednjom ( $5-29/10^5$ ) i niskom (do  $5/10^5$ ) učestalosti bolesti<sup>2</sup>. Područja srednjeg i visokog rizika pripadaju Europi, Sjevernoj Americi i Australiji, koja su naseljena pripadnicima bijele rase. Nasuprot tome, Azija, posebice Kina, Indija, Japan i Afrika imaju izuzetno nisku prevalenciju MS. Neovisno o tome u svakoj zemlji postoje zone s posebno visokom učestalošću MS (žarišta ili "fokusi"), koje nisu u skladu s globalnom geografskom raspodjelom. Prevalencija MS za područje bivše Jugoslavije iznosila je  $50/10^5$ , a incidencija  $2/10^5$  stanovnika<sup>3</sup>. U zapadnoj Hrvatskoj koja obuhvaća Primorsko-goransku, Istarsku i Ličko-senjsku županiju istraživanja MS se provode od 1969. godine i u to vrijeme Sepčić navodi prevalenciju od  $35,6/10^5$  stanovnika u široj riječkoj regiji<sup>4</sup>, a Materljan, petnaest godina kasnije, prevalenciju od  $24,9/10^5$  za područje Istre<sup>5</sup>. U Gorskom kotaru kao vremenskom i prostornom žarištu bolesti, prevalencija iznosi  $201,9/10^5$ , a incidencija  $5-8/10^5$  stanovnika<sup>6</sup>. Na temelju posljednjih istraživanja o rasprostranjenosti bolesti u zapadnoj Hrvatskoj može se zaključiti da je Hrvatska većim dijelom područje visokog rizika za MS<sup>7</sup>.

Brojna istraživanja su ukazala i na ulogu migracije i MS. Naime, emigranti koji mjenjaju mjesto življenja nakon puberteta zadržavaju rizik zemlje iz koje potječu, a ukoliko su napustili svoju rodnu zemlju u ranom djetinjstvu, stječu rizik bolesti nove domovine<sup>8</sup>.

MS je još uvijek bolest nepoznate etiologije. Više od pedeset godina postoje dvije osnovne hipoteze o uzročnosti MS: *okolišna (ambijentalna)* i *genetička*.

*Okolišna hipoteza* u etiopatogenezi bolesti najveći značaj pripisuje djelovanju okolišnih faktora<sup>9</sup>. S tim u svezi su dobijeni značajni, iako ne i definitivni podaci o mogućoj ulozi sljedećih okolišnih čimbenika na etiologiju bolesti: geoloških karakteristika zemljišta,

klimatskih faktora, prehrane, kontakata sa životinjama i pojedinim virusima, trauma i operacija, trudnoće, psihičkog stresa, profesije, životnog standarda, navika i sanitarno-higijenskih uvjeta.

*Genetička hipoteza* podupire stajališta da je podložnost za MS determinirana genima i to vjerojatno onima koji kontroliraju imunološku funkciju<sup>10</sup>. Značajne studije iz ovog područja su obuhvatile ispitivanja učestalosti bolesti u obiteljima s MS, ispitivanja rasne i etničke podložnosti za bolest, kao i pokušaje identificiranja relevantnih gena podložnosti za MS (geni iz sustava humanih leukocitnih antigena-HLA, te oni odgovorni za određivanje T-staničnih receptora i imunoglobulina).

Rezultati brojnih epidemioloških i genetičkih istraživanja MS ukazuju da ova složena bolest ne može biti objašnjena niti jednim poznatim okolišnim ili genetičkim faktorima koji djeluju izolirano, već da su za nastanak bolesti najvjerojatnije odgovorni faktori okoliša koji djeluju kao "okidači" bolesti u genetički predisponiranih osoba.

## 1.1. MULTIPLA SKLEROZA

Multipla skleroza je jedna od najčešćih organskih živčanih bolesti. Prvi simptomi bolesti mogu se javiti još u doba puberteta, iako je predilekcijska dob za oboljevanje vrijeme između 20. i 40. godine života. Nakon 45. godine učestalost bolesti se kontinuirano smanjuje, a gornju granicu doseže između 55. i 60. godine života<sup>1,11</sup>.

Brojni istraživači su ukazali da žene oboljevaju češće od muškaraca (odnos je 3:2) iako su poznati i suprotni omjeri<sup>3,11</sup>.

### 1.1.1. PATOLOŠKA SLIKA MULTIPLE SKLEROZE

MS je demijelinizacijska bolest središnjeg živčanog sustava (SŽS) u kojoj mijelinska ovojnica oko aksona nestaje u obliku žarišta, te je onemogućeno prenošenje impulsa živcem<sup>1</sup>. Žarišta demijelinizacije (plakovi) su rasprostranjena SŽS-om i mogu biti različite veličine, od promjera glavice pribadače do veličine kovanog novca. Velika žarišta uzrokuju brojne funkcionalne poremećaje ovisno o njihovoj lokalizaciji, a mala žarišta u "muklim" regijama mogu ostati klinički neprepoznata i tek otkrivena tijekom obdukcije<sup>11</sup>.

U ranom stadiju bolesti mijelinska vlakna su na određenim mjestima crvenkasta, otečena i razlabavljena i takva se žarišta mogu u potpunosti povući. Međutim, u većini

slučajeva mijelinska vlakna se razgrađuju i zamjenjuju glijom, pri čemu žarište otvrdne do ožiljka i nastane skleroza. Predilekcijska mjesta za lokalizaciju plakova su: vidni živac, moždano deblo, osobito pons, mali mozak i njegovi pedunkuli, piramidni putevi na svim razinama, dno IV komore, stražnji snopovi kralježnične moždine, rjeđe moždana kora, bazalni gangliji i siva supstancija kralježnične moždine<sup>11</sup>.

### 1.1.2. KLINIČKA SLIKA MULTIPLE SKLEROZE

Prvi detaljan klinički opis bolesti dao je Charcot 1868. godine<sup>12</sup> navodeći simptome oštećenja cerebelarnog sustava do kojih dolazi u kasnijem stadiju bolesti. Nove metode ispitivanja kao što su određivanje oligoklonalnih IgG u cerebrospinalnom likvoru, kompjutorizirana tomografija (CT) mozga, evocirani moždani potencijali i nuklearna magnetna rezonancija (NMR) omogućile su otkrivanje novih simptoma bolesti koji se ne mogu detektirati običnim kliničkim pregledom. U većem broju slučajeva bolest nastupa monosimptomatski i tada ima bolju prognozu od onih koji počinju s više simptoma i znakova u prvoj ataci<sup>1</sup>.

Posebno predilekcijsko mjesto plakova su optički putevi. Tipične su prolazne kljenuti očnih mišića s dvoslikama koje se pojavljuju bez glavobolja. Upalni proces može jednostrano ili obostrano zahvatiti čitav očni živac, tako da bolesnik prolazno oslijepi ili vidi mutnu sliku. Ako se optički neuritis potpuno povuče, bolesnik nakon nekoliko tjedana normalno vidi. Još je tipičniji retrobulbarni neuritis vidnog živca u kojem stradavaju samo središnje smještene papilomakularna vlakna. U tim slučajevima oštećen je centralni vid te bolesnik ne vidi čitati mala slova. Retrobulbarni neuritis postoji samo u 30% bolesnika i primjećeno je da je rizik oboljevanja od MS veći ukoliko je bolesnik mlađe životne dobi<sup>11</sup>.

Od ostalih moždanih živaca zahvaćeni su nervus facijalis i osjetni dio nervusa trigeminusa. Oštećenje facijalnog živca uzrokuje njegovu kljenut po perifernom tipu. Lezija trigeminusa manifestira se parestezijama te smanjenjem jednostavnih kvaliteta osjeta lica i kornealnog refleksa. Često se nalaze i kombinacije simptoma tj. poremećaji osjeta na polovici lica i jezika sa subjektivnim poremećajem okusa na toj polovici. Vrtoglavica je osnovni simptom lezije vestibularnog živca; praćena je mučninom, povraćanjem i nistagmusom<sup>13</sup>.

Centralne pareze su vrlo česte pri čemu su jače zahvaćeni distalni od proksimalnih dijelova ekstremiteta. U bolesnika se očituju svi stupnjevi spastičkog hoda do paraplegije,

tetraplegije ili hemiplegije. Drugi rani simptom je opći umor i zamaranje koji ograničava bolesnikovu aktivnu sposobnost<sup>11</sup>.

Gotovo uvijek u oboljelih dolazi do poremećaja osjeta<sup>13</sup>. Bolesnici se tuže na dugotrajne parestezije, utrnulost, škakljanje ili gmizanje u šakama ili stopalima. Ispitivanjem se uočava smanjen osjet dodira, dok osjeti za bol i temperaturu ostaju većinom nepromijenjeni. Oštećenjem osjeta položaja nastupa osjetna ataksija čime je znatno poremećena fina motorika.

U 20% slučajeva dolazi do poremećaja funkcije mokraćnog mjehura tako da bolesnici mogu imati neodoljivu potrebu za mokrenjem, katkada praćenu polikazurijom, teškoće u početku mikcije, retenciju i/ili inkontinenciju mokraće. Ponekad se nalaze i kljenuti analnog sfinktera<sup>13</sup>.

Oštećenje cerebelarnog sustava manifestira se Charcotovim trijasom: nistagmus, intencijski tremor i skandirajući govor<sup>12</sup>. Osim toga pojavljuju se i ostali cerebelarni poremećaji kretanja uključujući i dismetriju pogleda.

Psihičke smetnje su također učestale u bolesnika s MS. Česta je upadna euforija, koja se manifestira kao nedostatak uvida u težinu bolesti i optimistično držanje čak u slučaju progresivnog tijeka bolesti. U težim oblicima bolesti pacijenti znaju reagirati površnim veseljem i smijehom, posebice ako su zbog ataksije izgubili ravnotežu. U kasnijem stadiju bolesti razvija se demencija, a samo iznimno, mogu se javiti i egzogene psihoze<sup>11</sup>.

Patognomičan za MS je sindrom paroksizmalne disartije i ataksije: više puta tijekom dana se javljaju napadaji bulbarne disartije i teže ataksije u trajanju od 15 sekundi, ponekad udruženi s poremećajem osjeta u inervacijskom području trigeminusa. Također su zapaženi i jednostrani tonički napadaji, prolazne dvoslike, te paroksizmalni poremećaji osjeta i bolovi. Ti prolazni funkcionalni poremećaji nastaju usljed nestabilne funkcije aksona u početnom procesu demijelinizacije, a mogu biti izazvani naporom, povišenjem temperature ili drugim vanjskim faktorima<sup>11</sup>.

Povećanje IgG u cerebrospinalnoj tekućini je prisutno u više od 85% bolesnika sa aktivnom MS<sup>11</sup>. Međutim, treba napomenuti da i druge upalne bolesti živčanog sustava mogu uzrokovati vlastitu produkciju IgG u središnjem živčevlju.

Navedeni klinički podaci ukazuju da je MS bolest koja se odlikuje iznimno varijabilnom kliničkom slikom te da ne postoji nijedan specifičan klinički simptom ili laboratorijski nalaz, već grupiranje simptoma i tijek bolesti mogu upućivati na konačnu dijagnozu.



### 1.1.3. TIJEK I PROGNOZA MULTIPLE SKLEROZE

Bolest se može javljati u mahovima s različitom simptomatologijom ili može imati kronično progresivan tijek<sup>14</sup>. U mahovima bolest se razvija akutno ili subakutno u tijeku nekoliko dana ili tjedana, nakon čega nastaje u pravilu nepotpuno spontano povlačenje simptoma (remisija). Razmak između dva maha bolesti iznosi većinom unutar jedne do dvije godine, iako može biti samo nekoliko mjeseci ili pak dugih razdoblja desetak i više godina. Rijetki su slučajevi fudroajantnog nastupa bolesti kada bolesnici umiru nekoliko tjedana nakon prvih manifestacija simptoma. Ovakav tijek bolesti se češće zapaža u osoba mlađe dobi. Postoje i slučajevi kada bolest poprima primarno, ili nakon nekoliko mahova, kronično progresivan tijek i on je češći u bolesnika srednje dobi. Sveukupno gledajući, u svakoj životnoj dobi prevladava akutni tijek bolesti na mahove<sup>11</sup>.

Prosječno trajanje bolesti iznosi 20-25 godina. Polovica oboljelih postaje invalidna u roku od 5 do 6 godina, a ovisna o drugima nakon 15 do 20 godina. Samo četvrtina bolesnika umire prije petnaeste godine.

Uzroci smrti vezani su uglavnom uz pojavu interkurentnih infekcija ili su pak posljedica respiratorne insuficijencije ili retencije mokraće<sup>1,11</sup>.

### 1.2. EPIDEMIOLOGIJA MULTIPLE SKLEROZE

Interes za istraživanjem MS pojavio se još krajem prošlog i početkom ovog stoljeća, kada je Charcot prvi ukazao na različitu rasprostranjenost bolesti u Francuskoj i Njemačkoj u odnosu na Englesku<sup>15</sup>. Nakon toga su se intenzivirala epidemiološka istraživanja u cijelom svijetu s ciljem da se identificira uzrok i sama priroda bolesti. Brojne studije MS, provedene na širim prostorima i manjim lokalitetima, dale su nam značajne podatke o prevalenciji, incidenciji, mortalitetu, spolnoj raspodjeli i trajanju bolesti. Također, istraživanja utjecaja različitih faktora okoliša, migracija, ishrane, prethodnih bolesti i trauma, kontakata sa životinjama, kao i studije familijarne i blizanačke MS, te združenosti i genetičke povezanosti HLA sustava i MS u populacijskim i obiteljskim studijama, bitno su doprinjele cjelovitom sagledavanju prirode same bolesti<sup>2</sup>.

## 1.2.1. GEOGRAFSKA RASPROSTRANJENOST MULTIPLE SKLEROZE

Rasprostranjenost MS u svijetu nije ujednačena već prevalencija varira ovisno o geografskoj širini, klimi, te stupnju ekonomskog razvoja određenog područja. Međutim, dosadašnja epidemiološka istraživanja ukazala su da postoji određena pravilnost u rasprostranjenosti MS (Steinertovo pravilo)<sup>2</sup>. Naime, učestalost bolesti raste s udaljavanjem od ekvatora. U Europi MS je češća iznad 46. paralele, a u Sjevernoj Americi je zastupljenija iznad 38. paralele nego u južnijim državama. Sličan raspored vrijedi i za južnu polutku, tako da u Australiji prevalencija iznosi  $10/10^5$ , a u Africi svega  $0-4/10^5$  stanovnika<sup>11</sup>.

Na osnovu prevalencije MS u svijetu formirane su zone visokog srednjeg i niskog rizika bolesti<sup>16,17</sup>. *Zone visoke učestalosti* bolesti s prevalencijom iznad  $30/10^5$  stanovnika su sjeverna i centralna Europa s dijelovima Ruske federacije, Sjeverna Amerika, južni dio Kanade, Novi Zeland i jugoistočna Australija. *Zone srednje prevalencije* od  $5-29/10^5$  stanovnika su Južna Amerika, veći dio Australije, jugozapadna Norveška, sjeverna Skandinavija, Ukrajina te cijeli mediteranski bazen. Sve ostale zemlje Azije, Afrike, sjeverni dio Južne Amerike te Japan spadaju u *zonu niskog rizika* s prevalencijom do  $5/10^5$  stanovnika. Neovisno o tome u svakoj zemlji postoje žarišta bolesti (klasteri), područja s izrazito visokom učestalosti MS iznad  $100/10^5$  stanovnika<sup>18-25</sup>.

Geografska rasprostranjenost MS u Europi ukazuje na visoki stupanj prevalencije u svim sjevernijim dijelovima. Najviša stopa prevalencije zabilježena je na Orkney otocima u sjevernoj Škotskoj ( $250/10^5$ ) i na Šetlandskim otocima u sjeverno-istočnoj Škotskoj ( $100/10^5$ )<sup>26,27</sup>. Prosječna prevalencija od  $80/10^5$  stanovnika Velike Britanije ukazuje da je to područje visokog rizika za MS<sup>28,29,30</sup>. U skandinavskim zemljama je poznata nešto niža prevalencija bolesti. Tako u Norveškoj učestalost MS iznosi od  $60/10^5$  na jugozapadu, do  $32/10^5$  na sjeveru zemlje<sup>31,32</sup>, a u Finskoj od  $93/10^5$  u ruralnim zapadnim dijelovima, u odnosu na industrijski razvijen jug zemlje gdje prevalencija iznosi  $53/10^5$  stanovnika<sup>33</sup>. U Nizozemskoj i Njemačkoj prevalencija ima približno jednake vrijednosti kao u skandinavskim zemljama. U zapadnoj Njemačkoj ona iznosi  $58/10^5$  stanovnika<sup>34</sup>. Podaci o učestalosti bolesti u istočnom dijelu Europe (Poljskoj, Češkoj, Slovačkoj, Rumunjskoj, Estoniji) ukazuju da se ona kreće od 22 do  $52/10^5$  stanovnika<sup>25</sup>. Područje Ruske federacije je zona srednjeg do visokog rizika za MS s prevalencijom od 12 do  $40,5/10^5$  stanovnika<sup>36</sup>. Posljednjih deset godina napredak u

dijagnostici i epidemiološkoj metodologiji ukazao je na činjenicu da su ranije procjene prevalencije MS u Italiji<sup>37-42</sup>, Sloveniji<sup>43</sup>, Hrvatskoj<sup>44,45</sup>, Španjolskoj<sup>46,47</sup>, Grčkoj<sup>48,49</sup>, Albaniji<sup>50</sup>, Makedoniji<sup>51</sup> i Bugarskoj<sup>52-54</sup> bile podcijenjene te da područje južne Europe spada u zonu visokog rizika bolesti s prevalencijom iznad  $30/10^5$  stanovnika<sup>55</sup>.

Posljednja istraživanja rasprostranjenosti MS u Republici Hrvatskoj ukazuju da je Hrvatska većim dijelom područje visokog rizika s neujednačenom distribucijom bolesti. Najviša učestalost bolesti zabilježena je u Gorskom kotaru, kao vremenskom i prostornom žarištu bolesti ( $201,9/10^5$ )<sup>6</sup> te na području Karlovca, Hrvatskog zagorja i Međumurja ( $124,3/10^5$ )<sup>56</sup>. Znatno niže stope prevalencije uočene su u široj riječkoj regiji ( $35,6/10^5$ )<sup>4</sup> i na području Istre ( $24,9/10^5$ )<sup>5</sup>, kao i u južnim i istočnim dijelovima zemlje ( $5-10/10^5$ )<sup>2</sup>.

## 1.2.2. MIGRACIJA I MULTIPLA SKLEROZA

Istraživanja migracija iz područja visokog u zonu niskog rizika za MS i obratno imaju veliki značaj za razjašnjavanje same etiologije bolesti. Mnogobrojne studije prevalencije među migrantima pokazuju da osobe koje migriraju prije ili u vrijeme puberteta stječu rizik zemlje u koju su emigrirali, a ukoliko migriraju nakon puberteta zadržavaju rizik mjesta rođenja<sup>8,57</sup>. Taj će se rizik izjednačiti sa rizikom zemlje u koju se migrira tek u sljedećoj generaciji<sup>15</sup>. U većini studija migracija ističe se značaj adolescencije prilikom migracije i to posebice dob od 15 godine koja se smatra kritičnim razdobljem<sup>58</sup>.

Značaj migracije na rizik oboljevanja od MS najbolje se uočava na primjeru usporedbe Židova rođenih u Izraelu i emigranata u ovu zemlju iz 70 zemalja Europe, Azije i Afrike. Opća prevalencija u Izraelu iznosi  $15/10^5$  ali se značajno razlikuje među emigrantskim skupinama i autohtonih osoba. Tako je među emigrantima iz Evrope učestalost bolesti 6 do 10 puta veća nego u Afro-Azijatskih Židova. Rođeni Izraelci imaju nisku stopu prevalencije sličnu doseljenicima iz Afrike i Azije. Međutim, doseljenici iz Europe koji su emigrirali prije 15 godine imaju samo 1,7 puta veću učestalost MS nego kod Afro-Azijatskih Židova istog uzrasta, a potom se broj naglo povećava<sup>59-62</sup>. To bi ukazivalo da bolest ne nastaje prilikom rođenja ili ranog djetinjstva već u kritičnom razdoblju puberteta.

Također, prevalencija i incidencija među djecom emigranata iz Zapadne Indije u Veliku Britaniju je približna vrijednostima karakterističnim za Veliku Britaniju<sup>58</sup>.



Dean i Kurtzke 1971. godine<sup>63</sup> nalaze među emigrantima iz sjeverne Europe u Južnu Afriku prevalenciju od 49/10<sup>5</sup>, dok je ona među bjelcima Južne Afrike svega 11/10<sup>5</sup>. Među emigrantima koji su se doselili prije 15 godine rizik oboljevanja od MS je smanjen na manje od jedne trećine<sup>64-65</sup>.

Općenito uzevši podaci o migracijama idu u prilog pretpostavci da je MS egzogena bolest nastala pod utjecajem faktora okoliša, s razdobljem podložnosti u vrijeme adolescencije i dužeg perioda "latencije" između početka i pojave prvih simptoma bolesti<sup>66-70</sup>.

### 1.2.3. RASNA I ETNIČKA PODLOŽNOST U MULTIPLOJ SKLEROZI

MS je bolest koja je predominantna među pripadnicima bijele rase<sup>8,71,72</sup>. Najviše stope prevalencije uočene su na Islandu, Skandinaviji, Britanskom otočju kao i u zemljama koje su naselili sjevernoeuropski narodi i njihovi potomci (Sjeverna Amerika, Kanada, Australija i Novi Zeland). Bolest se pak javlja sa znatno nižom učestalošću u područjima Orijenta, Indije, Arapskih zemalja, te Južne Amerike i Afrike, koje su pretežito naseljene stanovništvom ostalih rasa. Tako je u Sjevernoj Americi bolest vrlo učestala u dijelovima naseljenim stanovništvom skandinavskog podrijetla i rijetka među pripadnicima crne rase<sup>73</sup>. Otpornost na bolest je očuvana i u američkih Indijanaca te u Indijaca koji su emigrirali u Veliku Britaniju<sup>64</sup>. MS je također rijetka u crnih Afrikanaca te relativno učestala u europskih stanovnika Afričkog kontinenta<sup>74,75</sup>. Orijentalci imaju također nisku podložnost za MS koja iznosi od 0,88-4/10<sup>5</sup> stanovnika u Kineza i Japanaca<sup>76-78</sup>. Radovi o učestalosti bolesti u Jordanu<sup>79</sup>, Iraku<sup>80</sup> i Kuvajtu<sup>81</sup> pokazuju da je prevalencija u Arapa također niska (5/10<sup>5</sup>). U Australiji i Novom Zelandu bolest se vrlo rijetko javlja u Aboridžina i Maora, nasuprot visokoj učestalosti među osobama bijele rase<sup>82,83</sup>. Vrlo rijetko, ili nikad, MS nije bila dijagnosticirana u mađarskih Roma, Laponaca i Eskima<sup>32,84,85</sup>.

Određeni rasponi postoje i unutar područja s visokom učestalošću bolesti. Tako je u Velikoj Britaniji MS učestalija u sjevernoistočnoj Škotskoj i na Orkney i Šetlandskim otocima nego u zapadnom dijelu Škotske te većini Engleske, Velsa i Irske<sup>86</sup>. U Italiji su zamijećene razlike u frekvenciji bolesti između bliskih regija naseljenih stanovništvom različite genetičke i kulturne povijesti<sup>87</sup>. Neujednačena rasprostranjenost MS zamijećena je i u Gorkom kotaru i vjerojatno je uvjetovana različitim etničkim podrijetlom stanovništva. Naime, najviša prevalencija bolesti je u zapadnim područjima, gdje su stanovnici većinom germanskog

podrijetla, a izrazito niska u istočnim dijelovima naseljenim vlaškim, pravoslavnim stanovništvom<sup>6</sup>.

Poser<sup>88</sup> iznosi zanimljivu teoriju o rasprostranjenosti bolesti smatrajući da su Vikinzi imali odlučujuću ulogu u diseminaciji genetičke podložnosti za MS u svim dijelovima svijeta. Vikinzi su izvršili prodor u većinu Europskih zemalja, naselivši Normandiju, Siciliju i južnu Italiju. Također su s Arapima trgovali duž riječnih puteva na Kavkazu, Crnom i Kaspijskom moru te prodrli u Perziju, Indiju i vjerojatno Kinu. Migrirali su i na istok u područje Ruske federacije te činili dijelove vojske Bizantijskog carstva. Učestvovali su i u križarskim ratovima, te kao Rusi skandinavskog podrijetla činili su dijelove Mongolske vojske. Važni faktori u genetičkoj diseminaciji MS bi mogli biti zarobljavanje i prodaja žena i djece, kao i trgovina robljem, koje je u tom razdoblju bilo uobičajeno.

Na osnovu iznijetih podataka može se zaključiti da rasna i etnička podložnost determinira rasprostranjenost MS u svijetu. Bolest se javlja s visokom učestalošću u onim dijelovima zemlje gdje je visoka frekvencija gena iz sjevernoeuropskih područja.

#### 1.2.4. FAMILIJARNA I BLIZANAČKA MULTIPLA SKLEROZA

MS je bolest koja ima tendenciju češćeg javljanja unutar jedne obitelji. Familijarna učestalost javljanja može biti viša od 20%<sup>89</sup> i nema nikakvih podataka da obiteljski i sporadični oblici bolesti imaju različitu kliničku sliku ili specifičan klinički tijek bolesti<sup>90</sup>. Brojne studije su ispitivale učestalost bolesti među srođnicima aficiranih osoba<sup>89-94</sup>. U obiteljima s familijarnim oblicima MS najčešće su bolesni braća i sestre bolesnika, što može biti posljedica konasljeđivanja faktora podložnosti, ali i zajedničkog izlaganja okolišu u doba djetinjstva.

Najvrijedniji podaci o stopama javljanja bolesti u različitim kategorijama srođnika dobijeni su ispitivanjem familijarne MS u Kanadi<sup>91</sup>. Ukupna učestalost MS iznosi 20% za prve, druge i treće srođnike. Rizik od oko 4% za braću i sestre veći je od rizika za djecu bolesnika (2%). U srođnika drugog stupnja rizik javljanja bolesti iznosi 1%. Ove vrijednosti su podudarne s rezultatima ispitivanja familijarne MS u sjevernoeuropskih naroda<sup>10</sup>.

Klasična metoda koja omogućava razlikovanje relativnog doprinosa genetičkih i okolišnih faktora u multifaktorijalnim bolestima je studija blizanaca. Usporedba konkordantnih stopa između monozigotnih i dizigotnih parova omogućava procjenu utjecaja genetičkih

faktora u etiologiji bolesti. S druge strane, relativne konkordantne stope između dizigotnih blizanaca i neblizanačke braće i sestara daju procjenu okolišnih ili drugih nenasljednih činioca.

Značajna ispitivanja blizanačke MS zasnovane na populacijskim studijama provedene su posljednjih godina u Kanadi i Britanskim otocima. Sedmogodišnje istraživanje blizanaca u Kanadi<sup>95</sup> je obuhvatilo populaciju od 5463 bolesnika s MS i ukazalo na konkordantnu stopu od 25,9-30,8% u monozigotnih i 2,4-4,7% u dizigotnih blizanaca istog spola. Razlika u konkordantnim stopama sugerira da najmanje dva ili više gena sudjeluju u etiologiji MS.

Rezultati 105 parova blizanaca Britanskog otočja ukazuju na konkordantnu stopu od 25,0% u monozigotnih i 3,3% u dizigotnih blizanaca<sup>96</sup>.

Ostale studije su također dale slične rezultate ističući približnu konkordantnu stopu od 25% za monozigotne i oko 3% za dizigotne blizance<sup>97-99</sup>.

Izuzetak predstavlja studija blizanaca u Francuskoj, gdje se konkordantna stopa u monozigotnih blizanaca od 5,9% ne razlikuje značajno od 2,7% nađene u dizigotnih blizanaca<sup>100</sup>. Nepodudarnost u ovom istraživanju može biti prije rezultat pogrešnog metodološkog pristupa, nego činjenice da postoje razlike u značaju genetičkih utjecaja u Francuskoj u odnosu na druga geografska područja.

Općenito uzevši, podaci o rizicima javljanja bolesti u obiteljima s MS u odnosu na rizik opće populacije, ukazuju da bi više od jednog gena moglo determinirati podložnost za MS<sup>101</sup>.

#### 1.2.5. MULTIPLA SKLEROZA U KONJUGALNIH PAROVA

Do danas postoji samo nekoliko studija konjugalne MS (kada su oba supružnika aficirana) i to su uglavnom izvještaji individualnih slučajeva<sup>102-105</sup>. Ne postoje sistematske populacijski zasnovane studije koje bi mogle odgovoriti na pitanje o alteraciji rizika za supružnika s MS.

Ukoliko je transmisijski čimbenik odgovoran u etiologiji bolesti, očekuje se povećana stopa bolesti u supružnika oboljelih od MS. Suprotno, ako je spomenuti čimbenik operativan u ranom djetinjstvu ili ako genetički faktori determiniraju familijarnu agregaciju bolesti, tada se neće očekivati viša stopa konjugalne MS.

Smatra se da bi stopa konjugalne MS mogla biti jednaka općoj populacijskoj prevalenciji bolesti, vjerojatno nešto viša uslijed češćeg sklapanja braka među osobama istog etničkog podrijetla<sup>101</sup>.

### 1.2.6. MOGUĆI GENI PODLOŽNOSTI ZA MULTIPLU SKLEROZU

Pokušaji da se identificiraju relevantni *geni podložnosti za MS* zasnivaju se na detektiranju združenosti MS s određenim genetičkim markerima u populacijskim studijama ili na dokazivanju njihove genetičke povezanosti u obiteljskim studijama. Polazeći od činjenice da je MS autoimuna bolest, uglavnom su se istraživali geni značajni u imunološkom odgovoru: geni HLA sustava, kao i oni odgovorni za određivanje T-staničnih receptora i imunoglobulina<sup>106,107</sup>.

Prva i možda jedina regija koja određuje gene podložnosti za MS je ona koja se nalazi u glavnom sustavu tkivne srodnosti (HLA), lokalizirana na kromosomu 6q21.1-21.3. Poznato je da je HLA sustav najpolimorfiji genski kompleks u čovjeka i od posebnog interesa u istraživanjima jer se više od 40 bolesti povezuje s nasljeđivanjem gena HLA sustava. Od toga mnogi su poremećaji autoimunog tipa<sup>108</sup>.

Ranih sedamdesetih godina je MS bila jedna od prvo otkrivenih bolesti koja je pokazivala ovisnost o nasljeđivanju HLA sustava. Inicijalne studije su istakle združenost s antigenima klase I glavnog sustava tkivne srodnosti A3 i B7, da bi kasnije suvremene populacijske studije utvrdile jaku asocijaciju bolesti sa klasom II antigena DR15 i DQ6 (subtipovi DR2 i DQw6) i njihovim odgovarajućim genotipovima DRB1.1501, DRB5.0101 i DQA1.0102, DQB2.0602<sup>109</sup>. Međutim, populacijske studije ne mogu razlučiti koji aleli klase II primarno mogu biti geni podložnosti za MS. Danas se sve češće ukazuje na to da je DR15 glavni biljeg podložnosti. Međutim, poznato je da su lokusi DR15 i DQ6 tijesno vezani, pa je između njih rijedak crossing-over, stoga je teško zaključiti koji od ova dva gena vrši veći utjecaj na podložnost za MS<sup>110-112</sup>.

Pozitivna združenost s DR15 i DQ6 dokazana je u brojnim studijama populacija kavkaskog podrijetla, a također, suprotno ranijim izvještajima, i u Japanu<sup>108</sup>. U većini populacija nosioci DR15 i DQ6 imaju 3 do 5 puta veći rizik oboljevanja od MS. Specifična združenost s DR4 je nađena u populaciji Sardinije, ali nije bila potvrđena u Japanaca i Jordanaca<sup>111-115</sup>.

Ispitivanje MS i antigena HLA sustava u Gorskom kotaru ukazalo je da se autohtoni MS bolesnici razlikuju od kontrola jedino za antigen DR2 te da imaju povišen relativni rizik za antigene A1 (RR 2,39), B7 (RR 2,25), DR2 (RR 3,04) i DR9 (RR 6,00)<sup>116</sup>.



Unatoč dokazanoj združenosti MS i HLA sustava u populacijskim studijama, obiteljske analize su pokazale suprotne rezultate. Naime, Kellar Wood sa suradnicima<sup>117</sup> je pokazao da je alel DR15 združen, ali ne i genetički povezan u obiteljima sa MS. U obimnom istraživanju 109 obitelji sa 115 aficiranih parova braće i sestara familijarni oblici MS se nisu razlikovali od sporadičnih slučajeva u HLA frekvenciji. Usporedbom svih aficiranih osoba (tj. familijarnih i sporadičnih slučajeva) s kontrolnom skupinom zdravih osoba dobivena je značajna združenost između MS i prisustva DR15/DQ6/DW2. Heterozigotno prisustvo DR15 nosilo je relativni rizik od 2,6 koji se povećavao do 8,3 u homozigota. Unutar obitelji združenost je također potvrđena usporedbom učestalosti alela u familijarnim oblicima MS i u skupini neaficiranih braće i sestara pri čemu se MS združeni haplotip češće prenosio na bolesne osobe nego na zdrave srodnike. Međutim, unutar obitelji nije bila dokazana povezanost podložnosti za MS i HLA DR lokusa.

Iako je još uvijek nepoznata osnova združenog HLA nasljeđivanja i MS, moguće je da molekule kodirane u HLA regiji, kao što su limfotoksin (LT) i tumor nekroza faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) imaju kritičnu ulogu u imunopatogenezi MS<sup>10</sup>. Naime, postoje pretpostavke da i CD4+, T stanice koje sudjeluju u patogenezi MS, su specifične za mijelin bazični protein (MBP) ili druge autoantigene. Ove autoantigen-specifične T stanice preegzistiraju u normalnom imunološkom sustavu, te nakon aktivacije na periferiji, ulaze u SŽS i u kontaktu s lokalnim antigen-prezentirajućim stanicama prepoznaju autoantigen. Nakon lokalne restimulacije, T stanice mogle bi producirati solubilne čimbenike tipične za upalnu reakciju, kao što su interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), LT i TNF- $\alpha$ . Ovi citokini imaju jak lokalni utjecaj tako da induciraju i regrutiraju dodatne inflamatorne stanice. Štoviše, LT i TNF- $\alpha$  direktno doprinose oštećenju mijelina. S obzirom da su i LT i TNF- $\alpha$  kodirani u HLA regiji, moguće je da združenost MS sa HLA-DR2 može biti u svezi s ispoljavanjem ovih citokina. Zipp i suradnici<sup>118</sup> su testirajući ovu hipotezu ispitivali produkciju navedenih citokina od strane CD4+ staničnih linija (TCL) u bolesnika s MS i zdravih osoba. Rezultati su pokazali da antigen-specifične CD4+ stanice iz HLA-DR2+ donora produciraju značajno više LT i TNF- $\alpha$  od identičnih T stanica HLA-DR2-kontrola, i slične količine IFN- $\gamma$  koji je kodiran na kromosomu 12. Nije bilo značajne združenosti produkcije citokina s individualnim LT i TNF- $\alpha$  alelima, što ukazuje da je povećana produkcija ovih citokina moguće vezana s drugim polimorfnim genima u ovoj regiji.

Navedeni rezultati sugeriraju da združenost MS s HLA-DR2 uključuje genetički determiniranu sklonost T stanica da produciraju povećane količine LT i TNF- $\alpha$ <sup>118</sup>.

Kao *markeri podložnosti za MS* ispitivan je i polimorfizam T staničnih-receptora (TCR) alfa i beta gena. Martell sa suradnicima<sup>119</sup> je prvi dokazao značajno povećanje frekvencije alela V regije alfa lanca u DR 15 pozitivnih MS bolesnika u usporedbi s kontrolnom skupinom. Iako su ovi rezultati potvrđeni od strane Oksenberg-a i suradnika<sup>120</sup>, skorašnje populacijske studije su dokazale da polimorfizam kodiran u lokusu varijabilne ili konstantne regije alfa lanca ne doprinose podložnosti za MS<sup>121-123</sup>. Ni obiteljske studije nisu potvrdile da geni unutar TCR alfa lokusa na kromosomu 14 doprinose podložnosti za MS<sup>122-124</sup>.

Nasuprot tome, dok populacijske studije nisu dokazale nikakvu združenost između MS i gena TCR beta lanca<sup>119,120,125-127</sup>, obiteljska ispitivanja ostavljaju mogućnost da dotični gen doprinosi podložnosti za MS<sup>128,129</sup>. Ispitujući distribuciju haplotipa TCR beta lanca u velikog broja parova braće i sestara, Wood i suradnici<sup>129</sup> ukazuju na genetičku povezanost. Rezultati su bili još značajniji nakon stratifikacije za prisustvo DR 15 u obje osobe istog para sugerirajući interakciju između genetičkih polimorfizama unutar HLA i TCR gena.

Detekcija plazma stanica i B limfocita unutar zona akutne demijelinizacije te visoka frekvencija oligoklonalnog udruživanja u uzorku spinalne tekućine bolesnika s MS su dovele do istraživanja uloge imunoglobulinskih gena na podložnost za MS<sup>10</sup>. Istraživači su većinom bili usmjereni na ispitivanje imunoglobulinskih gena teških lanaca, koji su lokalizirani na kromosomu 14q 32.3<sup>130</sup>. Suvremene populacijske i obiteljske studije nisu pokazale ni združenost ni genetičku povezanost između MS i konstantne regije imunoglobulinskih gena<sup>131-133</sup>. Walter i suradnici<sup>134</sup> kao i Hashimoto<sup>135</sup> našli su populacijsku združenost sa 3.4 kb alelom varijabilne regije imunoglobulinskog gena (VH2-5), ali ne i genetičku povezanost u obiteljima s MS. Međutim, nedavno je Wood<sup>136</sup> studirajući 124 obitelji s familijarnim oblicima MS dobio rezultate koji sugeriraju moguću genetičku povezanost. Zbrajajući rezultate navedenih studija moglo bi se zaključiti da se gen koji utječe na podložnost za MS nalazi blizu varijabilne regije imunoglobulinskog genskog kompleksa, ali nije jedan od postojećih VH2 alela.

Postoji nekoliko razloga zašto se gen za MBP, lociran na kromosomu 18q22-q23<sup>137</sup> smatra kandidatom u podložnosti za MS. MBP je važan element u sistemu sintetiziranja mijelina i može graditi mijelin-autoantigen u MS<sup>138-141</sup>. Precizna funkcija MBP nije poznata ali

se smatra da ima ulogu u održavanju stabilnosti mijelina. Također, smatra se kritičnim signalom u inicijaciji formiranja mijelina nakon njegovog oštećenja<sup>142,143</sup>.

Nekoliko studija su istraživale utjecaj MBP gena u podložnosti za MS. Boylan i suradnici<sup>144</sup> su utvrdili da MS bolesnici u Kanadi imaju povećanu učestalost određenog najvećeg alela u usporedbi s kontrolnom skupinom. Zduženost, ali ne sa spomenutim alelom, kao i genetičku povezanost je pokazao Tienari sa suradnicima<sup>145</sup> ispitivanjem MS bolesnika u Finskoj. Međutim, nedavne studije iz Salt Lake City-a i Velike Britanije, koje nisu dokazale genetičku povezanost u mnogobrojnim obiteljima sa MS<sup>146,147</sup>, te izostanak populacijske zduženosti u sjevernoj Irskoj<sup>148</sup> sugeriraju zaključak da polimorfizam MBP gena ne doprinosi podložnosti za MS u većini bolesnika.

S obzirom da je većina navedenih istraživanja mogućih gena podložnosti za MS dala protivurječne rezultate, očekuje se od budućih kombiniranih populacijskih i obiteljskih studija da doprinesu razjašnjavanju genetičke osnove MS, te potvrde mišljenja da u genetičkoj predispoziciji učestvuje veći broj gena od kojih jedan ili više reguliraju imunološki odgovor.

#### 1.2.7. OKOLIŠNI ČIMBENICI I MULTIPLA SKLEROZA

Epidemiološka istraživanja MS imala su nedvojbeno vrlo značajnu ulogu u istraživanju same bolesti. Ona su ukazala da je MS najvjerojatnije uzrokovana mnogobrojnim egzogenim čimbenicima koji djeluju na genetički predisponirane osobe u vremenskom razdoblju prije puberteta<sup>9</sup>. Okolišni čimbenici za koje se vjeruje da doprinose patogenezi MS mogu se klasificirati u: geografske (reljef, nadmorska visina, klima, kompozicija tla i vode), socio-ekološke (redosljed rođenja, dob i zdrastveno stanje roditelja, vjerska kultura, obrazovanje i profesija, urbanizacija, navike i kolektivni interesi, kontakti sa životinjama, ishrana, toksini, droge, radijacija, stupanj medicinske zaštite), infektivne (virusni, bakterijski ili nepoznati agensi) i ostale (trauma, operacije, stres, trudnoća, pobačaj, alergija)<sup>36</sup>.

Što se tiče osobenosti *reljefa*, podaci o utjecaju planinskog karaktera zemljišta su pružili neuvjerljive rezultate. U većini studija više stope prevalencije su nađene u regijama s većom nadmorskom visinom<sup>149-153</sup>, ali postoje istraživanja koja su dala suprotne rezultate<sup>154-158</sup>. U našoj zemlji područje s najvišom prevalencijom i incidencijom bolesti je brdovito područje Gorskog kotara<sup>6</sup>, a Materljan navodi da je rizik za MS veći u planinskom nego u ravničarskom dijelu Istre<sup>5</sup>.

Sljedeća točka interesa bila je *prirodna radijacija* i njen mogući utjecaj na imunološku funkciju. Svega nekoliko ranijih radova bilo je usmjereno na ispitivanje prirodne radijacije i MS. Barlow 1960. godine<sup>159</sup> je ukazao na korelaciju između stope mortaliteta bolesnika s MS i intenziteta kosmičkog zračenja u Americi, Australiji i Italiji. Rezultati su potvrđeni od strane Resch-a<sup>160</sup> koji je istu korelaciju našao u sjevernim dijelovima Europe. U kontekstu ovih istraživanja Kreienbrock i suradnici<sup>161</sup> smatraju da bi bilo interesantno istražiti ulogu radijacije zemljišta koja je visoka u planinskim područjima.

Također, brojni su radovi skrenuli pažnju na ulogu *klimatskih faktora* i MS. Najznačajnija uloga se pripisuje prosječnoj godišnjoj temperaturi, insolaciji, te sezonskim varijacijama. U najvećem broju istraživanja je pokazana pozitivna korelacija između prevalencije za MS i niske temperature i insolacije<sup>21,70,149,151,152,154,162,163</sup>. Sepčić i Ledić 1980. godine<sup>164</sup> nagli pad prevalencije u riječkom kraju dovode u korelaciju s insolacijom, smatrajući da ona ima značajnu zaštitnu ulogu. Naime, u priobalno-otočkom dijelu insolacija se razlikuje u odnosu na Gorski kotar za 853 sunčanih sati, a razlika u prevalenciji je također očita.

Posebno se istraživala i moguća uloga *geoloških karakteristika* na MS. Tako Layton i suradnici<sup>165</sup> navode da bi viša koncentracija molibdena, a Warren i suradnici<sup>166</sup> olova u tlu mogle utjecati na distribuciju MS. Irvine i suradnici<sup>167</sup> u Kanadi ukazuju pak na visoku koncentraciju kroma, olova i nekih drugih elemenata te nisku koncentraciju aluminijskog oksida, kobalta, magnezija, molibdena itd. Također su nađene i brojne devijacije u pitkoj vodi, npr. visoke koncentracije molibdena i niska koncentracija olova, suprotno njihovim vrijednostima u tlu. U studiji Lauer-a i suradnika<sup>168</sup> u Njemačkoj je nađena značajna pozitivna korelacija MS sa poliaromatskim hidrokarbonima u vodi, koji su izgleda posljedica paljenja poljoprivrednih površina. Određene povezanosti su nađene između incidencije MS i učestalosti glinovitih u odnosu na pjeskovita tla u Njemačkoj, Finskoj i Danskoj<sup>152,168,169</sup>. Visoki rizik za MS je uočen i u područjima bogatim tresetom, kao npr. u Finskoj, Irskoj i Škotskoj<sup>9</sup>.

Konzistentna korelacija između MS i područja s *četinarskim šumama* je uočena u cijeloj europsko/bliskoistočnoj regiji, u bivšoj Sovjetskoj uniji, Finskoj i Njemačkoj<sup>151,170</sup>. Isti rezultati su dobijeni promatranjem distribucije MS i četinarskih šuma u Rumunjskoj, Čehoslovačkoj i bivšoj Jugoslaviji<sup>171,172,43,44</sup>. U tom kontekstu uočene su i određene kemijske osobitosti u područjima s četinarima i tresetom (npr. viši sastav smole) koji mogu biti u vezi s prehranom stanovništva na tim područjima<sup>173,174</sup>.



Epidemiološka istraživanja skrenula su pažnju na često specifični okoliš pacijenata s MS. Moguća uloga brojnih lokalnih faktora, počev od *sanitarno-higijenskih uvjeta* pa do *profesije, industrije i životnih navika*, nametnula je potrebu za njihovim daljnjim istraživanjem. Ispitivanja povezanosti MS sa životnim standardom i sanitarno-higijenskim uvjetima dala su protivurječne rezultate. Viši rizik za MS nađen je u osoba koje pripadaju višoj srednjoj klasi u Italiji i Grčkoj<sup>55,48</sup>, dok su suprotni rezultati dobiveni u istočnoj Španjolskoj i Gorskom kotaru<sup>75,44</sup>. Međutim, *religija* sa svojim jakim uplivom u način života mogla bi biti važan indikator za vjerodostojne rizike bolesti. Boiko i suradnici<sup>36</sup> ukazuju da su stope prevalencije znatno više u zemljama s kršćanskom tradicijom nego u islamskom svijetu. Studije prevalencije u Albaniji<sup>50</sup> i Makedoniji<sup>51</sup> ukazuju na marginalno značajnu združenost bolesti s kršćanskom kulturom.

Vrlo važno pitanje, posebice u današnje vrijeme, je da li je MS učestalija u industrijskim zonama te da li tvornički ispušni plinovi mogu imati ulogu u poticanju bolesti. Jedlicka sa suradnicima<sup>172</sup> ukazuje na prevalenciju višu od 100/10<sup>5</sup> u području Češke Republike koje se odlikuje prisustvom teške industrije, posebice kemijskog i metalnog tipa. Pritom je posebna pažnja usmjerena na kontaminaciju zraka sumpor-dioksidom u tim zonama, kao i nitrooksidima iz motornih vozila. Slični rezultati su dobiveni ispitivanjem MS u industrijskim regijama u Mađarskoj<sup>175</sup>. Također, značajna frekvencija bolesti je utvđena u većini zemalja u snažnim industrijskim regijama<sup>151,152,158,163,168,170,171</sup>, ali to može biti i posljedica boljeg programa socijalne zaštite u tim zonama. Pritom je uočeno da je drvna industrija značajno združena s MS rizikom i to u onim područjima bogatim četinarskim šumama<sup>170,176</sup>. Dok je u Francuskoj, dijelu Europe i Bliskom istoku nađena korelacija između MS i kemijske i plastične industrije<sup>158,170</sup>, u većini ostalih zemalja ona nije potvrđena<sup>151,163</sup>.

Ispitivanja korelacije između pojedinih zanimanja i rizika za MS nisu dala konzistente rezultate. Neki autori smatraju da MS prevladava u fizički napornim profesijama, prije svega u poljoprivrednih i fizičkih radnika<sup>2</sup>. Sepčić<sup>177</sup> naprotiv nalazi među benignim MS pacijentima slučajeve koji su profesionalno opterećeni teškim fizičkim radom. Drugi autori uočavaju veću učestalost MS među obučarima i kožarskim radnicima pritom naglašavajući ulogu određenih organskih otapala kao mogućí povećan rizik za bolest<sup>178-181</sup>. Kontinuirano izlaganje toksičnim agensima, posebice organskim otapalima, je nađeno u MS bolesnika u Italiji<sup>178,179</sup>. Takvi rezultati su u skladu s Poserovom hipotezom<sup>182</sup> da toksični agensi mogu uzrokovati povremeni gubitak integriteta krvnomoždane barijere, što se smatra prvim događajem u patogenezi formiranja plakova. Određeni autori su ukazali na veću frekvenciju bolesti među medicinskim

sestrama<sup>82,183</sup>, što nisu potvrdile ponovljene studije u drugim područjima<sup>168,184</sup>. Činjenica je da prekomjerno tjelesno opterećenje u profesiji ili izvan nje može bitno utjecati na tijek bolesti, te se u tim slučajevima preporuča izmjena radnog mjesta bolesnika prilagođenog njegovim fizičkim mogućnostima.

Od ispitivanih *poljoprivrednih kultura* jedino je u većem broju studija utvrđena korelacija između kulture zobi i MS rizika<sup>151,152,158,163,185</sup>. Temeljito istraživanje uloge domaćih životinja, kao vektora navodnih virusnih agenasa, dalo je slabe rezultate. Dok je u nekim studijama uočena asocijacija između MS i kontakta s mačkama, govedima, ovcama i kozama, nešto češće s psima<sup>55,153</sup>, drugi su autori pokazali negativnu korelaciju u svojim uzorcima<sup>158,185</sup>.

Swank i suradnici<sup>186</sup> 1950. godine prvi ukazuju da jača kalorična *ishrana* nakon drugog svjetskog rata u Norveškoj dovodi do povećane frekvencije MS bolesnika pri čemu navodi životinjske masti kao mogući rizični faktor za MS. Ti rezultati su utjecali na daljnja istraživanja o mogućem uzroku prehrane u etiopatogenezi MS. Povećan rizik za MS nađen je u velikom broju zemalja gdje je pojačana konzumacija mesa, ali isto tako je nađena pozitivna korelacija s upotrebom maslaca u razdoblju adolescencije<sup>168,187,188,189</sup>. Dean<sup>190</sup> ističe povezanost konzumiranja mlijeka s MS i sadržaja nezasićenih masnih kiselina u njemu što je u suprotnosti s činjenicom da Afrikanci, iako piju mlijeko u velikim količinama, vrlo rijetko oboljevaju od MS<sup>191</sup>. Lauer i suradnici<sup>192</sup> ukazuju na ulogu specifične vrste dimljenog mesa na Farskim otocima, što je potvrđeno u Francuskoj, Švicarskoj te Mediteranskoj regiji<sup>193,194</sup>. U hrani pripremljenoj na taj način sadržani su nitrofenoli koji su od posebnog interesa u nastanku autoimunosti. Sepčić i suradnici<sup>195</sup> ispitujući utjecaj nutritivnih čimbenika u etiologiji bolesti u Gorskom kotaru, utvrdili su značajnu asocijaciju s konzumiranjem nepasteriziranog mlijeka, životinjske masti, dimljene svinjetine i krumpira.

U Italiji je ispitivanje povijesti bolesti bolesnika ukazalo na povećan broj *alergijskih manifestacija* što ukazuje na poremećen imunološki status tih osoba<sup>55</sup>. U Hrvatskoj je nađena veća učestalost prethodnih *ozljeda glave, vrata i kralježnice* u MS bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih osoba<sup>44</sup>.

Unatoč obilju deskriptivnih i analitičkih epidemioloških podataka iz studija provedenih širom svijeta s različitim metodološkim pristupima, predložene interpretacije i zaključci nisu još uvijek definitivni i moraju se sagledavati s posebnim oprezom. Od budućih epidemioloških i genetičkih istraživanja se očekuje da objasne enigmu takve složene bolesti kao što je MS.

## 1.2.8. VIRUSI U ETIOLOGIJI MULTIPLE SKLEROZE

Do danas je indikacija za postojanje virusnog uzročnika MS indirektna, jer niti jedan od brojnih predloženih virusnih agenasa nije reproducibilno izoliran iz tkiva oboljelih od MS. Također, viralne čestice nisu konzistentno pokazane elektronskim mikroskopom, niti je prisustvo virusnog genoma ili antigena u MS dokazano suvremenim tehnikama molekularne biologije<sup>196</sup>.

Međutim, nekoliko sljedećih činjenica ukazuju na postojanje virusnog agensa u etiologiji MS: pojava spontanih virusnih modela demijelinizacije SŽS-a; povećan titar virusnih antitijela u serumu i cerebrospinalnom likvoru MS bolesnika (posebice virus ospica); kasniji nastup infekcije u djetinjstvu virusom ospica i drugim virusima u zonama visoke prevalencije MS<sup>197-202</sup>, pojava vremenskih žarišta MS u udaljenim populacijama<sup>203-207</sup>. Također, upalni procesi SŽS-a i povećanje titra IgG u cerebrospinalnom likvoru su u korelaciji s infektivnim procesom, ali se mogu zamijetiti i u imunološki uvjetovanim neurološkim bolestima<sup>3</sup>.

Predloženi su i određeni mehanizmi demijelinizacije inducirane virusima. Tako se drži da virus može biti prisutan u mozgu i drugim tkivima domaćina, ali ga je još uvijek nemoguće detektirati. Druga pretpostavka je da infektivni agens može "okinuti" autoimunološki proces i nestati iz domaćina u vrijeme kliničkog nastupa bolesti. I zadnje, virus može imunomodulirajućim ili immunosupresivnim utjecajem na limfocite domaćina promijeniti imunološku kontrolu dozvolivši pojavljivanje autoreaktivnih T stanica ili autoantitijela<sup>196</sup>. Virus ospica i štenećaka su primjeri uzročnika s navedenim karakteristikama<sup>208,209</sup>.

Danas se ukazuje na nekoliko humanih virusa koji predstavljaju moguće etiološke uzročnike za MS. To su *virus ospica*<sup>197-202,210,211</sup>, *koronavirus 229E*<sup>212,213</sup> i *Epstein-Bar virus*<sup>202,213-216</sup>. Mogući kandidati u skupini životinjskih virusa, su *koronavirus*, *štakorski hepatitis*, *virus štenećaka*, *Theilers* i *visna virus*, jer mogu uzrokovati demijelinizacijsku bolest s remisijama i egzacerbacijama kao i progresijama<sup>196</sup>.

Svaki navedeni virus trebao bi prouzročiti demijelinizaciju u životinja ili čovjeka i oblik infekcije bi trebao biti u skladu sa geografskim karakteristikama epidemiologije za MS. Također, serološke studije bi trebale dokazati infekciju određenim agensom te bi virusni genom trebao biti detektiran u tkivima oboljelih od MS. Međutim, do danas nijedan od spomenutih virusa nije povezan u tom smislu s MS. Nekoliko nedavnih studija o virusnom

uzročniku MS i drugih demijelinizacijskih bolesti su ukazale da je virus štenecćaka (Canine distemper virus) kao vodeći potencijalni uzročnik MS<sup>208,217-221</sup>.

## 1.2.9. REDOSLIJED ROĐENJA I MULTIPLA SKLEROZA

Problem MS i redoslijeda rođenja bio je predmet istraživanja mnogih autora posljednjih godina<sup>222-230</sup>. Postavljena hipoteza je pretpostavljala da je MS provocirana nepoznatom infekcijom u doba djetinjstva ili adolescencije. Spomenuta infekcija nije štetna ili je čak protektivna u ranom djetinjstvu, slično poliomijelitisu, ali je zato patogena ukoliko se prvi put javi kasnije u životu<sup>222</sup>. Stoga se smatra da rani redoslijed rođenja odgađa izlaganje hipotetičkom agensu od ranog djetinjstva do kasnijeg doba starosti. Na osnovu toga se može zaključiti da je rizik za MS viši u ranije rođene djece u odnosu na kasnije rođenu. Kasnije rođena djeca su ranije mogla biti izložena infekciji preko starijih braće i sestara koji su u školi dolazili u kontakt s infektivnim agensima.

Spomenuta hipoteza je testirana u većem broju studija korištenjem različitih metodologija. Rezultati su obično bili protivrječni. Naime, Alperowich i suradnici<sup>223</sup> su našli značajnu frekvenciju aficiranih među kasnije rođenim članovima u odnosu na očekivanu, a iste rezultate sa slabijom značajnošću su iznijeli u radovima Pratt<sup>224</sup>, Cendrowski<sup>225</sup>, Poskanzer i suradnici<sup>200</sup> i Visscher i suradnici<sup>226</sup>, dok Cripps i suradnici<sup>227</sup> i Koch-Henriksen<sup>222</sup> nisu uočili utjecaj redoslijeda rođenja u svojim uzorcima.

Samo dvije studije su uključile i kontrolne skupine u ispitivanje redoslijeda rođenja. Isager i suradnici<sup>228</sup> su našli da je rizik za MS značajno združen s ranim redoslijedom rođenja, a ista tendencija je dokazana, iako s manjom značajnošću, u radu Visscher-a i suradnika<sup>227</sup>.

Gaudet sa suradnicima<sup>229</sup> je ispitivao redoslijed rođenja u obiteljima s familijarnim oblikom bolesti. Naime, ukoliko je izlaganje određenim zajedničkim uvjetima okoliša odgovorno za pojavu obiteljske pojavnosti MS, može se očekivati da će u slučajevima gdje je aficirano više braće i sestara biti bolesni oni koji su bliski po redoslijedu rođenja. Međutim, rezultati su pokazali da su pacijenti s MS bili slučajno raspoređeni po rođenju što ne podržava hipotezu da je pojava bolesti u braće i sestara uslijedila nakon istovjetnog izlaganja faktorima okoliša.



### 1.3. HIPOTEZE O ETIOLOGIJI MULTIPLE SKLEROZE

Unatoč brojnim epidemiološkim i genetičkim istraživanjima MS, još uvijek je nepoznata etiologija bolesti. Već više od pedeset godina podijeljena mišljenja znanstvenika formiraju dvije osnovne hipoteze o uzročnosti MS: *okolišnu* i *genetičku*.

*Okolišna hipoteza* u etiopatogenezi bolesti najveći značaj daje mjestu prebivanja tj. govori da MS primarno rezultira djelovanjem okolišnih faktora pri čemu se ne odbacuje postojanje određene genetičke predispozicije<sup>8,9</sup>. Ovu hipotezu podupiru sljedeće činjenice: 1) rasprostranjenost MS je neujednačena u cijelom svijetu<sup>2,16,17,25,35</sup> 2) incidencija bolesti se mijenjala u relativno kratkom vremenskom razdoblju, prije kao posljedica promijenjenih uvjeta okoliša nego učinaka genske mutacije<sup>8</sup> 3) podložnost za MS može se mijenjati migracijom u kritičnom dobu (posebice u pubertetu)<sup>57,60,62-69</sup> 4) uočene su vremenske i prostorne zone visokog rizika za MS<sup>26,27,31,39,44</sup>.

*Genetička hipoteza* podupire stajališta da je podložnost za MS determinirana genima i to moguće onima koji kontroliraju imunološku funkciju<sup>10,101,106-108</sup>. Pritom ona ne negira eventualno postojanje okolišnih faktora kao "okidača" bolesti, ali tumači da su u pitanju nespecifični faktori kojima je teško identificirati ulogu (npr. trudnoća, minorne virusne infekcije, emocionalni i nutricionalni faktori, trauma). Postoje bitne činjenice koje podržavaju ovu hipotezu: 1) visoka konkordantna stopa bolesti u monozigotnih blizanaca (oko 25%) u usporedbi s dizigotnim blizancima (oko 3%)<sup>92-101</sup> 2) povećan empirijski rizik za braću i sestre bolesnika za 20-40 puta<sup>89,90,99,101</sup> 3) relativno visoka stopa bolesti u srodnika drugog i trećeg stupnja srodnosti s oboljelima<sup>10,89,91</sup> 4) niska konkordantna stopa u supružnika<sup>102-105</sup> 5) negativni učinak redoslijeda rođenja u potomstvu s većim brojem MS bolesnika<sup>229</sup> 6) postojanje rasne podložnosti za MS<sup>18,77-83</sup> 7) otpornost određenih etničkih skupina na MS čak iako žive u zonama visokog rizika<sup>70,84,86,87</sup>.

Posljednjih godina sve više prevladavaju pomirljiva stajališta da je u etiologiji MS prisutno međudjelovanje genetičke podložnosti i okolišnih faktora koji djeluju kao "okidači" bolesti. Stoga su neophodna buduća istraživanja kako okolišnih, tako i genetičkih biljega, koji zasebno ili u kombinaciji mogu biti odgovorni za nastajanje podložnosti ili pak otpornosti na MS.

## 1.4. FENOTIPSKA SVOJSTVA KAO GENETIČKI BILJEZI U HUMANIM BOLESTIMA

Za razliku od klasičnih epidemioloških studija koje su u osvjetljavanju uloge genetičkih faktora u etiologiji bolesti istraživali njene moguće veze s različitim varijablama utjecaja okoliša, suvremena epidemiologija razmatra njenu povezanost i s individualnom genetičkom konstitucijom i genetičkom strukturom populacije.

S tog aspekta, u novije vrijeme se sve češće susrećemo s radovima koji istražuju razinu sklapanja braka među osobama u krvnom srodstvu (*konsangvinitet*), odnosno stupanj homozigotnosti njihovih potomaka aficiranih pojedinim bolestima<sup>230-233</sup>. Tako je i distribucija pojedinih fenotipskih svojstava u osoba pogođenih pojedinim bolestima bila predmet istraživanja mnogih autora<sup>234-238</sup>. Ispitivana su kvalitativna morfo-fiziološka svojstva kod kojih je moguća jasna diskriminacija alternativnih fenotipova uslijed njihove monogenske ili oligogenske genetičke determinacije i dominantno-recesivnog tipa ekspresije.

### 1.4.1. GENETIČKA DETERMINACIJA FENOTIPSKIH SVOJSTAVA

Brojni radovi govore o genetičkoj determinaciji i distribuciji alternativnih varijanti morfo-fizioloških *fenotipskih svojstava*. Uočeno je da se određena svojstva, koja se odnose na *boju i kvalitet kose*, te *formu uške*, recesivno ispoljavaju: ravni rub kose, svjetla, ravna i meka kosa, obrnut smjer kose u cvijetu, dva cvijeta u kosi, vezana ušna resica, uška bez Darwinovih kvržica, dlačice na ivici uške te abnormalnosti u njenoj građi<sup>239-247</sup>.

*Za boje očiju i karakteristike vida* navode se slijedeća recesivna svojstva: svjetle oči, razrokost, daltonizam, protodefekti, deuterodefekti, kratkovidnost i dalekovidnost<sup>239-245,248</sup>. Protodefekti i deuterodefekti se smatraju važnim znakovima u populacijskoj genetici, jer nastaju kao posljedica recesivne homozigotnosti na dva bliska X-vezana troalelna lokusa<sup>241,248</sup>.

Brojna *fenotipska svojstva lica*, iako najčešće nisu monogenski kontrolirana, pokazuju recesivno ispoljavanje u obiteljima: zečja usna, odsustvo rupice na bradi, izražena pjegavost, odsustvo dlakavosti, nisko čelo, razdvojene obrve, uvučena brada i zubi, usko i asimetrično lice, izbrazdanost jezika, mali nos i tanke usne<sup>239,241</sup>. Iako *albinizam* podrazumijeva brojne genopatije koje se razlikuju u pato-fiziološkoj osnovi i po različitim tipovima nasljeđivanja, tzv. opći albinizam, koji se odlikuje potpunim odsustvom pigmentacije, nasljeđuje se autosomno-

recesivno<sup>240</sup>. Fenotipska svojstva kao što su *ispupčen sternum* i *dug vrat* također se recesivno ispoljavaju u obiteljima<sup>239</sup>.

Što se tiče *fenotipskih svojstava šake*, genetička determinacija fenotipskog dimorfizma, kao što je prisustvo/odsustvo dlaka na srednjoj digitalnoj falangi (SDF) temelji se na polimorfizmu funkcionalnih alela jednog autosomnog genskog lokusa, pri čemu se petnaest mogućih genotipova odražava kao pet fenotipskih varijanti dlakavosti SDF. Takva individualna varijabilnost u pogledu dlakavosti digitalnih falangi se može svesti na dva alternativna fenotipa: prisustvo/odsustvo dlakavosti, gdje je odsustvo dlaka posljedica recesivne homozigotnosti promatrane osobe, dok je njihovo prisustvo rezultat učinka serije dominantnih alelogena<sup>249-251</sup>. Digitalni indeks je novi antropološki indeks koji uvodi Sergent<sup>252</sup> i izražava davno primjećen nestalan odnos u veličini između drugog i četvrtog prsta. Naime, radialni tip (tip I) označava veći drugi od četvrtog prsta ruke, a ukoliko je odnos suprotan u pitanju je ularni tip (tip A). Iako su podaci o ovom spolno uvjetovanom fenotipskom svojstvu dosta kontradiktorni, prevladava mišljenje da se u žena recesivno ispoljava tip A, a u muškaraca tip I<sup>253-255</sup>. Individualna varijabilnost u distalnoj ekstenzibilnosti palca ruke determinirana je jednim autosomnim genskim lokusom, tako da je njegova distalna hiperekstenzibilnost (tzv. "autostoperski palac") posljedica recesivne homozigotnosti spomenutog genskog lokusa<sup>256,257</sup>. Ostala fenotipska svojstva šake, kao što su ravan mali prst, dugi tanki prsti, tri tetive u korjenu šake i proksimalna hiperekstenzibilnost palca, također se ispoljavaju kao recesivna svojstva<sup>239,241,244,257</sup>.

Vertikalno i transversalno *savijanje jezika* su prema podacima mnogih autora fenotipska svojstva kontrolirana sa po jednim autosomnim genskim lokusom, pri čemu su fenotipovi "nesavijači" recesivni homozigoti<sup>239,258,259</sup>. Također, u populacijsko-genetičkim studijama istraživanje *osjetljivosti na (gorak) okus feniltiokarbamida (PTC)* je koristan genetički marker za utvrđivanje genetičkog profila populacije ili same jedinke. Pritom se osobe koje pokazuju neosjetljivost na PTC, tzv. "netasteri" smatraju recesivnim homozigotima<sup>241,260-262</sup>.

Recesivno ispoljavanje u obiteljima pokazuju i određene *govorne mane*, kao što su mucavost i izgovaranje "grlenog R", te luksacija kuka<sup>241,244</sup>. Također, Annet<sup>263</sup> navodi da se i *ljevorukost* izražava kao recesivno svojstvo, pa se osobe s tim svojstvom smatraju recesivnim homozigotima. Mnogi istraživači uočili su pojavu različitog individualnog *sklapanja šaka* i *križanja ruku* i *nogu*, tako da se mogu razlikovati dva različita položaja mirovanja. Kada se

desni palac, podlaktica ili noga nalazi u gornjem položaju tada se radi o R-tipu, dok se u obrnutom slučaju radi o L-tipu. Osobe koje pokazuju R-tip sklapanja šaka i križanja ruku i nogu se smatraju recesivnim homozigotima za ta svojstva<sup>264-270</sup>.

#### 1.4.2. FENOTIPSKA SVOJSTVA I HUMANE BOLESTI

Istraživanja morfo-fizioloških fenotipskih svojstava imaju veliki značaj, kako za upoznavanje genetičke strukture humanih populacija, tako i specifičnih uzoraka humanih individua. Posljednjih godina su neki autori ispitivali distribuciju pojedinih fenotipskih svojstava u osoba pogođenih određenim bolestima<sup>238</sup>. *Procjena relativnog stupnja homozigotnosti* ukazuje da je proporcija homozigotno-recesivnih osobina u uzorcima gluhonijemih osoba te u djece s blagom mentalnom retardacijom bila nešto viša od prosječne vrijednosti u zdravih osoba<sup>271,272</sup>. Marinković i suradnici<sup>238</sup> su ispitujući 31 fenotipsko svojstvo našli najvišu prosječnu homozigotnost od  $9,7 \pm 0,2$  u neuropsihijatrijskih bolesnika, te  $7,3 \pm 0,2$  u pacijenata oboljelih od urogenitalnih bolesti. Nešto niža prosječna homozigotnost od  $6,5 \pm 0,2$  je nađena u osoba s pulmonalnim i kardiovaskularnim bolestima, a najniža vrijednost u kontrolnoj skupini zdravih osoba ( $5,9 \pm 0,2$ ). Usporedbe distribucije homozigotno recesivnih osobina u skupinama bolesnika i zdravih osoba ukazale su na povećanje prosječne recesivne homozigotnosti u šećernoj bolesti ( $6,3:4,4 \pm 0,2$ )<sup>273</sup>, kroničnoj limfocitnoj leukemiji ( $8,7:7,7 \pm 0,2$ )<sup>274</sup>, balkanskoj endemskoj nefropatiji ( $8,7:7,6 \pm 1,4$ )<sup>235</sup>, miotoničnoj distrofiji ( $7,2:5,9 \pm 0,2$ )<sup>275</sup> te alergijskim smetnjama ( $9,0:7,1 \pm 0,3$ )<sup>276</sup>. Značajno povećanje prosječne homozigotnosti od  $9,2 \pm 0,3$  je uočeno u žena s karcinomom uterusa u odnosu na zdrave ženske osobe ( $8,0 \pm 0,3$ ), dok je samo u slučaju karcinoma dojke, ispitivanjem svega 10 fenotipskih svojstava, nađeno neznačajno smanjenje homozigotnosti u odnosu na kontrolnu skupinu ( $1,9:2,7 \pm 1,1$ )<sup>238</sup>. Povećanje genetičke homozigotnosti u navedenim skupinama bolesnika ukazuje na postojanje genetičkih opterećenja u tim uzorcima humane populacije. Najniža proporcija homozigotno-recesivnih osobina nađena je u vrhunskih sportaša<sup>272</sup>.

U svim navedenim studijama frekvencija distribucije homozigotno-recesivnih osobina je bila različita u skupinama bolesnika i zdravih osoba. To ukazuje na postojanje populacijsko-genetičke razlike između skupina bolesnika i kontrole, čak i u slučajevima kada vrijednosti prosječne recesivne homozigotnosti nisu bile značajno različite. U svakoj od spomenutih



studija karakteristične grupe osobina su bile različito učestale u skupinama bolesnika i zdravih osoba, sugerirajući korelaciju sa različitim kombinacijama poligena koji mogu biti uključeni u regulatorne procese otpornosti na određene bolesti.

Očekuje se od budućih istraživanja veći doprinos u ispitivanju podrijetla genetičke determinacije i prirode nasljeđivanja navedenih morfo-fizioloških fenotipskih svojstava i uključivanje većeg broja biokemijskih svojstava na listu genetičkih biljega, što bi omogućilo bolju procjenu poligenski kontrolirane varijabilnosti u skupinama osoba pogođenih pojedinim bolestima.

## 2. CILJ ISTRAŽIVANJA

U istraživanju mogućih genetičkih utjecaja na etiologiju MS postavili smo sljedeće ciljeve:

- detaljnom analizom geneaoloških stabala obitelji s MS, koristeći standardne metode kvantitativne genetike, sagledati doprinose genetičkih faktora u etiologiji MS te procijeniti moguće načine nasljeđivanja predispozicije za MS.
- ustanoviti eventualnu povezanost bolesti s određenim genetičkim biljezima kroz ispitivanje pedeset fenotipskih svojstava, te procijeniti stupanj eventualnih genetičkih opterećenja (kao posljedica povećane recesivne homozigotnosti) koja mogu uzrokovati smanjenu otpornost organizma na okolišne faktore koji uvjetuju MS.

Ovakvim pristupom očekujemo odgovore na sljedeća pitanja:

- da li bolest ima familijarni karakter tj. da li se s povećanom učestalošću javlja u srodnika bolesnika;
- koliki je stupanj genetičke determiniranosti bolesti;
- da li u determinaciji bolesti učestvuje jedan glavni (major) dominantan/recesivan gen ili je determinacija poligenska;
- da li postoje razlike u učestalosti recesivnih alela promatranih fenotipskih svojstava u uzorku oboljelih i u kontrolnoj skupini;
- koliki je stupanj genetičke diferencijacije, odnosno, genetičke udaljenosti između skupine oboljelih i kontrole u odnosu na promatrana fenotipska svojstva;
- da li postoje razlike u ukupnom broju recesivnih fenotipskih svojstava, te razlike po tjelesnim regijama u bolesnika i zdravih osoba;
- da li postoji povećana recesivna homozigotnost u odnosu na očekivanu koja uvjetuje genetičko opterećenje u MS bolesnika i zdravih osoba;
- da li eventualno postojanje genetičkih opterećenja utječe na adaptivnu vrijednost tj. na fertilitet ispitanika.
- da li postoji združenost MS s ranim, odnosno, kasnim redoslijedom rođenja bolesnika.

Ono po čemu se ova studija MS razlikuje od dosadašnjih je pokušaj usporedbe genetičke strukture oboljelih s genetičkom strukturom zdravih osoba, pri čemu 50 ispitivanih

fenotipskih svojstava predstavljaju slučajni parametar njihove genetičke podudarnosti ili različitosti. Na osnovu dobivenih rezultata mogli bismo naslutiti tip genetičko-fiziološke homeostaze (konstitucije) ispitivanih osoba, s procjenom koja od njih može biti sklonija oboljevanju od MS.

### 3. ISPITANICI, METODE I OBRADA PODATAKA

#### 3.1. ISPITANICI

U ovoj studiji ispitanici su bili 105 oboljelih od MS (69 žena i 36 muškaraca) s područja Primorsko-goranske i Istarske županije koji su liječeni tijekom svoje bolesti jednom ili u više navrata na Klinici za neurologiju Kliničko-bolničkog centra Rijeka. Od toga su 35 bolesnika (21 žena i 14 muškaraca) autohtoni stanovnici Gorskog kotara. Svi bolesnici su morali zadovoljavati dijagnostičke kriterije za klinički sigurnu i laboratorijski potkrijepljenu sigurnu MS prema Poseru<sup>277</sup>.

Kontrolna skupina (Kontrola 1) je formirana metodom individualnog uparivanja (mečovanja) pri čemu smo za svakog bolesnika odabrali zdravu osobu istog spola i uzrasta te mjesta rođenja i prebivanja. Prilikom odabiranja kontrolnih osoba iz Gorskog kotara vodilo se računa da budu autohtoni stanovnici (oba roditelja podrijetlom iz Gorskog kotara) istog etničkog podrijetla, nesrodni međusobno i s MS bolesnicima. Spomenutu kontrolnu skupinu koristili smo za usporedbu prilikom procjene stupnja i načina genetičke determiniranosti bolesti, te za ispitivanje adaptivne vrijednosti i redosljeda rođenja bolesnika s MS, jer smo metodom "mečovanja" povećali točnost komparacija formiranjem homogenijih grupa koje se uspoređuju. U ispitivanju morfo-fizioloških recesivnih svojstava zbog korektnosti postupka za usporedbu je formirana kontrolna skupina od 334 osobe (Kontrola 2), koje su slučajno odabrane s područja Primorsko-goranske i Istarske županije i kod kojih u osobnim i obiteljskim anamnezama nije bilo neurodegenerativnih bolesti.

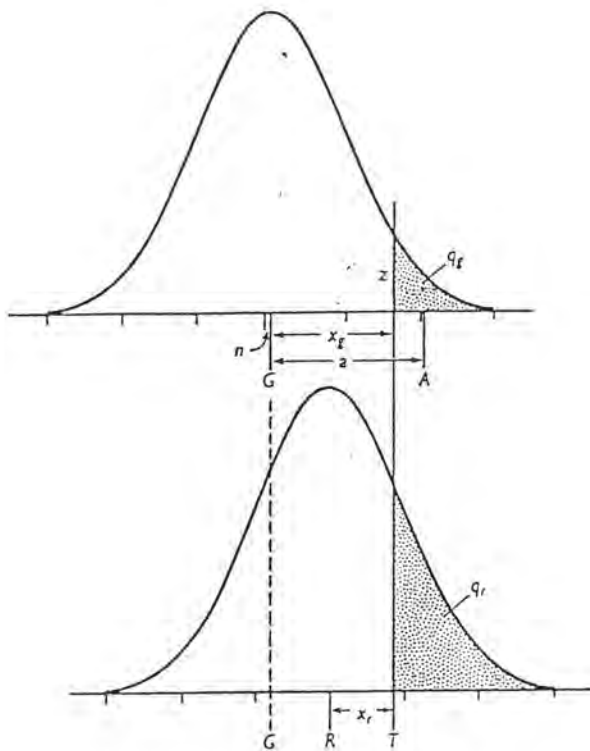
#### 3.2. METODE I OBRADA PODATAKA

Da bi se utvrdilo da li bolest ima familijarni karakter, od svakog ispitanika iz skupine bolesnika s MS i kontrolne skupine, uzeti su na istovjetan način podaci o broju članova obitelji tj. o srodnicima I, II, i III stupnja srodnosti, te o njihovom zdravstvenom stanju. Pritom u prve srodnike su bili uključeni roditelji, djeca, te braća i sestre bolesnika s MS; drugi srodnici su bili djedovi/bake i unuci, kao i majčini i/ili očevi braća i sestre, te nećaci aficiranih osoba, dok su treći srodnici bili pradjedovi/prabake i praunuci, te prvi rođaci bolesnika. Zatim je provedena

detaljna analiza obiteljskih stabala kroz 3-5 generacija, pri čemu su sve ostale bolesti osim MS bile zanemarivane. Razlika između dvije skupine obitelji u odnosu na pozitivnu obiteljsku anamnezu za MS testirana je Mc Nemarovim testom. Ispitivanje u kojoj se mjeri povećana učestalost bolesti među srodnicima aficiranih osoba genetički determinirana provedeno je izračunavanjem heritabilnosti (nasljedljivosti) svojstva prema Falconeru<sup>278</sup>. Ova metoda se zasniva na pretvaranju podataka o učestalosti bolesti u općoj populaciji tj. kontrolnoj skupini i među srodnicima aficiranih osoba u koeficijent fenotipske korelacije. Na Slici 1. prikazan je način usporedbe ove dvije frekvencije. Koeficijent fenotipske korelacije ( $r$ ) se izračunava prema formuli:  $r = X_g - X_r / a$  a parametri potrebni za njegovo izračunavanje, numerički predstavljeni jedinicama standardne devijacije, uzimaju se iz tablica normalne distribucije, s tim što su vrijednosti  $X_g$  i  $a$  u funkciji populacijske frekvencije, a  $X_r$  frekvencije među srodnicima aficiranih osoba. Heritabilnost ( $h^2$ ) se izračunava na osnovu koeficijenta fenotipske korelacije ( $r$ ) i koeficijenta srodnosti ( $R$ ) prema formuli:  $h^2 = r/R$ , pri čemu  $R$  predstavlja teoretske proporcije gena koju proband dijeli sa srodnicima različitog stupnja srodnosti.

Da bismo osvjtlili ulogu genetičkih faktora u etiologiji bolesti razmotrili smo i njenu povezanost s 50 fenotipskih svojstava koja se odlikuju jednostavnom monogenom (ili oligogenom) genetičkom determinacijom i kod kojih je moguća pouzdana diskriminacija alternativnih genotipova<sup>239-241</sup>. Ispitivanje boje kose provedeno je prema Fischer-Saller-ovoj, a boje očiju prema Brodarjev-ovj skali<sup>245</sup>. Utvrđivanje defektnog viđenja boja izvršeno je primjenom pseudoizokromatskih test-tablica<sup>279</sup>, pri čemu su u protodefekte uključene protanopija i protanomalija, a u deuterodefekte deuteranopija i deuteranomalija. Ispitivanje različitih fenotipova s obzirom na gorak okus feniltiokarbamida (PTC) vršeno je pomoću 0,00812% vodene otopine PTC, jer je utvrđeno da je ta koncentracija pogodna za identifikaciju fenotipova u istraživanjima europskog stanovništva<sup>261</sup>. Individualna pripadnost alternativnim fenotipovima ostalih fenotipskih svojstava određena je izravnim promatranjem osoba s MS i osoba kontrolne skupine. Polazeći od pretpostavke da je svako ispitivano svojstvo determinirano odgovarajućim genom, izračunata je učestalost recesivnog fenotipa ( $a_0$ ) i relativna frekvencija recesivnog alela ( $q$ ) za svako promatrano svojstvo prema formulama:  $a_0 = 100 a/n$ ;  $q = \sqrt{a/n}$  ( $n$ =veličina uzorka). Statistička značajnost razlika u učestalostima recesivnih fenotipova između oboljelih i kontrolne skupine utvrđena je  $\chi^2$  testom i Fisherovim egzaktnim testom vjerojatnosti. Stupanj genetičke diferencijacije, odnosno odstupanja genetičkih proporcija na osnovu Hardy-Weinbergove hipoteze, određen je pomoću





Slika 1. Dvije distribucije s različitom prosječnom podložnosti za poligensku bolest: gornja predstavlja opću populaciju, a donja srodnike aficiranih osoba. Usporedba se vrši prema fiksnom pragu (T) iznad kojeg sve osobe oboljevaju od navedene bolesti. Podložnost je normalno distribuirana s istom varijabilnošću. Točkaste površine predstavljaju bolesnike.

G-srednja vrijednost podložnosti u općoj populaciji

A-srednja vrijednost podložnosti bolesnika u općoj populaciji

R-srednja vrijednost podložnosti srodnika oboljelih osoba

q-frekvencija osoba čija je podložnost prešla prag rizika za bolest (g se odnosi na opću populaciju, a r na srodake)

x-devijacija praga od srednje vrijednosti podložnosti za bolest (g se odnosi na opću populaciju, a r na srodake)

a-udaljenost između srednje vrijednosti podložnosti oboljelih i populacije

međupopulacijskog indeksa fiksacije (F) determinacijom Valundove varijanse<sup>280</sup> Također je ispitivano da li u skupinama oboljelih i u kontrolnim grupama postoji povećana recesivna homozigotnost u odnosu na 50 ispitivanih fenotipskih svojstava tj. da li postoje eventualna genetička opterećenja<sup>281</sup>. Pritom vrijednosti za očekivani broj homozigota izračunate su prema Kaleziću i suradnicima<sup>282</sup> a statistička značajnost razlika između dobivenih i očekivanih vrijednosti testirana  $\chi^2$  testom. S tim u svezi ispitano je da li i eventualno postojanje genetičkih opterećenja utječe na adaptivnu vrijednost bolesnika. Podaci o dobi i dinamici menarhe, te dobi menopauze i plodnosti u uzorku oboljelih i zdravih osoba testirani su t-testom. Analiza redoslijeda rođenja u MS bolesnika izvršena je pomoću dvije metode: 1) Greenwood-Yule test<sup>283</sup> je primjenjen na uzorak od 105 bolesnika s MS pri čemu je uspoređena opažena distribucija redoslijeda rođenja s njenom očekivanom vrijednošću i statistička značajnost testirana  $\chi^2$  testom; 2) test prema Isageru i suradnicima<sup>228</sup> je korišten prilikom ispitivanja redoslijeda rođenja u 35 bolesnika s MS i mečovanoj kontroli iz Gorskog kotara, te izračunat relativni rizik i proveden Mc Nemarov test.

## 4. REZULTATI

### 4.1. OBITELJSKA POJAVNOST MULTIPLE SKLEROZE

Anketiranje 105 bolesnika s MS i uparenih kontrolnih ispitanika o učestalosti bolesti u kategorijama I, II, i III srodnika omogućila je sprovođenje detaljne geneaološke analize njihovih obitelji. Kao što prikazuje Tablica 1, u skupini oboljelih od MS pozitivna obiteljska anamneza nađena je u 12 od 105 obitelji (11,43%) a u kontrolnoj grupi u 3 od 105 obitelji (2,86%). Razlika između dviju skupina obitelji u odnosu na pozitivnu obiteljsku anamnezu za MS je statistički značajna na razini od  $p < 0,05$ .

Tablica 1.

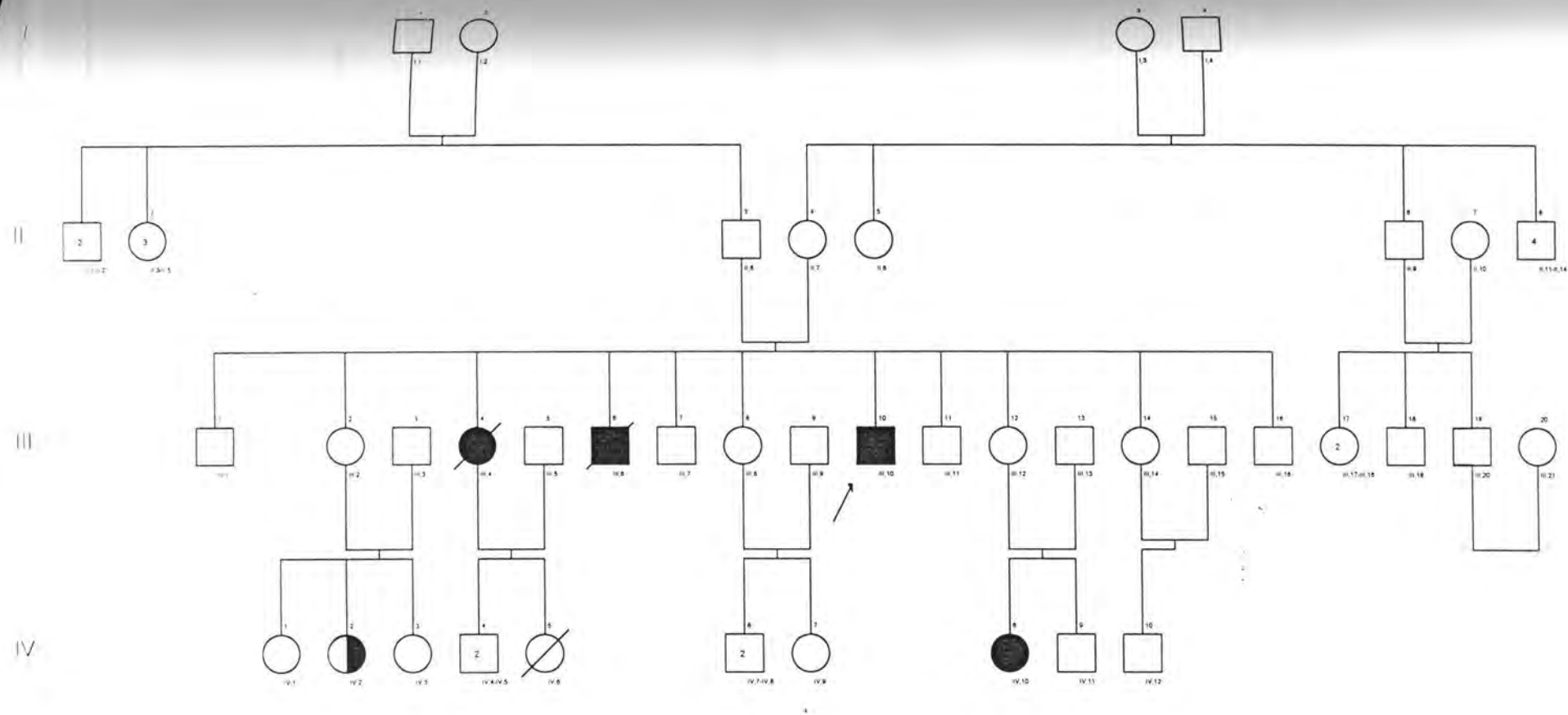
#### Obiteljska anamneza za MS u srodnika bolesnika i kontrolnih ispitanika

KONTROLA I MS PACIJENTI	Obiteljska anamneza +	Obiteljska anamneza -	Ukupno
Obiteljska anamneza +	1	11	12
Obiteljska anamneza -	2	91	93
Ukupno	3	102	105

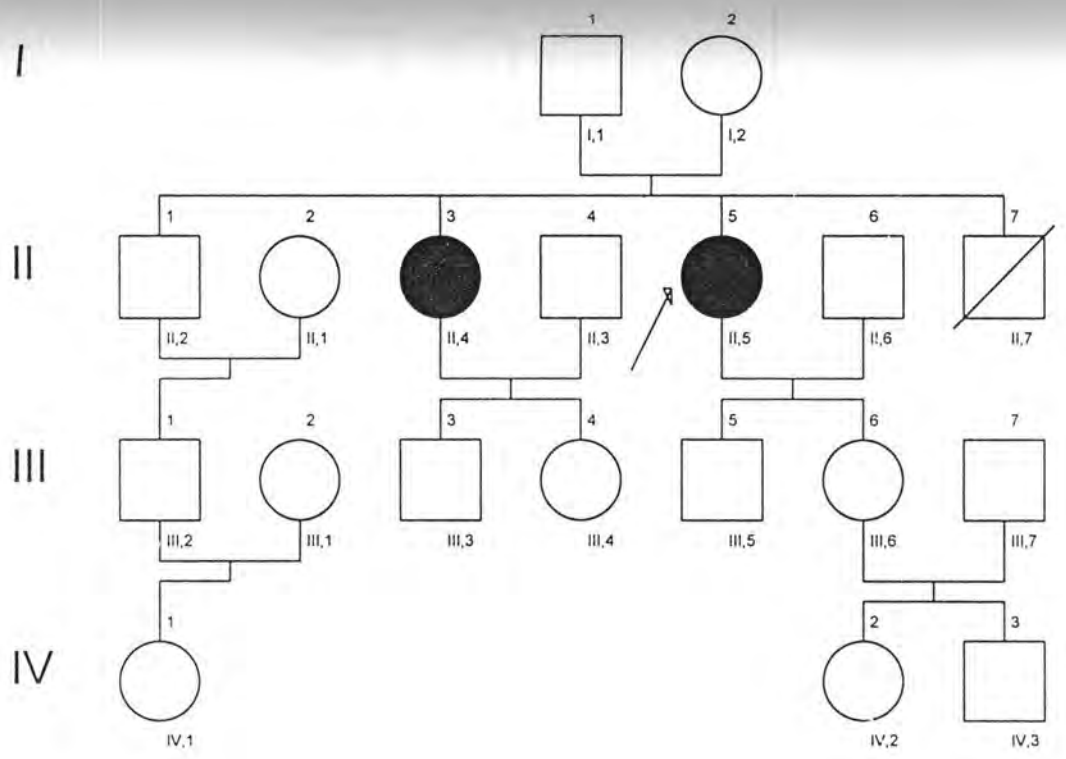
+ pozitivna obiteljska anamneza za MS  
- negativna obiteljska anamneza za MS

$$\chi^2=4.92 \text{ df}=1 \text{ p}<0.05$$

Slike od 2. do 13. redom prikazuju geneaološka stabla obitelji u kojima dvije ili više osoba boluje od MS. Najveću ekspresiju bolesti pokazuje obitelj iz Mrkoplja (Gorski kotar) s četiri klinički sigurne, te jednim oblikom klinički vjerojatne MS (Slika 2).

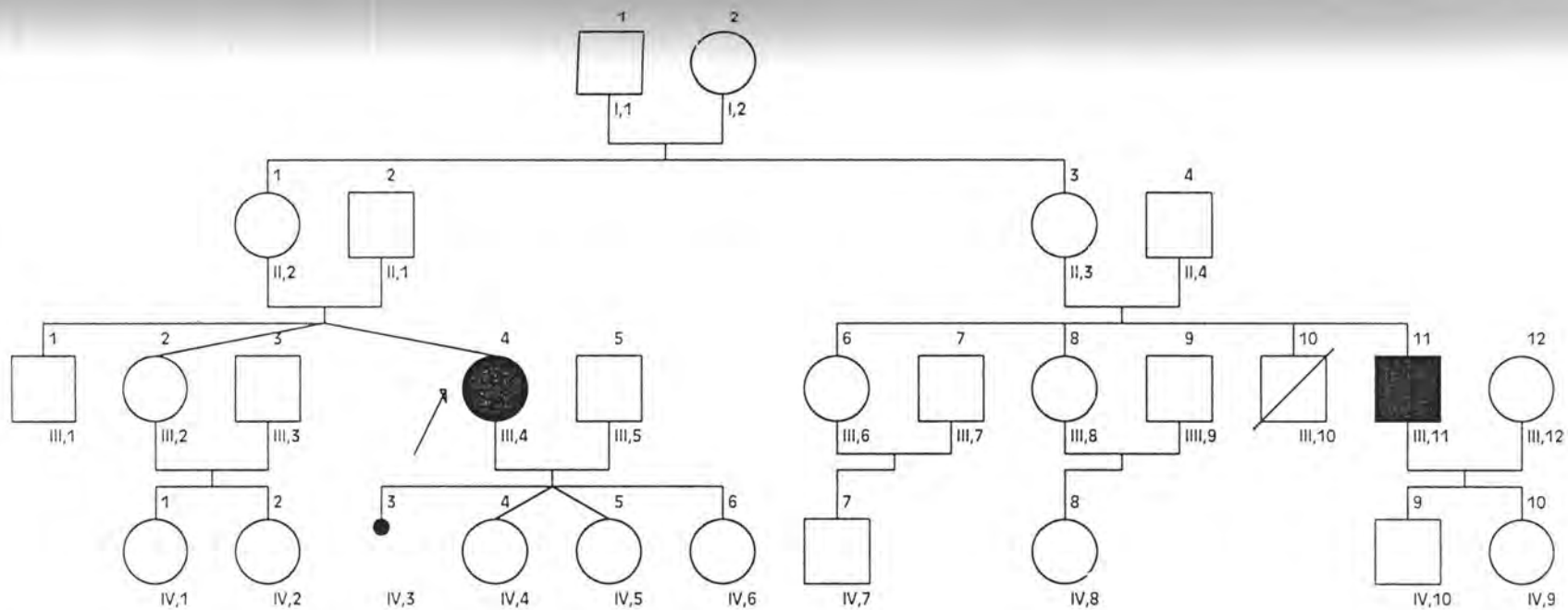


Slika 2. Obitelj R.J. iz Mrkoplja (Gorski kotar) u kojoj su četiri bolesnika s klinički sigurnom (III 4, III 6, III 10, IV 10) i jedan s klinički vjerojatnom MS (IV 2).

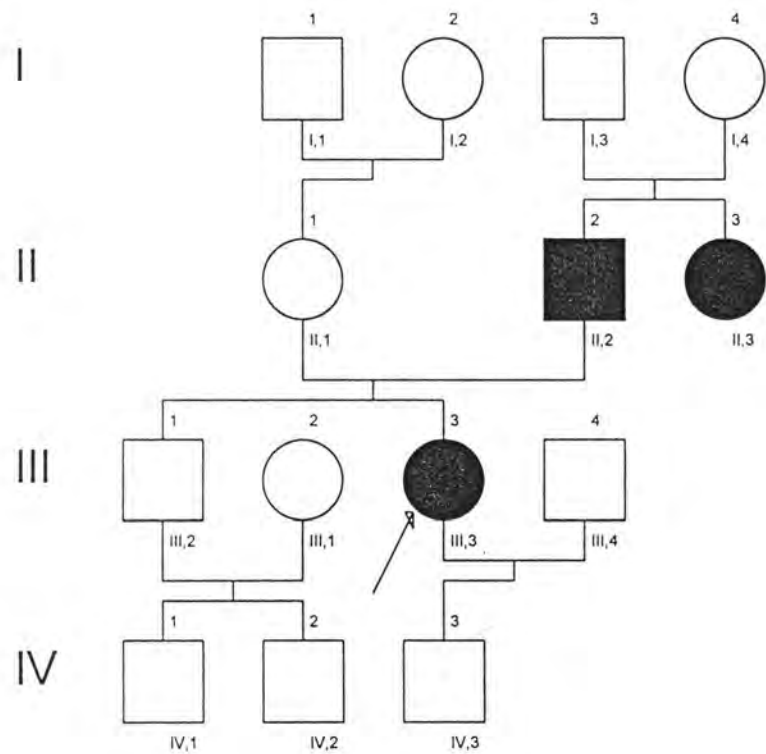


Slika 3. Obitelj T.K. iz Skrada (Gorski kotar) u kojoj su dvije sestre oboljele od MS (II 4, II 5).

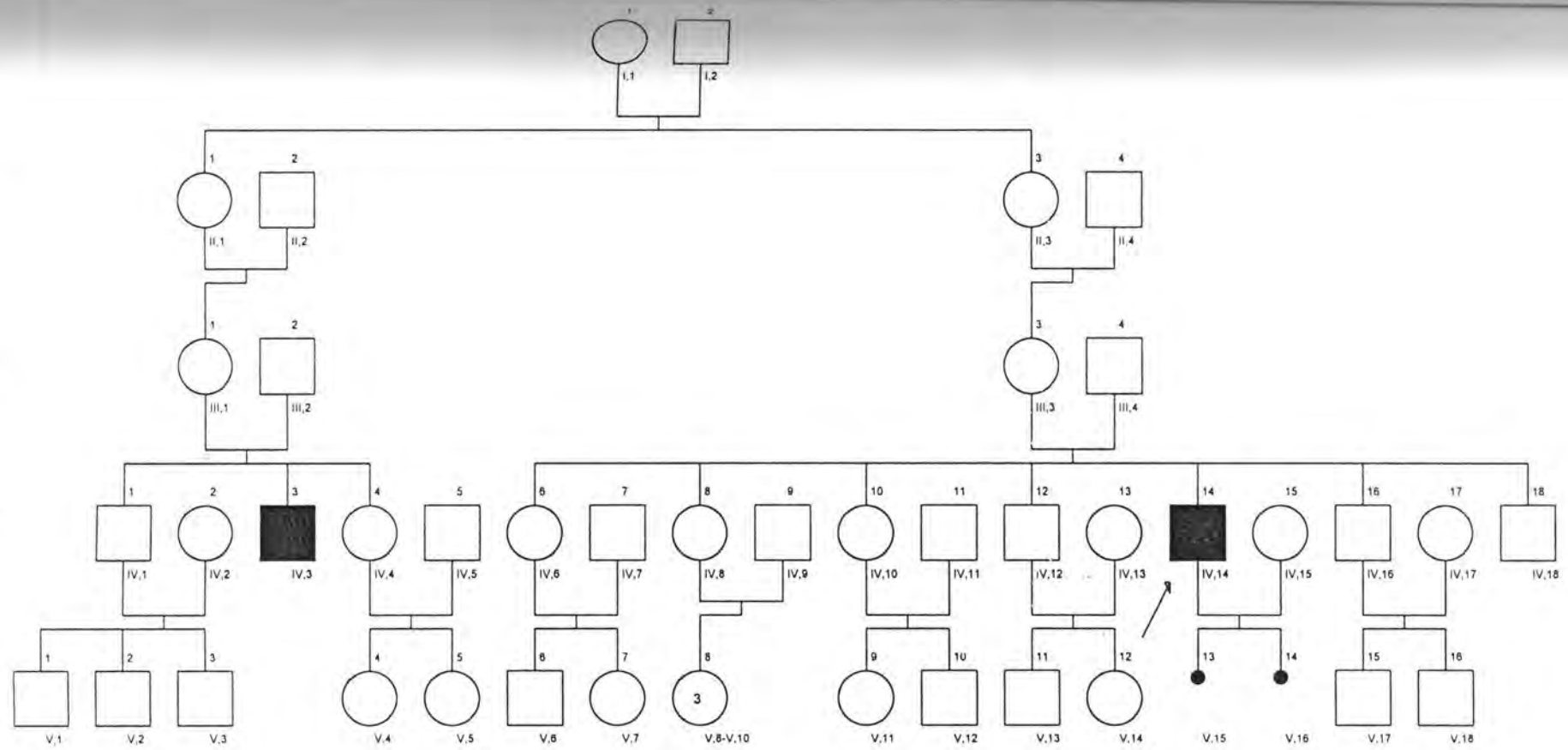




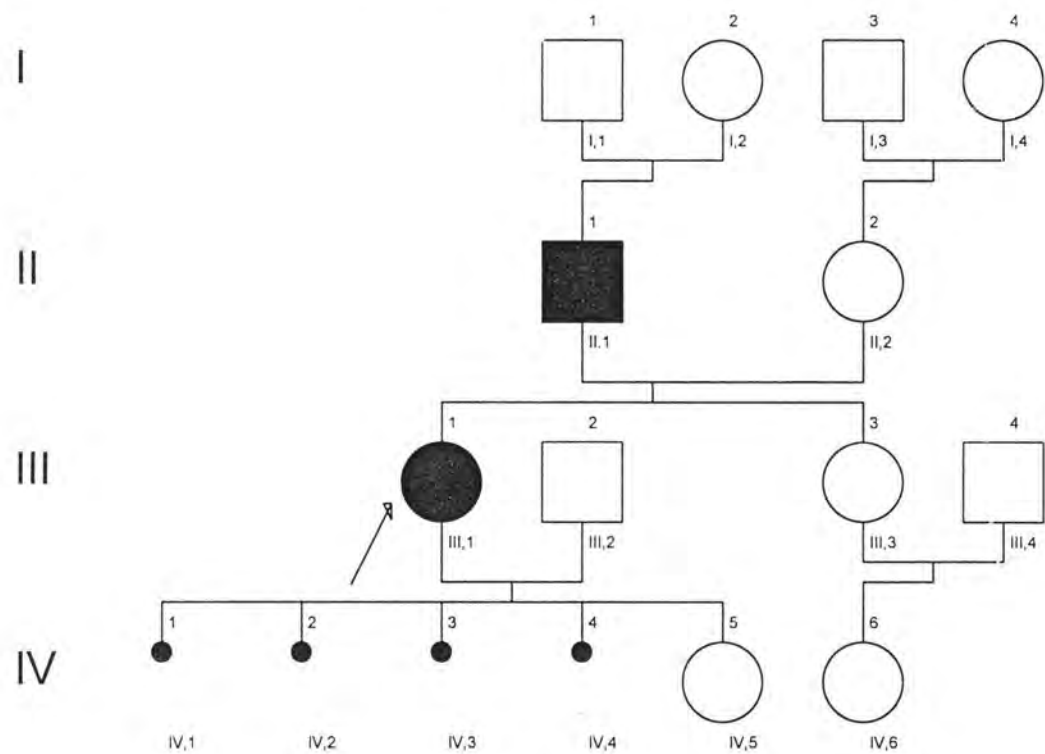
Slika 4. Obitelj M.N. iz Liča (Gorski kotar) u kojoj su oboljeli proband (III 4) i prvi rođak (III 11).



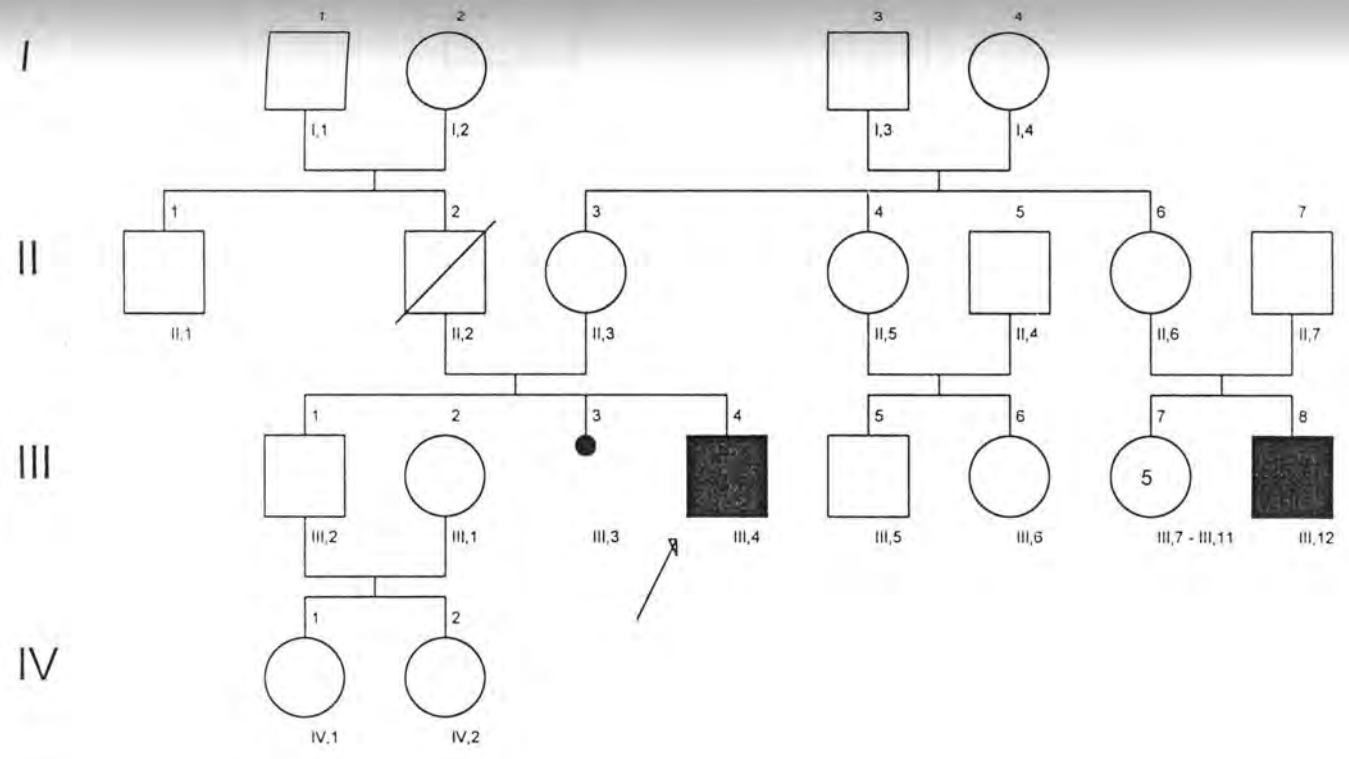
Slika 5. Obitelj M.R. iz Delnica (Gorski kotar) u kojoj su oboljeli proband (III 3) te dvije osobe u prvom (II 2) i drugom (II 3) stupnju srodnosti.



Slika 6. Obitelj K.Z. iz Prezida (Gorski kotar) u kojoj su oboljeli proband (IV 14) i rođak u petom stupnju srodnosti (IV 3).

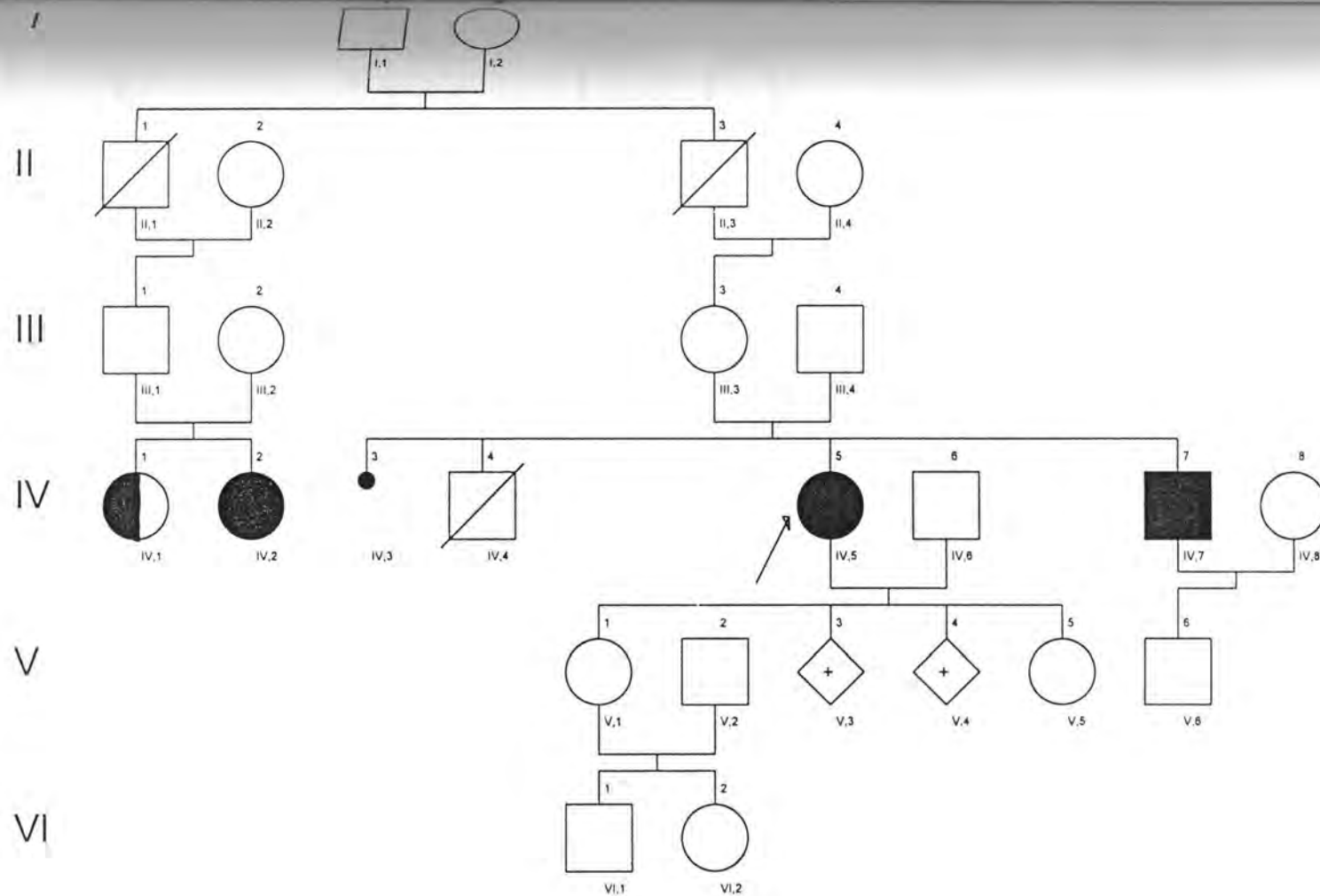


Slika 7. Obitelj M.S. iz Delnica (Gorski kotar) u kojoj su oboljeli otac (II 1) i kći (III 1).

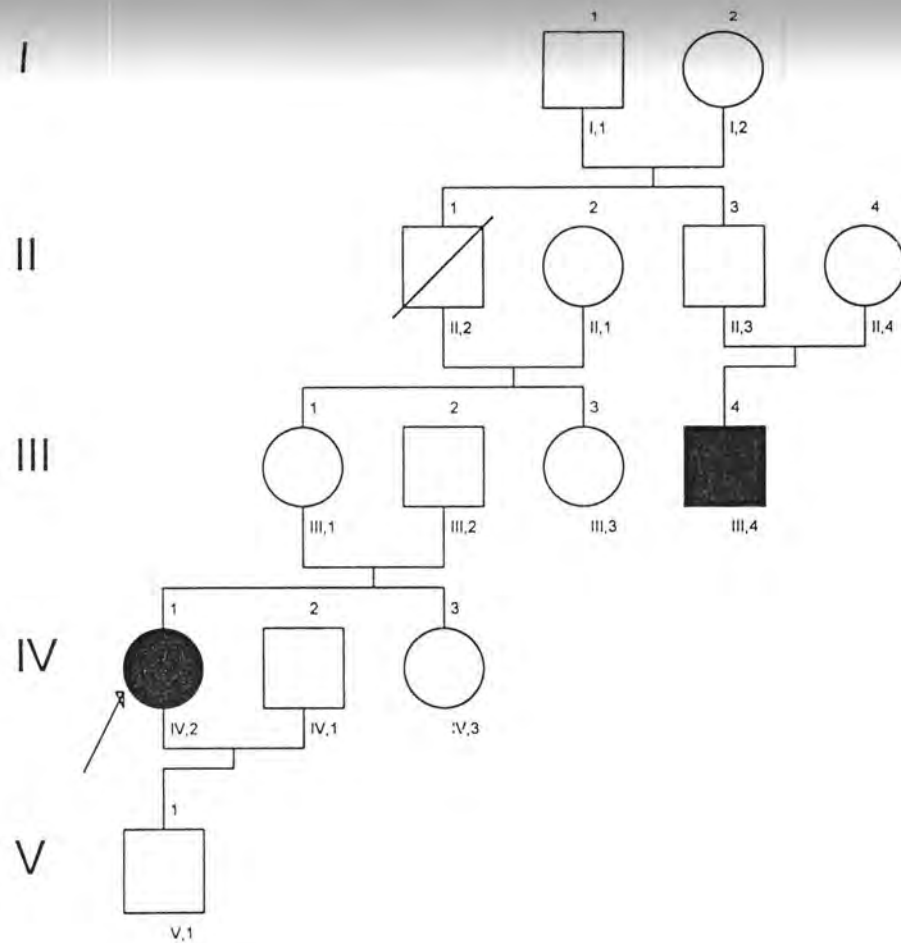


Slika 8. Obitelj M.M. iz Vrbovskog (Gorski kotar) u kojoj su oboljeli proband (III 4) i rođak u trećem stupnju srodnosti (III 12).

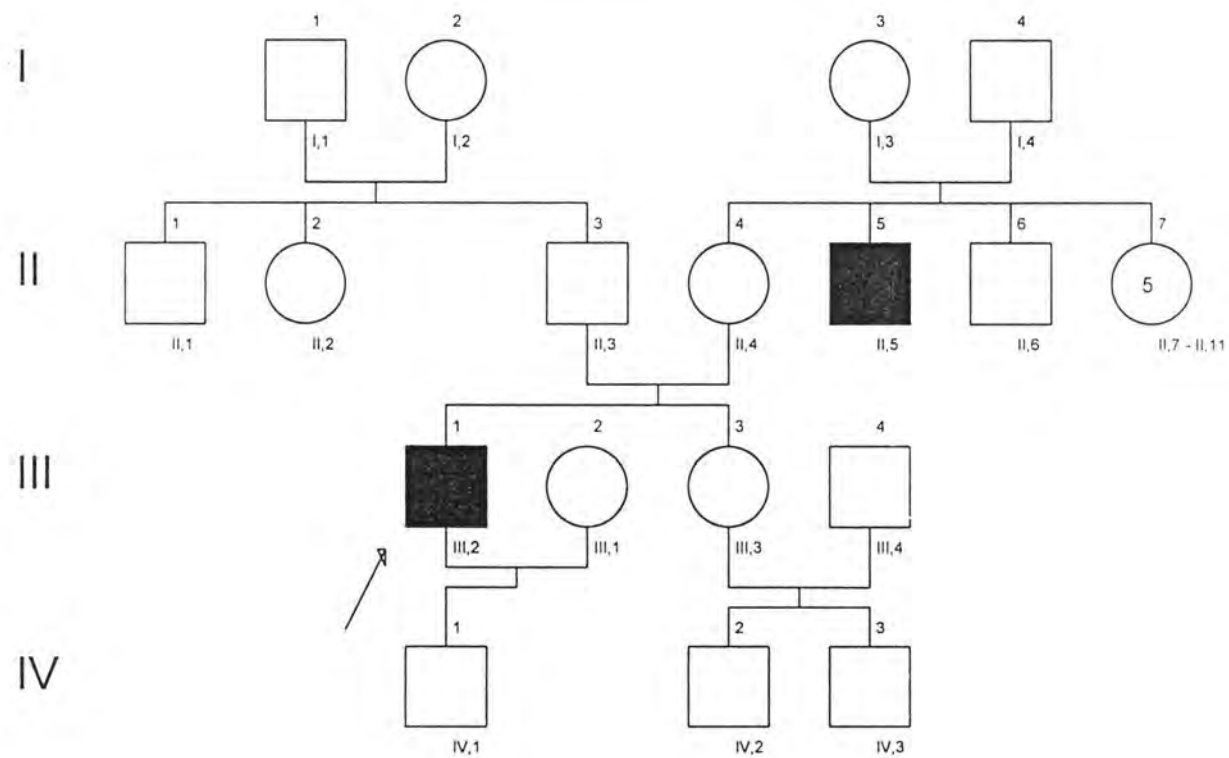




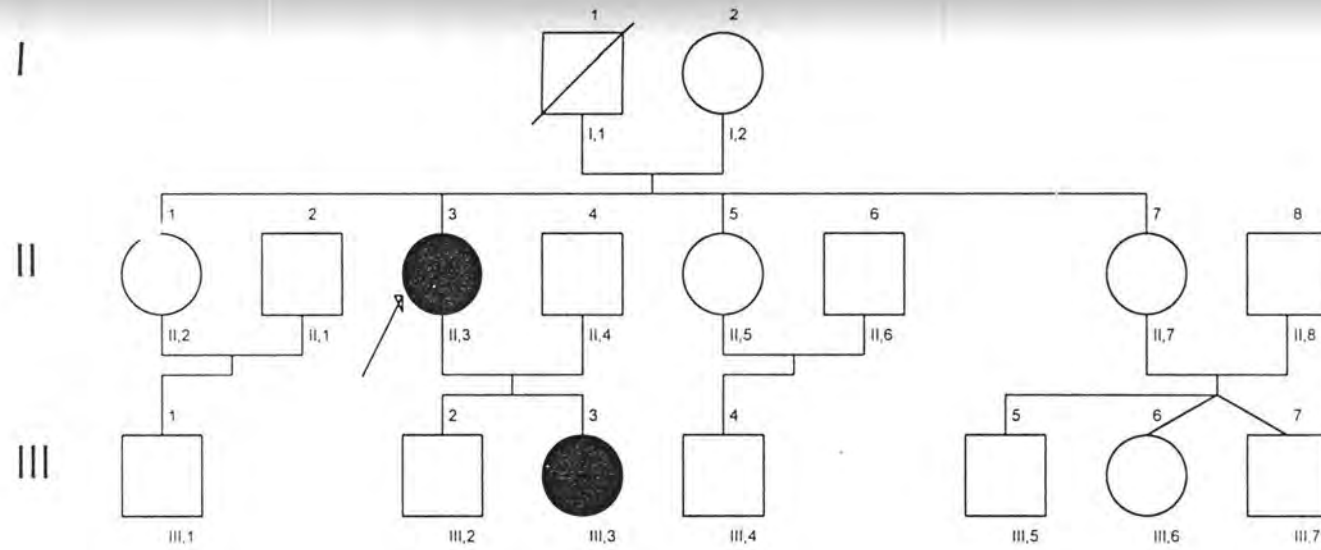
Slika 9. Obitelj Č.S. iz Jurandvora (otok Krk) u kojoj su tri bolesnika s klinički sigurnom (IV 2, IV 5, IV 6) i jedan s klinički vjerojatnom MS (IV 1).



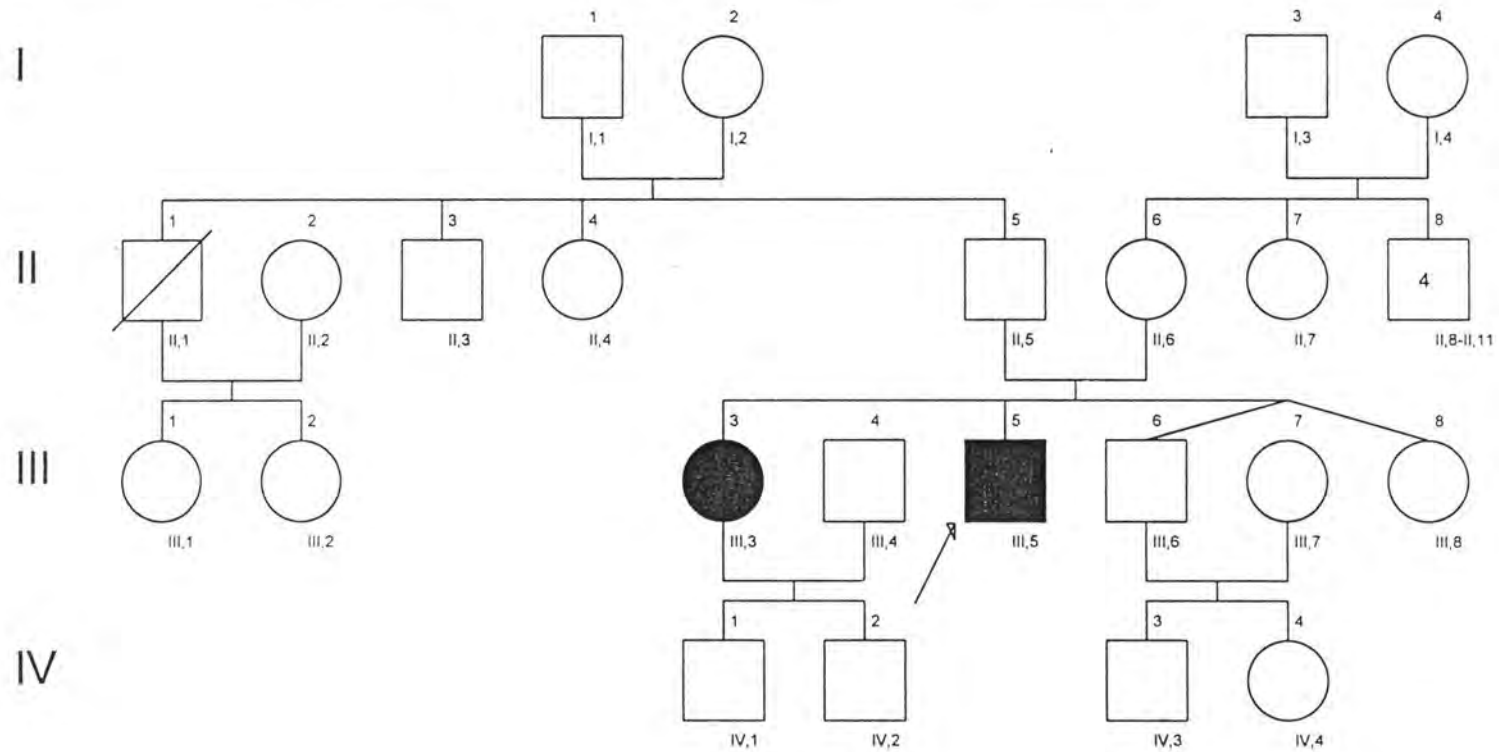
Slika 10. Obitelj N.D. iz Rijeke u kojoj su oboljeli proband (IV 2) i rođak u trećem stupnju srodnosti (III 4).



Slika 11. Obitelj B.D. iz Senja u kojoj su oboljeli proband (III 2) i rođak u drugom stupnju srodnosti (II 5).



Slika 12. Obitelj P.O. iz Pule u kojoj su oboljeli majka (II 3) i kći (III 3).



Slika 13. Obitelj D.M. iz Višnjana (Istra) u kojoj su oboljeli brat ((III 5) i sestra (III 3).



#### 4.2. STUPANJ GENETIČKE DETERMINIRANOSTI MULTIPLE SKLEROZE

Učestalost MS među I, II i III srođnicima pacijenata i zdravih osoba kontrolne skupine prikazana je u Tablici 2. Geneaološka analiza obitelji bolesnika s MS obuhvatila je 2832 njihovih srođnika od kojih je 15 imalo klinički sigurni oblik MS (0,53%) dok su 2 osobe imale klinički vjerojatnu MS. U prvom stupnju srodnosti od 606 osoba bilo je 8 oboljelih i to 3 osobe od 330 roditelja i djece bolesnika s MS i 5 od 276 njihovih braće i sestara. Od 902 osobe drugog stupnja srodnosti 4 je imalo MS a od 1324 srođnika III stupnja 3 je bilo oboljelih od MS. Rezultati ukazuju na veću proporciju aficiranih srođnika u bližem stupnju srodnosti s oboljelima od MS. U ispitivanoj kontrolnoj skupini od 2447 srođnika našli smo 3 slučaja multiple skleroze što iznosi 0,12%. Proporcije aficiranih srođnika u prvom (1:564), drugom (1:871) i trećem stupnju srodnosti (1:1012) su primjetno manje nego u ispitivanom uzorku bolesnika s MS.

Tablica 2.

##### Učestalost multiple skleroze među srođnicima MS bolesnika i kontrolnih ispitanika

STUPANJ SRODNOSTI	MS PACIJENTI			KONTROLA 1		
	N	A	A(%)		A	A(%)
I-roditelji, djeca	330	3	0.91	304	1	0.33
I-braća sestre	276	5	1.81	260	0	0.00
II	902	4	0.44	871	1	0.11
III	1324	3	0.23	1012	1	0.10
ukupno	2832	15	0.53	2447	3	0.12

N-broj ispitanika  
A-broj osoba s MS

Na osnovu dobivenih rezultata o učestalosti bolesti u obiteljima s MS i u srođnika ispitanika iz kontrolne skupine izračunate su heritabilnosti MS za svaki stupanj srodnosti što prikazuje Tablica 3.

Tablica 3.

**Heritabilnost multiple skleroze u I, II i III srodnika aficiranih osoba**

ISPITANICI	q	p	x	a	r	V	$h^2 \pm s.e$ (%)
Kontrola 1	0.001	0.999	3.036	3.317			
MS srodnici:							
I-roditelji,djeca	0.009	0.991	2.361	2.697	0.20	0.0058	40.7±15.3
I-braća,sestre	0.018	0.982	2.095	2.457	0.28	0.0042	56.7±12.9
I stupanj (ukupno)	0.013	0.987	2.220	2.570	0.25	0.0033	49.1±11.5
II stupanj	0.004	0.996	2.620	2.932	0.12	0.0047	50.1±13.7
III stupanj	0.002	0.998	2.834	3.129	0.06	0.0055	48.7±14.8

q-frekvencija osoba čija je podložnost prešla prag rizika za MS

p-frekvencija osoba čija podložnost nije prešla prag rizika za MS

x-devijacija praga od srednje vrijednosti podložnosti za MS

a-udaljenost između srednje vrijednosti podložnosti oboljelih i populacije

r-koeficijent fenotipske korelacije

V-varijansa koeficijenta fenotipske korelacije

$h^2$ -koeficijent heritabilnosti

s.e-standardna pogreška

Vrijednosti koeficijenta heritabilnosti u prvih (49,1±11,5), drugih (50,1±13,7) i trećih srodnika (48,7±14,8) bolesnika s MS se međusobno značajno ne razlikuju, uzimajući u obzir i standardne pogreške u čijim se rasponima nalazi dobivena srednja vrijednost. Najviši stupanj heritabilnosti (56,7±12,9) je uočen među braćom i sestrama aficiranih osoba.

#### 4.3. FENOTIPSKA SVOJSTVA I MULTIPLA SKLEROZA

Učestalosti recesivnih varijanti promatranih fenotipskih svojstava u bolesnika s MS i u kontrolnoj skupini prikazuju Tablice 4., 5. i 6. Uspoređujući frekvencije recesivnih alela u pojedinim fenotipskim sistemima opaža se da uzorak oboljelih znatno odstupa od fenotipskog

statusa zdravih osoba. Od 50 ispitivanih karakteristika 29 ispoljava značajan stupanj međusobne različitosti ( $p < 0,05$ ). Smjer razlike je takav da samo za 8 svojstava zdravi ispitanici imaju veće frekvencije recesivnih alela.

Tablica 4.

**Učestalost recesivnih varijanti promatranih fenotipskih osobina kose, uške i očiju u MS bolesnika (N=105) i u kontrolnoj skupini zdravih osoba (N=334)**

FENOTIPSKE OSOBINE	MS bolesnici		Kontrola 2		p
	a%	q	a%	q	
1. Ravna ivica kose	61.9	0.79	51.1	0.71	0.0707+
2. Ravna kosa	71.4	0.84	68.2	0.83	0.6236+
3. Svjetla boja kose	13.3	0.36	16.5	0.40	0.5380+
4. Meka kosa	76.2	0.87	61.1	0.78	<b>0.0067+</b>
5. Obrnut smjer kose u cvijetu	19.0	0.44	23.3	0.48	0.4296+
6. Dva cvijeta u kosi	18.1	0.42	7.5	0.27	<b>0.0030+</b>
7. Vezana ušna resica	53.3	0.73	24.8	0.50	<b>0.0000+</b>
8. Uška bez Darwinovih kvržica	53.3	0.73	45.5	0.67	0.1975+
9. Dlačice na ivici uške	20.9	0.46	3.9	0.20	<b>0.0000+</b>
10. Abnormalnosti uške	22.9	0.46	5.4	0.23	<b>0.0000+</b>
11. Svjetla boja očiju	40.0	0.63	32.0	0.57	0.1660+
12. Razrokost	1.9	0.14	1.1	0.11	0.6326*
13. Daltonizam	2.8	0.17	0.3	0.05	<b>0.0441*</b>
14. Protodefekti	11.4	0.34	1.8	0.13	<b>0.0001*</b>
15. Deuterodefekti	26.7	0.52	4.5	0.21	<b>0.0000+</b>
16. Kratkovidnost	21.9	0.47	26.6	0.52	0.3987+
17. Dalekovidnost	13.3	0.36	12.2	0.35	0.9071+

-Zadebljanim slovima istaknute su fenotipke osobine koje pokazuju statistički značajne razlike.

a%-postotak frekvencija recesivnog fenotipa

q-relativna frekvencija recesivnog alela

p-statistička značajnost

+Yatesov korigirani  $\chi^2$

\*Fisherov egzaktni dvosmjerni test

Tablica 5.

**Učestalost recesivnih varijanti promatranih fenotipskih osobina lica, trupa i šake u MS bolesnika (N=105) i u kontrolnoj skupini zdravih osoba (N=334)**

FENOTIPSKE OSOBINE	MS bolesnici		Kontrola 2		p
	a%	q	a%	q	
18. <b>Zečja usna</b>	31.4	0.56	2.7	0.16	<b>0.0000+</b>
19. <b>Odsustvo rupice u bradi</b>	55.2	0.74	71.2	0.84	<b>0.0033+</b>
20. Albinizam	0.0	0.00	0.6	0.08	1.0000*
21. <b>Izražena pjegavost</b>	1.9	0.14	13.5	0.37	<b>0.0016+</b>
22. <b>Lice bez dlaka</b>	21.9	0.47	54.5	0.74	<b>0.0000+</b>
23. <b>Uvučena brada</b>	47.6	0.69	17.4	0.42	<b>0.0000+</b>
24. Usko lice	38.1	0.61	28.1	0.53	0.0703+
25. <b>Uvučeni zubi</b>	17.1	0.41	27.8	0.53	<b>0.0383+</b>
26. Izbrazdanost jezika	32.4	0.57	25.1	0.50	0.1830+
27. <b>Tanke usne</b>	65.7	0.81	26.0	0.51	<b>0.0000+</b>
28. Mali nos	24.8	0.50	34.4	0.59	0.0834+
29. <b>Asimetričnost lica</b>	69.5	0.83	20.9	0.46	<b>0.0000+</b>
30. <b>Razdvojene obrve</b>	31.4	0.56	67.1	0.82	<b>0.0000+</b>
31. <b>Nisko čelo</b>	36.2	0.60	20.9	0.46	<b>0.0024+</b>
32. <b>Ispupčen sternum</b>	21.9	0.47	6.9	0.26	<b>0.0000+</b>
33. <b>Dug vrat</b>	13.3	0.36	36.8	0.60	<b>0.0000+</b>
34. <b>SDF bez dlačica</b>	60.0	0.77	42.2	0.65	<b>0.0021+</b>
35. <b>Digitalni indeks</b>	55.2	0.74	41.9	0.65	<b>0.0226+</b>
36. <b>Ravan mali prst šake</b>	76.2	0.87	46.4	0.68	<b>0.0000+</b>
37. <b>Dugi tanki prsti šake</b>	55.2	0.74	43.4	0.66	<b>0.0447+</b>
38. <b>Tri tetive u korjenu šake</b>	33.3	0.58	50.3	0.71	<b>0.0034+</b>
39. "Autostoperski palac"	32.4	0.57	35.3	0.59	0.6626+

-Zadebljanim slovima istaknute su fenotipke osobine koje pokazuju statistički značajne razlike.

a%-postotak frekvencija recesivnog fenotipa

q-relativna frekvencija recesivnog alela

p-statistička značajnost

+Yatesov korigirani  $\chi^2$

\*Fisherov egzaktni dvosmjerni test

Tablica 6.

**Učestalost recesivnih varijanti fenotipskih osobina različitih funkcija u MS bolesnika (N=105) i u kontrolnoj skupini zdravih osoba (N=334)**

FENOTIPSKE OSOBINE	MS bolesnici		Kontrola 2		p
	a%	q	a%	q	
40. Vertikalno nesavijanje jezika	52.4	0.72	26.9	0.52	<b>0.0000+</b>
41. Transverzalno nesavijanje jezika	26.7	0.52	8.1	0.28	<b>0.0000+</b>
42. Neosjetljivost na PTC	71.4	0.84	41.9	0.65	<b>0.0000+</b>
43. Mucavost	3.8	0.20	2.4	0.15	0.4923*
44. Grleno R	0.9	0.10	8.1	0.28	<b>0.0225+</b>
45. Ljevorukost	7.6	0.28	9.3	0.30	0.7693+
46. Proksimalna ekstenzibilnost palca	18.1	0.43	26.3	0.51	0.1124+
47. R tip sklapanja šaka	49.5	0.70	41.6	0.64	0.1893+
48. R tip križanja ruku	49.5	0.70	41.9	0.65	0.2084+
49. R tip križanja nogu	75.2	0.87	68.9	0.83	0.2603+
50. Luksacija kukova	2.9	0.17	5.9	0.24	0.3150+

-Zadebljanim slovima istaknute su fenotipke osobine koje pokazuju statistički značajne razlike.

a%-postotak frekvencija recesivnog fenotipa

q-relativna frekvencija recesivnog alela

p-statistička značajnost

+Yatesov korigirani  $\chi^2$

\*Fisherov egzaktni dvosmjerni test

Ispitivanjem učestalosti istih fenotipskih svojstava u pacijenata i mečovanoj kontroli iz Gorskog kotara opaženo je da se dvije skupine značajno razlikuju u 20 karakteristika, od toga samo dvije osobine imaju veće frekvencije recesivnih alela u zdravih osoba (Tablice 7-9). Usporedba frekvencija recesivnih svojstava u ukupnom uzorku bolesnika s MS i skupini pacijenata iz Gorskog kotara ukazala je na podudarnost u ispoljavanju različitosti kod 14 fenotipskih svojstava, od toga 13 karakteristika je imalo veću učestalost recesivnog fenotipa u bolesnika s MS, dok je samo jedna (dug vrat) bila češća u skupinama zdravih osoba.

Tablica 7.

Učestalost recesivnih fenotipskih svojstava kose, uške i očiju u MS bolesnika (N=35) i kontrolnoj skupini (N=35) iz Gorskog kotara.

FENOTIPSKE OSOBINE	MS bolesnici		Kontrola		p
	a%	q	a%	q	
1. <b>Ravna ivica kose</b>	68.6	0.83	40.0	0.63	<b>0.031+</b>
2. Ravna kosa	82.9	0.91	82.9	0.91	0.751+
3. Svjetla boja kose	14.3	0.38	20.0	0.45	0.751+
4. <b>Meka kosa</b>	71.4	0.84	31.4	0.56	<b>0.002+</b>
5. Obrnut smjer kose u cvijetu	17.1	0.41	5.7	0.24	0.259*
6. <b>Dva cvijeta u kosi</b>	22.9	0.48	0.00	0.00	<b>0.005*</b>
7. <b>Vezana ušna resica</b>	57.1	0.76	31.4	0.56	<b>0.030'</b>
8. <b>Uška bez Darwinovih kvržica</b>	71.4	0.84	40.0	0.63	<b>0.016+</b>
9. Dlačice na ivici uške	20.0	0.45	14.3	0.38	0.751+
10. Abnormalnosti uške	28.6	0.53	11.4	0.34	0.135+
11. Svjetla boja očiju	42.9	0.65	65.7	0.81	0.093+
12. <b>Razrokost</b>	0.00	0.00	20.0	0.45	<b>0.006*</b>
13. Daltonizam	0.00	0.00	0.0	0.00	
14. Protodefekti	11.4	0.34	2.9	0.17	0.356*
15. <b>Deuterodefekti</b>	20.0	0.45	0.0	0.00	<b>0.006*</b>
16. Kratkovidnost	20.0	0.45	22.8	0.48	1.000+
17. Dalekovidnost	8.6	0.29	17.1	0.41	0.475+

-Zadebljanim slovima istaknute su fenotipke osobine koje pokazuju statistički značajne razlike.

a%-postotak frekvencija recesivnog fenotipa

q-relativna frekvencija recesivnog alela

p-statistička značajnost

+Yatesov korigirani  $\chi^2$

\*Fisherov egzaktni dvosmjerni test

'Nekorigirani  $\chi^2$



Tablica 8.

Učestalost recesivnih fenotipskih svojstava lica, trupa i šake u MS bolesnika (N=35) i kontrolnoj skupini (N=35) iz Gorskog kotara.

FENOTIPSKE OSOBINE	MS bolesnici		Kontrola		p
	a%	q	a%	q	
18. Zečja usna	20.0	0.44	17.1	0.41	1.000+
19. Odsustvo rupice u bradi	57.1	0.76	5.7	0.24	<b>0.000+</b>
20. Albinizam	0.0	0.00	0.0	0.00	
21. Izražena pjegavost	0.0	0.00	0.0	0.00	
22. Lice bez dlaka	22.9	0.48	0.0	0.00	<b>0.005*</b>
23. Uvučena brada	48.6	0.70	8.6	0.29	<b>0.006+</b>
24. Usko lice	51.4	0.72	22.8	0.48	<b>0.026+</b>
25. Uvučeni zubi	25.7	0.51	5.7	0.24	<b>0.049+</b>
26. Izbrazdanost jezika	45.7	0.68	31.4	0.56	0.326+
27. Tanke usne	71.4	0.84	54.3	0.74	0.216+
28. Mali nos	17.1	0.41	42.9	0.65	<b>0.037+</b>
29. Asimetričnost lica	57.1	0.76	54.3	0.74	1.000+
30. Razdvojene obrve	31.4	0.56	20.0	0.45	0.412+
31. Nisko čelo	40.0	0.63	14.3	0.38	<b>0.031+</b>
32. Ispupčen sternum	34.2	0.58	2.8	0.17	<b>0.002+</b>
33. Dug vrat	8.6	0.29	42.9	0.65	<b>0.003+</b>
34. SDF bez dlačica	65.7	0.81	60.0	0.77	0.807+
35. Digitalni indeks	60.0	0.77	51.4	0.72	0.630+
36. Ravan mali prst šake	74.3	0.86	54.3	0.74	0.134+
37. Dugi tanki prsti šake	62.8	0.79	14.3	0.38	<b>0.000+</b>
38. Tri tetive u korjenu šake	37.1	0.61	11.4	0.34	<b>0.026+</b>
39. "Autostoperski palac"	40.0	0.63	25.7	0.51	0.309+

-Zadebljanim slovima istaknute su fenotipke osobine koje pokazuju statistički značajne razlike.

a%-postotak frekvencija recesivnog fenotipa

q-relativna frekvencija recesivnog alela

p-statistička značajnost

+Yatesov korigirani  $\chi^2$

\*Fisherov egzaktni dvosmjerni test

ˆNekorigirani  $\chi^2$

Tablica 9.

Učestalost recesivnih fenotipskih svojstava različitih funkcija u MS bolesnika (N=35) i kontrolnoj skupini (N=35) iz Gorskog kotara.

FENOTIPSKE OSOBINE	MS bolesnici		Kontrola		p
	a%	q	a%	q	
40. Vertikalno nesavijanje jezika	45.7	0.68	48.6	69.7	1.000+
41. Transverzalno nesavijanje jezika	40.0	0.63	25.7	0.51	0.805+
42. Neosjetljivost na PTC	82.9	0.91	51.4	0.72	<b>0.011+</b>
43. Mucavost	11.4	0.34	2.9	0.17	0.356*
44. Grleno R	0.0	0.00	0.0	0.00	
45. Ljevorukost	2.9	0.17	5.7	0.24	1.000*
46. Proksimalna ekstenzibilnost palca	22.8	0.48	8.6	0.29	0.189+
47. R tip sklapanja šaka	40.0	0.63	40.0	0.63	0.807+
48. R tip križanja ruku	51.4	0.72	42.9	0.65	0.632+
49. R tip križanja nogu	82.9	0.91	57.1	0.76	<b>0.037+</b>
50. Luksacija kukova	2.9	0.17	0.0	0.00	1.000*

-Zadebljanim slovima istaknute su fenotipke osobine koje pokazuju statistički značajne razlike.

a%-postotak frekvencija recesivnog fenotipa  
q-relativna frekvencija recesivnog alela  
p-statistička značajnost

+Yatesov korigirani  $\chi^2$   
\*Fisherov egzakti dvosmjerni test  
'Nekorigirani  $\chi^2$

U Tablici 10. prikazane su vrijednosti međupopulacijskog indeksa fiksacije koji procjenjuje stupanj genetičke udaljenosti između skupine bolesnika s MS i kontrolne grupe zdravih osoba, koje su promatrane kao lokalne populacije. Od 50 promatranih fenotipskih svojstava, 31 svojstvo pokazuje statistički značajnu razliku u zastupljenosti u oboljelih i zdravih osoba, što bi značilo da bi se genetička struktura u ove dvije skupine mogla razlikovati u 62% alelogena.

Tablica 10.

**Genetička heterogenost skupine MS bolesnika i kontrolne grupe**

FENOTIPSKU OSOBINE	MS pacijenti q	Kontrola 2 q	Fst	$\chi^2$
Meka kosa	0.87	0.78	0.0190	16.68****
Dva cvijeta u kosi	0.42	0.27	0.0063	5.56*
Vezana ušna resica	0.73	0.50	0.0436	38.32****
Uška bez Darvinovih kvržica	0.73	0.67	0.0074	6.51*
Dlačice na ivici uške	0.46	0.20	0.0190	16.67****
Abnormalnosti uške	0.46	0.23	0.0165	14.49****
Protodefekti	0.34	0.13	0.0081	7.12**
Deuterodefekti	0.52	0.21	0.0324	28.42****
Zečja usna	0.56	0.16	0.0595	52.21****
Odsustvo rupice u bradi	0.74	0.84	0.0190	16.72****
Izražena pjegavost	0.14	0.37	0.0107	9.39***
Lice bez dlaka	0.47	0.74	0.0583	51.16****
Uvučena brada	0.69	0.42	0.0479	42.10****
Uvučeni zubi	0.41	0.53	0.0065	5.68*
Tanke usne	0.81	0.51	0.0921	80.90****
Mali nos	0.50	0.59	0.0048	4.23*
Asimetričnost lica	0.83	0.46	0.1352	118.73****
Razdvojene obrve	0.56	0.82	0.0778	68.27****
Nisko čelo	0.60	0.46	0.0112	9.87***
Ispupčen sternum	0.47	0.26	0.0136	11.97****
Dug vrat	0.36	0.60	0.0289	25.37****

q-relativna frekvencija recesivnog alela

Fst-indeks fiksacije

$\chi^2$ -vrijednost hi-kvadrat testa

\* p<0.05

\*\*p< 0.01

\*\*\*p< 0.005

\*\*\*\*p< 0.001

Tablica 10.-nastavak

**Genetička heterogenost skupine MS bolesnika i kontrolne grupe**

FENOTIPSKA OSOBINA	MS pacijenti q	Kontrola 2 q	Fst	$\chi^2$
SDF bez dlačica	0.77	0.65	0.0179	15.68****
Digitalni indeks	0.74	0.65	0.0092	8.08***
Ravan mali prst šake	0.87	0.68	0.0636	55.85****
Dugi tanki prsti šake	0.74	0.66	0.0075	6.62**
Tri tetive u korjenu šake	0.58	0.71	0.0154	13.56****
Vertikalno nesavijanje jezika	0.72	0.52	0.0337	29.56****
Transverzalno nesavijanje jezika	0.52	0.28	0.0211	18.53****
Neosjetljivost na PTC	0.84	0.65	0.0541	47.51****
Grleno R	0.10	0.28	0.0048	4.19*
R tip križanja nogu	0.87	0.83	0.0045	3.96*

q-relativna frekvencija recesivnog alela  
Fst-indeks fiksacije  
 $\chi^2$ -vrijednost hi-kvadrat testa

\* p<0.05    \*\*p< 0.01    \*\*\*p< 0.005    \*\*\*\*p< 0.001

Ukupan broj recesivnih fenotipskih svojstava značajno je veći u bolesnika s MS nego u zdravih osoba (Tablica 11). U pogledu izgleda kose, uške, očiju, lica, šake i funkcija oboljele i zdrave osobe se značajno razlikuju ( $p<0,001$ ).

Tablica 11.

**Ukupan broj ispitivanih recesivnih fenotipskih svojstava u MS pacijenata (N=105) i zdravih osoba kontrolne skupine (N=334).**

SKUPINE ISPITIVANIH SVOJSTAVA	RECESIVNA SVOJSTVA MS		RECESIVNA SVOJSTVA KONTROLA 2		$\chi^2$ *	p
	+	-	+	-		
<b>kosa</b>	273	357	761	1243	5.55	<b>0.018</b>
<b>uho</b>	158	262	266	1070	53.75	<b>0.000</b>
<b>oči</b>	124	611	263	2075	15.55	<b>0.000</b>
<b>lice</b>	534	1146	1517	3827	6.98	<b>0.008</b>
<b>šaka</b>	328	302	867	1137	14.62	<b>0.000</b>
<b>funkcije</b>	376	779	944	2730	20.48	<b>0.000</b>
<b>Ukupno</b>	1791	3461	4618	12082	80.06	<b>0.000</b>

-Zadebljanim slovima istaknute su skupine ispitivanih recesivnih svojstava koje pokazuju statistički značajne razlike.

+broj prisutnih recesivnih svojstava

-broj odsutnih recesivnih svojstava

\*Yatesov korigirani  $\chi^2$

p-statistička značajnost

Također, značajno veći ukupan broj recesivnih osobina i razlika u izgledu kose, uške, lica, šake i funkcija je nađen u bolesnika u odnosu na zdrave osobe iz Gorskog kotara (Tablica 12).

Posebna izračunavanja su provedena i za 30 od 50 fenotipskih karakteristika čije je ispoljavanje bilo potpuno alternativno, tako da se s većim povjerenjem može pretpostaviti da su u pitanju genetički uvjetovana kvalitativna svojstva. I u tom slučaju je ukupan broj recesivnih osobina bio značajno veći u skupinama bolesnika s MS nego u kontrolnim grupama ( $p < 0,001$ ).

Tablica 12.

**Ukupan broj ispitivanih recesivnih fenotipskih svojstava u MS pacijenata (N=35) i kontrolnih ispitanika iz Gorskog kotara (N=35).**

SKUPINE ISPITIVANIH SVOJSTAVA	RECESIVNA SVOJSTVA MS		RECESIVNA SVOJSTVA KONTROLA		$\chi^2$ *	p
	+	-	+	-		
<b>kosa</b>	97	113	63	147	10.99	<b>0.001</b>
<b>uho</b>	62	78	34	106	11.56	<b>0.001</b>
<b>oči</b>	36	209	45	200	0.95	0.331
<b>lice</b>	186	374	113	447	23.65	<b>0.000</b>
<b>šaka</b>	119	91	76	134	16.89	<b>0.000</b>
<b>funkcije</b>	134	251	102	283	5.87	<b>0.015</b>
<b>Ukupno</b>	634	1116	433	1317	53.93	<b>0.000</b>

-Zadebljanim slovima istaknute su skupine ispitivanih recesivnih svojstava koje pokazuju statistički značajne razlike.

+broj prisutnih recesivnih svojstava

-broj odsutnih recesivnih svojstava

\*Yatesov korigirani  $\chi^2$

p-statistička značajnost

Prosječna homozigotnost u bolesnika s MS iznosi  $17,05 \pm 3,76$  a u pacijenata iz Gorskog kotara  $18,06 \pm 3,63$  (Tablica 13). U kontrolnim grupama zdravih ispitanika vrijednosti prosječne homozigotnosti iznose  $13,83 \pm 3,58$  odnosno  $11,83 \pm 3,18$ . Konačno, u skupinama bolesnika je znatno veći minimalni i maksimalni broj homozigotno-recesivnih karakteristika.



Tablica 13.

**Recesivna homozigotnost promatranih 50 fenotipskih svojstava u skupinama MS bolesnika i kontrolnim skupinama**

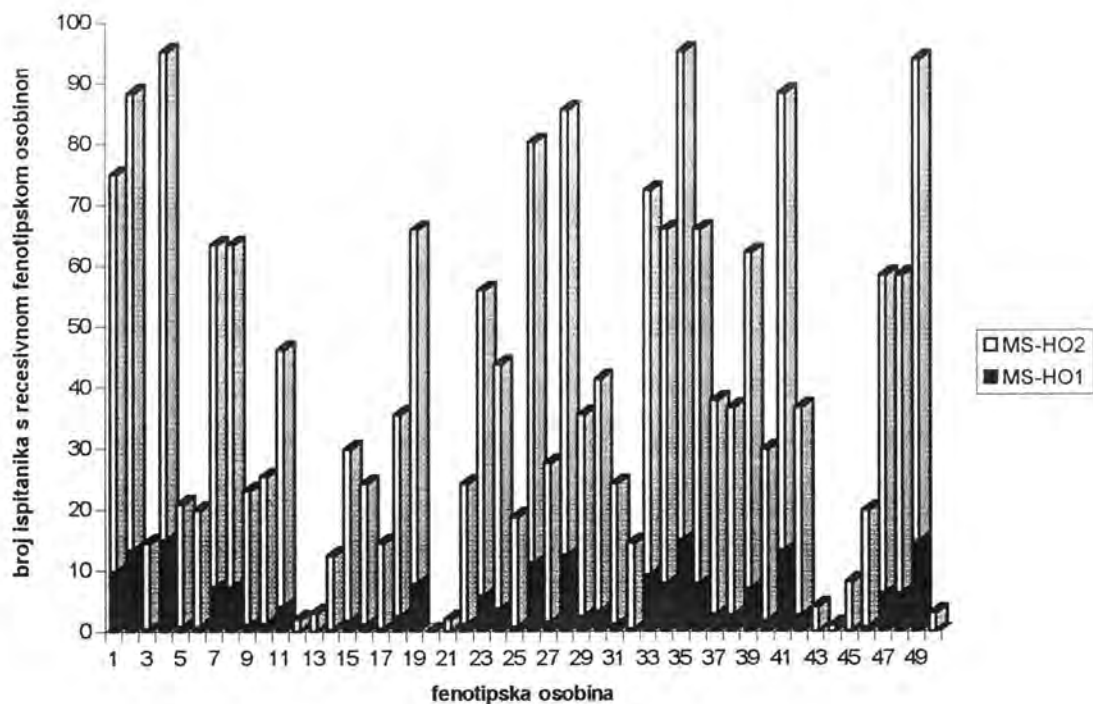
FENOTIPSKA RECESIVNA SVOJSTVA	MS PACIJENTI (N=105)	KONTROLA 2 (N=334)	MS GORANI (N=35)	KONTROLA GORANI (N=35)
X	17.05	13.83	18.06	11.83
SD	±3.76	±3.58	±3.63	±3.18
Minimum	9.00	5.00	11.00	6.00
Maximum	26.00	23.00	26.00	18.00

N-broj ispitanika  
X-srednja vrijednost  
SD-standardna devijacija

t =7.94 df= 437 p=0.000

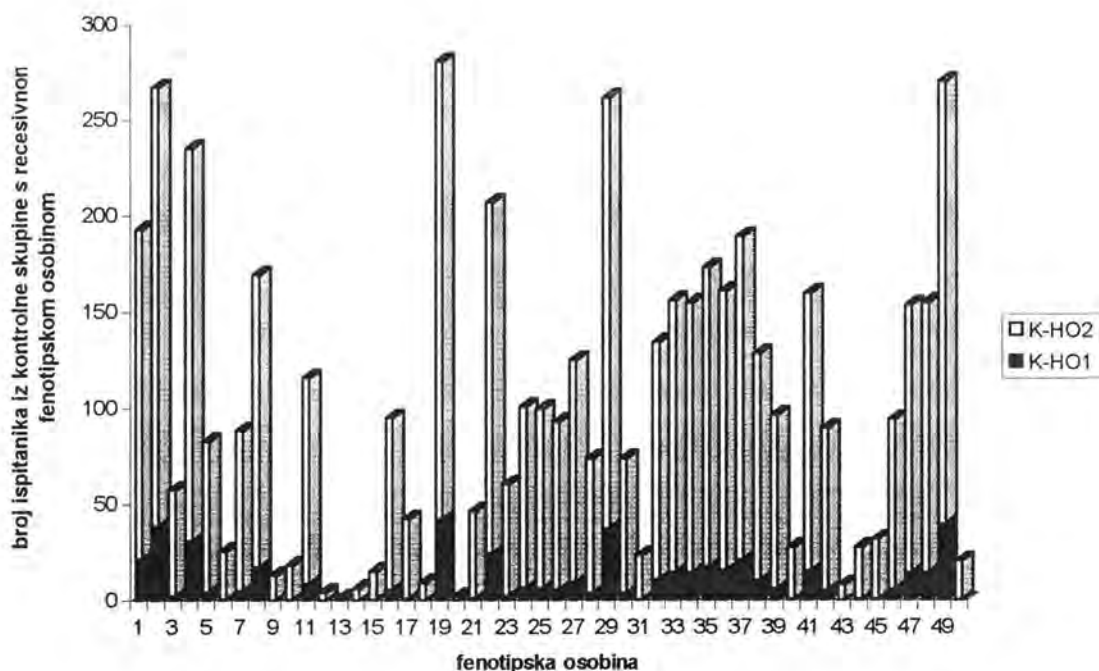
t=7.63 df=68 p=0.000

Na Slici 14. prikazan je odnos između opažene i očekivane recesivne homozigotnosti u bolesnika s MS, a na Slici 15. u kontrolnoj skupini. Razlike u opaženim i očekivanim vrijednostima recesivne homozigotnosti za sve promatrane osobine su visoko statistički značajne u obje skupine ( $p < 0,001$ ). To ukazuje na značajno povećanje recesivne homozigotnosti u odnosu na očekivanu u cijeloj populaciji, s tim da je opaženi broj homozigota veći kod gotovo svih osobina u skupini bolesnika s MS.



Slika 14. Odnos očekivane (HO1) i opažene (HO2) recesivne homozigotnosti 50 promatranih fenotipskih svojstava u skupini MS bolesnika (brojevi na apscisi odgovaraju rednim brojevima dolje navedenih fenotipskih osobina).

- |                                |                             |                                      |                                       |
|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Ravna ivica kose            | 16. Kratkovidnost           | 31. Nisko čelo                       | 46. Proksimalna ekstenzibilnost palca |
| 2. Ravna kosa                  | 17. Dalekovidnost           | 32. Ispupčen sternum                 | 47. R tip sklapanja šaka              |
| 3. Svjetla boja kose           | 18. Zečja usna              | 33. Dug vrat                         | 48. R tip križanja ruku               |
| 4. Meka kosa                   | 19. Odsustvo rupice u bradi | 34. SDF bez dlačica                  | 49. R tip križanja nogu               |
| 5. Obrnut smjer kose u cvijetu | 20. Albinizam               | 35. Digitalni indeks                 | 50. Luksacija kukova                  |
| 6. Dva cvijeta u kosi          | 21. Izražena pjegavost      | 36. Ravan mali prst šake             |                                       |
| 7. Vezana ušna resica          | 22. Lice bez dlaka          | 37. Dugi tanki prsti šake            |                                       |
| 8. Uška bez Darwinovih kvržica | 23. Uvučena brada           | 38. Tri tetive u korjenu šake        |                                       |
| 9. Dlačice na ivici uške       | 24. Usko lice               | 39. "Autostoperski palac"            |                                       |
| 10. Abnormalnosti uške         | 25. Uvučeni zubi            | 40. Vertikalno nesavijanje jezika    |                                       |
| 11. Svjetla boja očiju         | 26. Izbraždanost jezika     | 41. Transverzalno nesavijanje jezika |                                       |
| 12. Razrokost                  | 27. Tanke usne              | 42. Neosjetljivost na PTC            |                                       |
| 13. Daltonizam                 | 28. Mali nos                | 43. Mucavost                         |                                       |
| 14. Protodefekti               | 29. Asimetričnost lica      | 44. Grleno R                         |                                       |
| 15. Deuterodefekti             | 30. Razdvojene obrve        | 45. Ljevorukost                      |                                       |



Slika 15. Odnos očekivane (HO1) i opažene (HO2) recesivne homozigotnosti 50 promatranih fenotipskih svojstava u skupini zdravih osoba (brojevi na apscisi odgovaraju rednim brojevima fenotipskih osobina navedenih ispod slike 14).

#### 4.4. FERTILITET BOLESNIKA S MULTIPLIM SKLEROZOM

Usporedba fertiliteta bolesnika s MS i mečovanih kontrolnih ispitanika ukazala je da je ukupan broj trudnoća i broj živorođene djece značajno veći u zdravih osoba, dok razlike u broju mrtvorodene djece, te broju spontanih i artifičijelnih pobačaja nisu bile statistički značajne (Tablica 14). Neaficirani braća i sestre pacijenata s MS (N=262) imaju 363 djece, te prosječan broj živorođene djece  $X=1,462 \pm 1,12$ , što je značajno više od fertiliteta MS pacijenata ( $t=2,014$   $df=365$   $p<0,05$ ) i značajno manje od ispitanika kontrolne skupine ( $t=4,017$   $df=360$   $p<0001$ ).

Tablica 14.

**Plodnost MS bolesnika (N=105) i uparenih kontrolnih ispitanika**

PLODNOST	MS BOLESNICI		KONTROLA 1		t	p
	N	X±SD	N	X±SD		
<b>živorođena djeca</b>	127	1.21±1.00	197	1.97±0.95	<b>7.67</b>	<b>0.000*</b>
mrtvorodena djeca	5	0.05±0.25	10	0.11±0.34	1.37	0.173
spontani pobačaji	27	0.26±0.67	19	0.20±0.56	0.68	0.496
artificijelni pobačaji	56	0.53±1.17	55	0.58±1.13	0.31	0.756
<b>ukupan br. trudnoća</b>	215	2.05±1.90	281	2.80±1.64	<b>3.03</b>	<b>0.003*</b>

-Zadebljanim slovima istaknute su kategorije plodnosti koje pokazuju statistički značajne razlike.

N-ukupan broj

X-srednja vrijednost

SD-standardna devijacija

t-vrijednost t-testa

p-statistička značajnost

Tablica 15.

**Plodnost MS bolesnica (N=69) i MS bolesnika (N=36)**

PLODNOST	MS BOLESNICE		MS BOLESNICI		t	p
	N	X±SD	N	X±SD		
živorođena djeca	87	1.26±0.90	40	1.11±1.17	0.73	0.464
mrtvorodena djeca	4	0.06±0.29	1	0.03±0.17	0.57	0.569
spontani pobačaji	17	0.25±0.67	10	0.28±0.70	0.23	0.820
<b>artificijelni pobačaji</b>	48	0.70±1.34	8	0.22±0.54	<b>2.00</b>	<b>0.044</b>
ukupan broj trudnoća	156	2.26±1.91	59	1.64±1.82	1.61	0.111

-Zadebljanim slovima istaknute su kategorije plodnosti koje pokazuju statistički značajne razlike.

N-ukupan broj

X-srednja vrijednost

SD-standardna devijacija

t-vrijednost t-testa

p-statistička značajnost

Usporedba fertiliteta bolesnica s MS (N=69) i plodnosti supruge muških pacijenata (N=36) ukazala je na značajno veću frekvenciju artifičnih pobačaja u bolesnica, dok ostale razlike u plodnosti nisu pokazale značajna odstupanja (Tablica 15).

Rezultati ispitivanja dobi i dinamike menarhe, te dobi menopauze u bolesnica s MS i kontrolnih ispitanica prikazani su u Tablici 16. Menarha u bolesnica se javlja značajno ranije ( $12,93 \pm 2,25$ ) nego u kontrolnoj skupini ( $13,80 \pm 1,83$ ) ( $p < 0,01$ ) te je menstrualna faza mjesečnice bila značajno dužeg trajanja ( $p < 0,001$ ). Također, ciklus je značajno kraći u bolesnica s MS ( $p < 0,05$ ) dok se razlike u dobi menopauze nisu pokazale statistički značajnim ( $p > 0,05$ ).

Tablica 16.

**Dob i dinamika menstrualnog ciklusa u MS bolesnica (N=69) i kontrolnih ispitanica (N=69)**

MENSTRUALNI CIKLUS	MS BOLESNICE		KONTROLA 1		t	p
	X	SD	X	SD		
<b>Menarha</b>	12.93	± 2.25	13.80	± 1.83	2.76	<b>0.006*</b>
<b>Trajanje krvarenja</b>	6.35	± 6.04	5.15	± 1.79	3.35	<b>0.000*</b>
<b>Trajanje ciklusa</b>	24.17	± 9.72	27.79	± 3.89	2.06	<b>0.041*</b>
Menopauza+	47.43	± 5.01	48.6	± 4.63	0.97	0.335

-Zadebljanim slovima istaknute su kategorije plodnosti koje pokazuju statistički značajne razlike.

+u ispitanica koje su u menopauzi.

X-srednja vrijednost

SD-standardna devijacija

t-vrijednost t-testa

p-statistička značajnost

Statistički značajna razlika nije nađena niti za jednu kategoriju fertiliteta između oboljelih i zdravih osoba iz Gorskog kotara (Tablice 17. i 18.).

Tablica 17.

**Plodnost MS bolesnika (N=35) i kontrolnih ispitanika iz Gorskog kotara (N=35)**

PLODNOST	MS GORANI		KONTROLA GORANI		t	p
	N	X±SD	N	X±SD		
živorođena djeca	46	1.31±0.93	56	1.60±0.81	1.37	0.176
mrtvorodena djeca	1	0.03±0.17	0	0.00±0.00	1.01	0.314
spontani pobačaji	10	0.29±0.79	26	0.74±1.93	1.30	0.199
artificijelni pobačaji	31	0.89±1.64	19	0.54±0.78	1.12	0.268
ukupan broj trudnoća	88	2.51±2.12	99	2.83±2.30	0.60	0.553

N-ukupan broj  
 X-srednja vrijednost  
 SD-standardna devijacija  
 t-vrijednost t-testa  
 p-statistička značajnost

Tablica 18.

**Dob i dinamika menstrualnog ciklusa u MS bolesnica (N=21) i kontrolnih ispitanica (N=21) iz Gorskog kotara**

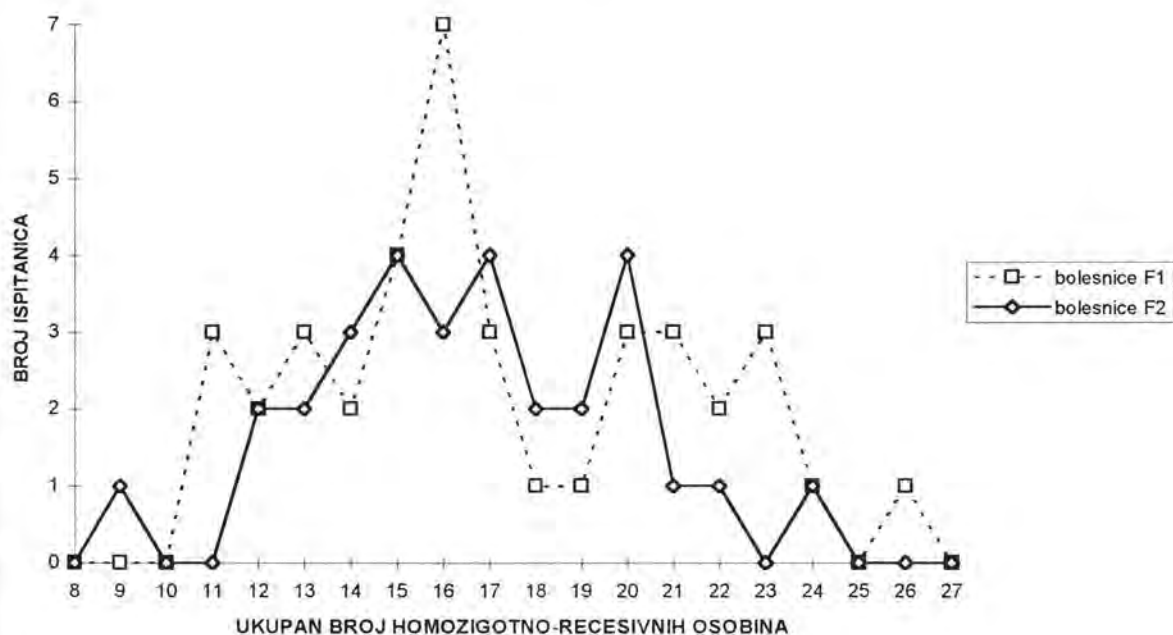
MENSTRUALNI CIKLUS	MS GORANKE		KONTROLA GORANKE		t	p
	X	SD	X	SD		
Menarha	11.86	± 2.95	13.14	±1.98	1.65	0.107
Trajanje krvarenja	7.90	± 8.95	5.29	± 1.71	1.32	0.195
Trajanje ciklusa	22.81	±11.24	26.95	± 7.05	1.43	0.161
Menopauza+	49.25	±3.84	49.12	±3.36	0.05	0.965

\* u ispitanica koje su u menopauzi.

X-srednja vrijednost  
 SD-standardna devijacija  
 t-vrijednost t-testa  
 p-statistička značajnost

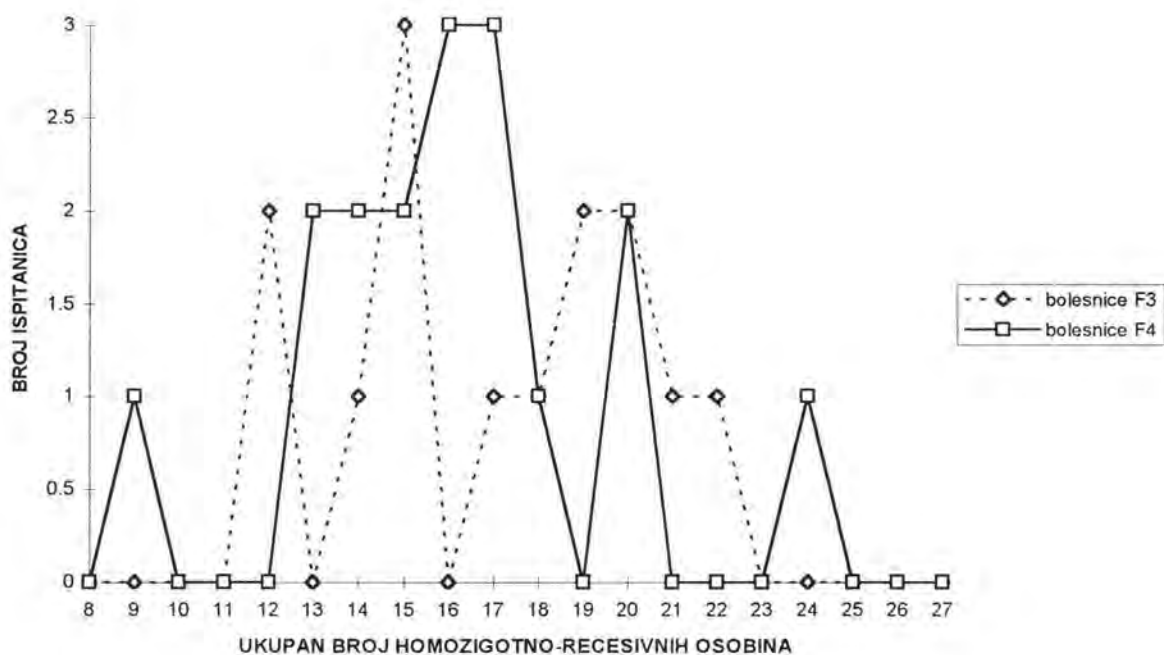


Ispitivanje da li povećan broj homozigotno-recesivnih osobina utječe na plodnost bolesnika i bolesnica s MS ukazalo je da ne postoji značajna razlika u broju spomenutih svojstava u bolesnika s reproduktivnim problemima (sterilne osobe i one s mrtvorodenom djecom i spontanim pobačajima) u odnosu na ispitanike bez tih problema ( $p>0,05$ ). Naime, bolesnice koje nisu imale niti jednu trudnoću te one s mrtvorodenom djecom i spontanim pobačajima ( $N=30$ ) imale su prosječan broj homozigotno-recesivnih svojstava  $X=16,60\pm 3,34$ , a one bez reproduktivnih problema  $17,18\pm 4,02$  ( $N=39$ ). Međutim, distribucija homozigotno-recesivnih karakteristika u ovim skupinama ukazuje da je 63,3% bolesnica s reproduktivnim problemima imalo 15-20 recesivnih svojstava, dok je u skupini bez reproduktivnih problema 45% osoba imalo taj broj recesivnih karakteristika (Slika 16).



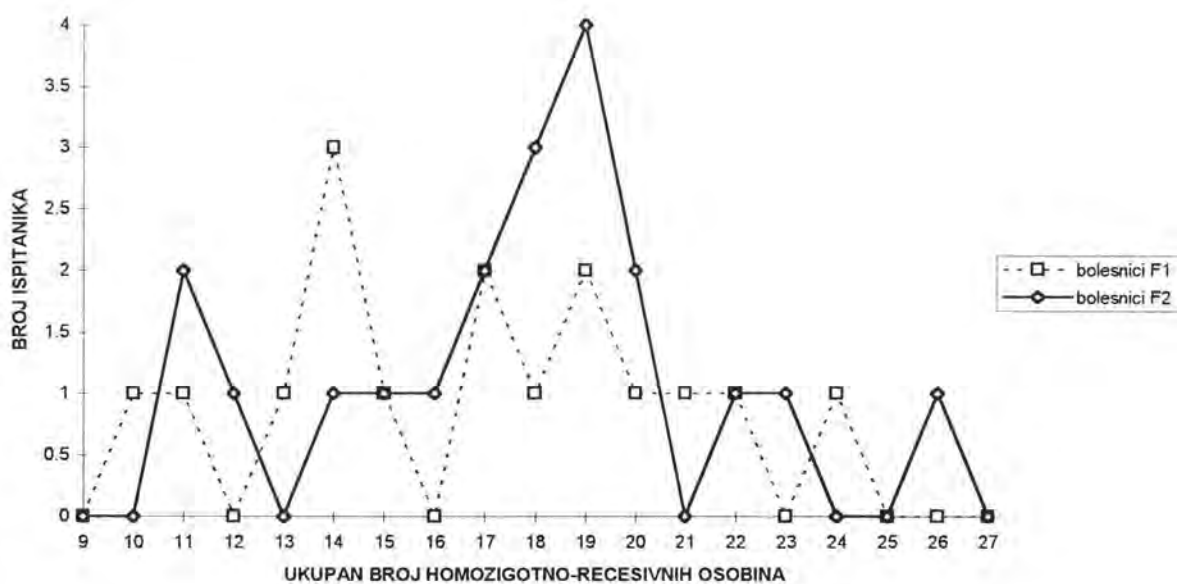
Slika 16. Distribucija homozigotno-recesivnih osobina u MS bolesnica bez reproduktivnih problema (F1) i MS bolesnica s reproduktivnim poremećajima (F2).

Promatrajući zasebno samo bolesnice s mrtvorodenom djecom i spontanim pobačajima (N=14) uočili smo da niti jedna nije imala manje od 12 homozigotno-recesivnih osobina, a da je 11 bolesnica (78,6%) imalo 15 i više spomenutih svojstava (Slika 17). Također, u skupini bolesnica koje nisu imale niti jednu trudnoću (N=17) 70,6% su imale 15 i više homozigotno-recesivnih karakteristika (Slika 17).



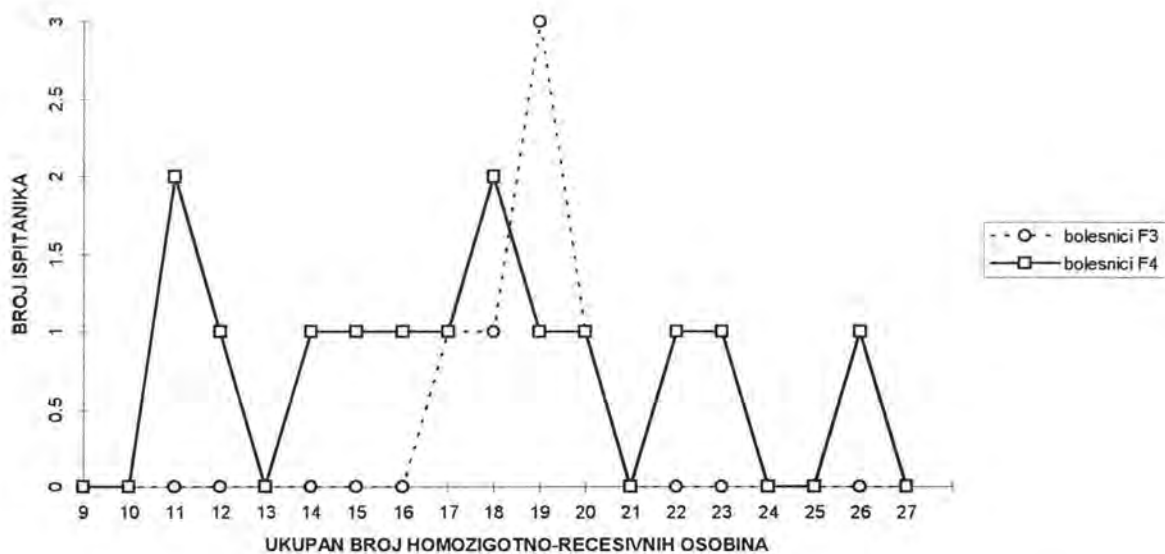
Slika 17. Distribucija homozigotno-recesivnih osobina u MS bolesnica sa spontanim pobačajima i mrtvorodenom djecom (F3) i MS bolesnica sa sterilitetom (F4).

Distribucija homozigotno-recesivnih osobina u bolesnika s MS prikazana je na Slici 18. Bolesnici čije supruge nisu imale reproduktivnih problema (N=16) imali su prosječan broj homozigotno-recesivnih svojstava  $16,75 \pm 3,99$  a 62,5% je imalo 15 i više recesivnih karakteristika. Nasuprot tome, u slučajevima bolesnika čije su supruge imale reproduktivne probleme (N=20) prosječna recesivna homozigotnost je iznosila  $17,70 \pm 3,84$  te je 80% imalo 15 i više recesivnih svojstava.



Slika 18. Distribucija homozigotno-recesivnih osobina u MS bolesnika bez reproduktivnih problema (F1) i MS bolesnika s reproduktivnim poremećajima (F2).

Promatrajući one bolesnike čije su supruge imale mrtvorodenu djecu i spontane pobačaje ( $N=6$ ) uočava se prosječna recesivna homozigotnost od  $18,67 \pm 1,03$  te niti jedan slučaj sa manje od 17 recesivnih karakteristika (Slika 19). U skupini bolesnika sa sterilitetom ( $N=14$ ) 71,4% je imalo 15 i više homozigotno recesivnih osobina a prosječna homozigotnost iznosila je  $17,29 \pm 4,53$  (Slika 19).



Slika 19. Distribucija homozigotno-recesivnih osobina u MS bolesnika čije su supruge imale spontane pobačaje i mrtvorodenu djecu (F3) i MS bolesnika sa sterilitetom (F4).

#### 4.5. REDOSLIJED ROĐENJA BOLESNIKA S MULTIPLIM SKLEROZOM

Opažena i očekivana distribucija redoslijeda rođenja u 105 bolesnika s MS je prikazana u Tablici 19. Vidljivo je da  $\chi^2$  test nije pokazao značajnu razliku između opažene i očekivane frekvencije redoslijeda rođenja u ispitivanom uzorku bolesnika ( $\chi^2=3,10$  df=6 p>0,05).

Tablica 19.

**Opažena i očekivana distribucija redoslijeda rođenja MS bolesnika (N=105) u odnosu na brojnost potomstva**

Brojnost potomstva	Redoslijed rođenja		3	4	5	6	7+	N
	1	2						
1	10 10.0							10
2	15 13.5	12 13.5						27
3	6 7.0	10 7.0	5 7.0					21
4	4 4.7	7 4.7	5 4.7	3 4.7				19
5	0 1.4	2 1.4	0 1.4	3 1.4	2 1.4			7
6	1 1.7	1 1.7	2 1.7	2 1.7	2 1.7	2 1.7		10
7+	2 1.6	2 1.6	1 1.6	1 1.6	3 1.6	0 1.6	2 1.6	11
Ukupno	38 39.9	34 29.9	13 16.4	9 9.4	7 4.7	2 3.3	2 1.6	105

-očekivane vrijednosti redoslijeda rođenja označene zadebljanim brojevima.

N-broj ispitanika

7+ =7 i više potomaka

$$\chi^2=3.10 \quad df=6 \quad p>0.05$$

Frekvencija i proporcija redoslijeda rođenja bolesnika iz Gorskog kotara (N=35) i uparenih kontrolnih ispitanika je prikazana u Tablici 20. Ako relativni rizik za kasni redoslijed rođenja (3+) iznosi 1, onda je za rani redoslijed rođenja (1-2) relativni rizik 0,44, što se nije pokazalo statistički značajnom razlikom.

Analiziranje redoslijeda rođenja u mečovanih parova ukazalo je da je 16 parova diskordantno u pogledu ranog ili kasnog redoslijeda rođenja (Tablica 21), međutim razlika nije bila statistički značajna ( $\chi^2=1,07 \quad df=1 \quad p=0,302$ ).

Tablica 20.

**Redosljed rođenja MS bolesnika (N=35) i kontrolnih osoba iz Gorskog kotara (N=35)**

REDOSLIJED ROĐENJA	MS BOLESNICI		KONTROLA		Relativni rizik*
	N	%	N	%	
1	11	31.0	13	37.2	0.44 (0.14-1.41)
2	10	29.0	14	40.0	
3	7	20.0	2	5.7	1.00
4+	7	20.0	6	17.1	
Ukupno	35	100.0	35	100.0	

\* 95% granica vjerojatnoće data u zagradama.

N-broj ispitanika

4+= 4 i više potomaka

Tablica 21.

**Rani (1-2) i kasni (3+) redosljed rođenja u uparenih parova MS bolesnika (N=35) i kontrola (N=35) iz Gorskog kotara**

MS BOLESNICI	KONTROLA		UKUPNO
	Rani redosljed rođenja +	Rani redosljed rođenja -	
Rani redosljed rođenja +	16	5	21
Rani redosljed rođenja -	11	3	14
UKUPNO	27	8	35

+ ispitanici s ranim redosljedom rođenja

- ispitanici s kasnim redosljedom rođenja

$\chi^2=1.07$  df=1 p=0.302



Analiza distribucije redoslijeda rođenja između bolesnika i kontrolnih ispitanika iz Gorskog kotara za svaki stupanj brojnosti potomstva je pokazala također male i nesistematske razlike, koje kao što prikazuje Tablica 22., nisu bile statistički značajne ( $\chi^2=1,28$  df=2 p=0,53).

Tablica 22.

**Redoslijed rođenja MS bolesnika (N=35) i kontrolnih osoba (N=35) iz Gorskog kotara u odnosu na brojnost potomstva (osobe bez braće i sestara isključene)**

BROJNOST POTOMSTVA		REDOSLIJED ROĐENJA				Ukupno	X
		1	2	3	4+		
2	MS	5	4			9	1.44
	K	1	10			11	1.91
3	MS	3	3	4		10	2.10
	K	4	2	1		7	1.57
4+	MS	3	3	4	7	17	2.88
	K	2	2	1	6	11	3.00

\*Kategorije redoslijeda rođenja su grupirane da bi se zadovoljili kriteriji  $\chi^2$  testa.

X-srednja vrijednost redoslijeda rođenja  
4+= 4 i više potomaka

$\chi^2*=1.28$  df=2 p= 0.53

## 5. RASPRAVA

Premda MS nije najučestalija neurološka bolest već nekoliko desetljeća pobuđuje ogroman znanstveni interes. Samo u posljednjih petnaest godina više od deset tisuća studija bavile su se ispitivanjem prirode ove složene i iznimno intrigantne bolesti<sup>284</sup>. Međutim, unatoč brojnim rezultatima epidemioloških i genetičkih istraživanja do danas je ostala nepoznata etiologija MS. Preovladavajuće mišljenje posljednjih godina, koje je pomirilo zagovornike okolišne i genetičke teorije o uzročnosti MS, je da bolest uzrokuju multipni čimbenici koji djeluju u odgovarajućem vremenskom razdoblju prije puberteta na genetički predisponirane osobe<sup>285</sup>. Ova objedinjena hipoteza naglašava s jedne strane moguću etiološku heterogenost i nedostatak specifičnosti uzročnih čimbenika, i s druge strane ulogu genetičko-rasne podložnosti u odnosu između čovjeka i njegovog biološkog, fizičkog i/ili socijalnog okoliša. Međutim, još uvijek je nepoznata priroda određenih okolišnih i genetičkih faktora koji mogu imati značaja u etiopatogenezi MS.

Početni korak istraživanja uloge genetičkih čimbenika u etiologiji neke bolesti je utvrđivanje da li bolest ima familijarni karakter, odnosno da li se s povećanom učestalošću javlja u srodnika aficiranih osoba. Još je u ranim radovima o MS zapažena obiteljska pojavnost bolesti, a prvu detaljnu studiju su izveli Curtius i Speer<sup>286</sup>, koji su ukazali na učestalost bolesti od 1:103 kod braće i sestara aficiranih osoba i 1:212 kod njihovih roditelja. Ispitujući prve srodnike 310 bolesnika s MS u Engleskoj Pratt i suradnici<sup>287</sup> su našli 3 aficirane osobe od 465 roditelja (1:155) i 5 od 614 braće i sestara (1:123). U Sjevernoj Irskoj su Allison i Millar<sup>288</sup> uočili incidenciju aficiranih srodnika od 1:128 kod braće i sestara i 1:298 kod roditelja ispitanika s MS. U istraživanju MS u Sjevernoj Škotskoj nijedan roditelj 127 ispitivanih bolesnika nije bio aficiran dok je nađeno 7 oboljelih od 545 braće i sestara (1:78) i 2 od 162 djece bolesnika s MS (1:81)<sup>289</sup>. Shapira i suradnici<sup>102</sup> su ukazali na učestalost bolesti od 1:86 u braće i sestara i 1:173 u roditelja aficiranih osoba, a Koch-Henriksen<sup>222</sup> u obiteljskoj studiji MS u Skandinaviji je našao da je incidencija bolesti u prvih srodnika iznosila 3% za braću i sestre, 2,4% za djecu i 1,9% za roditelje bolesnika s MS. U svim navedenim studijama broj aficiranih braće i sestara je bio najmanje 10-20 puta viši od očekivanih vrijednosti u općoj populaciji. Mackay i Myriantopoulos<sup>290</sup> su našli 118 puta višu učestalost bolesti u braće i sestara i 34 puta višu u roditelja bolesnika s MS u odnosu na opću populaciju, međutim, studija je bila

zasnovana na 68 obitelji koje su bile specijalno izdvojene za ispitivanje blizanačke MS. Neke od studija su uključile i ispitivanje učestalosti bolesti u drugih i trećih srodnika aficiranih osoba pri čemu su udaljeniji srodnici imali nižu učestalost bolesti od bliskih srodnika ali višu u odnosu na opću populaciju<sup>231, 291-293</sup>. Navedeni rezultati svakako ukazuju da izlaganje zajedničkim faktorima okoliša ne može biti jedini uzrok obiteljskoj pojavnosti MS.

U ovoj studiji u uzorku od 105 bolesnika s MS s područja Primorsko-goranske i Istarske županije pozitivna obiteljska anamneza nađena je u 12 obitelji (11,43%), a u kontrolnoj uparenoj skupini u 3 od 105 obitelji (2,86%). Razlika između dvije skupine obitelji u odnosu na pozitivnu obiteljsku anamnezu za MS je statistički značajna ( $p < 0,05$ ). Geneaološka analiza obitelji bolesnika s MS obuhvatila je 2832 srodnika od kojih je 15 imalo klinički sigurni oblik MS (0,53%). Dvije osobe su pokazivale klinički vjerojatni oblik bolesti, ali u daljnjim kalkulacijama smo uzimali u obzir samo aficirane srodnike s klinički sigurnom MS. Učestalost bolesti je iznosila 1:76 za srodnike I stupnja, 1:225 za srodnike II stupnja i 1:441 za srodnike III stupnja srodnosti s oboljelima. Očigledno je da što je stupanj srodnosti bio bliži veća je bila proporcija aficiranih srodnika. U ispitivanoj kontrolnoj skupini od 2447 srodnika bilo je 3 slučaja MS (0,12%) pri čemu su učestalosti bolesti od 1:564 za prve srodnike, 1:871 za druge i 1:1012 za treće srodnike bile značajno manje nego u ispitivanom uzorku. Iako ukupna učestalost bolesti u aficiranim obiteljima odgovara onima u drugim studijama MS, primjećujemo da je proporcija od 1:55 za braću i sestre i 1:110 za roditelje i djecu bolesnika s MS veća od rezultata u dosadašnjim istraživanjima.

Međutim, postojanje obiteljske pojavnosti MS, iako sugerira nasljednu uvjetovanost pojave, samo po sebi nije dovoljan dokaz s obzirom da su članovi iste obitelji, posebice osobe prvog stupnja srodnosti, izložene djelovanjima istih ili sličnih okolišnih faktora koji mogu imati ulogu u etiologiji bolesti. Zbog toga je bilo neophodno ispitati u kojoj je mjeri ta povećana učestalost bolesti među srodnicima bolesnika genetički determinirana. To se postiže izračunavanjem heritabilnosti svojstva, pri čemu se kvantitativno izražava dio genetičke raznolikosti ovisne o aditivnom djelovanju svakog pojedinačnog alela poligenetskog kompleksa koji se prenosi putem gameta. Heritabilnost prema definiciji predstavlja odnos aditivne genetičke prema fenotipskoj varijabilnosti. Ukoliko odsustvuje neaditivna genetička komponenta (alelne i nealelne interakcije gena kojima se povećava učinak), nasljedljivost je identična veličini genetičke uvjetovanosti svojstva, tj. stupanj genetičke determinacije može biti isti ili veći ali ne i manji od izračunate vrijednosti heritabilnosti. Koncept heritabilnosti je prema

Falconeru<sup>278</sup> najpogodnija metoda u analiziranju poligenski uvjetovanih bolesti s obzirom da istovremeno može otkriti i moguće prisustvo jednog glavnog dominantnog ili recesivnog gena koji mogu determinirati bolest.

Uspoređujući podatke o učestalosti bolesti u obiteljima s MS i u srodnika ispitanika iz kontrolne skupine izračunate su heritabilnosti za svaki stupanj srodnosti. Vrijednosti koeficijenta heritabilnosti u prvih (49,1±11,5), drugih (50,1±13,7) i trećih srodnika (48,7±14,8) bolesnika s MS upućuju da je povećana učestalost među srodnicima oboljelih u velikoj mjeri uzrokovana nasljeđivanjem predispozicije za MS. Najviši stupanj heritabilnosti među braćom i sestrama aficiranih osoba (56,7±12,9) mogao bi ukazivati na djelovanje i nekih drugih tj. okolišnih čimbenika na pojavu bolesti s obzirom da oni u najvećoj mjeri dijele iste uvjete okoliša. U tom slučaju bi bilo očekivano da koeficijent heritabilnosti varira značajno s udaljavanjem stupnjeva srodnosti jer su različiti okolišni faktori prisutni u osoba koje nisu u bliskom srodstvu. Međutim, u našem uzorku vrijednosti koeficijenta heritabilnosti u srodnika I, II, i III stupnja srodnosti s bolesnicima se međusobno značajno ne razlikuju, uzimajući u obzir i standardne pogreške u čijim se rasponima nalazi dobijena srednja vrijednost.

Izračunata heritabilnost MS u ovom radu je konzistentna s procjenama nasljedljivosti od strane drugih autora, koji su ukazali na njenu vrijednost od 40-48% za roditelje i 56-57% za braću i sestre<sup>102,286-289</sup>. Koch-Henriksen<sup>222</sup> je u obimnoj studiji MS u Skandinaviji našao nasljedljivost bolesti od 42% za roditelje, 48% za djecu i 55% za braću i sestre, s tim da nije bilo značajne razlike u heritabilnosti između braće i sestara muških i ženskih bolesnika. Znatno niže vrijednosti heritabilnosti su nađene u istraživanjima MS na Shetland (23%)<sup>231</sup> i Orkney otocima (31%)<sup>291</sup> vjerojatno uslijed izuzetno malih uzoraka ispitanika, te značajnog konsangviniteta u obje populacije pri čemu su se koeficijenti srodnosti ponavljali više puta u kalkulacijama.

S obzirom na činjenicu da veća vrijednost heritabilnosti ukazuje na veći doprinos genetičkih čimbenika u etiologiji bolesti, mogli bismo procijeniti značaj genetičke komponente u podložnosti za MS usporedbom njene nasljedljivosti s vrijednostima heritabilnosti u drugih bolesti. Tako je heritabilnost MS veća nego u dijabetesu (35%)<sup>294</sup>, kongenitalnim bolestima srca (35%)<sup>295</sup> i peptičkom ulkusu (37%)<sup>295</sup>, nešto manja nego u anencefaliji i spini bifidi (60%)<sup>295</sup>, hipertenziji (62%)<sup>295</sup> i znatno manja nego u bolestima kao što su stenoza pilorusa (79%)<sup>278</sup>, astma (80%)<sup>295</sup> ili shizofrenija (60-90%)<sup>296</sup>.



Na osnovu navedenih rezultata istraživanja obiteljske pojavnosti bolesti u ovom radu mogli bismo razmotriti moguće načine nasljeđivanja predispozicije za MS. Povećana incidencija aficiranih srodnika u obiteljima bolesnika s MS u usporedbi s obiteljima ispitanika kontrolne skupine, te opadanje učestalosti aficiranih srodnika s udaljavanjem stupnjeva srodnosti s oboljelima, kao i više aficiranih žena u ispitivanom uzorku ukazuju na poligensku genetičku determinaciju MS. Nadalje, poligenski model nasljeđivanja predviđa da će srodnici rjeđe aficiranog spola, u ovom slučaju muških ispitanika, imati viši rizik za MS od srodnika ženskih probanda. U našem uzorku je od 69 bolesnica 7 (10,1%) imalo aficirane srodnike, od toga je bilo 8 oboljelih osoba u I-III stupnju srodnosti i jedna u IV stupnju srodnosti. Od 36 bolesnika s MS muškog spola 5 (13,9%) je imalo aficirane srodnike i to 7 od I-III i 1 u V stupnju srodnosti. Iako se uočava nešto veći broj oboljelih srodnika muškog spola, smatrali smo da testiranje statističke značajnosti razlike ne bi bilo korektno uslijed malog absolutnog broja aficiranih srodnika. Zatim, u skladu s teoretskim postavkama poligenskog nasljeđivanja bi učestalost bolesti u prvih srodnika trebala biti približno jednaka kvadratnom korjenu učestalosti bolesti u populaciji odnosno u kontrolnoj skupini. U našoj kontrolnoj skupini frekvencija bolesti je iznosila 0,12% ( $q=0,0012$ ), te je  $\sqrt{0,0012}=0,035$  ili 3,5% što se značajno ne razlikuje od 1,3% što predstavlja učestalost MS u rođaka I stupnja srodnosti s bolesnicima.

Teorija o postojanju jednog dominantnog gena ne bi bila prihvatljiva jer unatoč tome što su u našem uzorku u 7 obitelji bili aficirani prvi srodnici, ostali oboljeli rođaci su bili znatno udaljeni od probanda, a također u velikom broju obitelji je "proband" bio jedina aficirana osoba. U slučaju da i postoji jedan "major" dominantan gen, on bi morao biti ekstremno reducirane penetrabilnosti uvjetovane djelovanjem drugih genetičkih ili okolišnih faktora koji bi sprečavali njegovu punu manifestaciju u većine osoba koje taj gen posjeduju. Međutim, s obzirom na prethodno navedene rezultate našeg istraživanja, kao i istraživanja drugih autora<sup>222,291-293</sup> takva mogućnost se čini malo vjerojatnom.

Postojanje uočljive razlike u heritabilnosti MS između braće i sestara s jedne strane ( $56,7\pm 12,9$ ) i roditelja i djece s druge strane ( $40,7\pm 15,3$ ) bi moglo ukazivati na prisustvo recesivnog gena u genotipu osoba s MS. Međutim, naši podaci ne idu u prilog hipotezi o recesivnom nasljeđivanju postavljenoj od strane nekih autora<sup>290</sup>, jer od ukupnog broja djece bolesnika s MS ( $N=127$ ) samo jedno dijete je bilo aficirano, a to je mali broj da bi se zadovoljila spomenuta hipoteza. Također, u našem uzorku nije bilo slučajeva konsangviniteta što znači da ukoliko je recesivan gen odgovoran za bolest, on bi morao biti široko

rasprostranjen u populaciji, a njegov učinak uveliko zamaskiran djelovanjem okolišnih čimbenika u većine osoba s recesivnim genotipom. Nadalje, sukladno teoretskim postavkama recesivnog nasljeđivanja očekuje se da su oba spola podjednako zahvaćena što u našem uzorku nije bio slučaj. Veći broj aficiranih žena (N=69) u odnosu na muškarce (N=36) eliminira i mogući X-recesivan tip nasljeđivanja MS.

Da bi se objasnio takav odnos spolova u populaciji bolesnika s MS neki autori su razmatrali i pretpostavku o Y-vezanom genu koji determinira rezistentnost na bolest. U tom slučaju se očekuje da aficirani muškarci prenose bolest na sinove, međutim potpuno suprotan trend je uočen u studiji Sadovnick i suradnika<sup>297</sup> koji su ispitujući konkordantnost za MS u 75 parova roditelj-dijete našli 40 parova majka-kćer, 13 majka-sin, 21 otac kćer i svega 1 otac-sin. Otkriće spolnih razlika u prijenosu MS je dodatni dokaz da je bolest uzrokovana složenim međudjelovanjem većeg broja čimbenika koji mogu biti genetički i ambijentalni, a najvjerojatnije su heterogeni. U našem uzorku je u svega 3 obitelji došlo do prijenosa bolesti s roditelja na dijete i to u dva slučaja se radilo o parovima otac-kćer i u jednom majka-kćer, tako da nismo u mogućnosti suditi o eventualnom postojanju spolnih razlika u prijenosu bolesti.

Većina autora u suvremenim istraživanjima moguće uloge genetičkih faktora u etiologiji bolesti ukazuje na poligensku determinaciju podložnosti za MS<sup>10,297</sup>. Studije blizanačke MS u kojima je nađena niska konkordantna stopa bolesti u dizigotnih blizanaca (oko 3%) u odnosu na monozigotne (oko 25%) ukazuju da su najmanje dva, a vjerojatno i više gena uključeni u determinaciju podložnosti za MS<sup>95,97</sup>. Naime, ukoliko bi u pitanju bio jedan dominantan gen, bilo bi očekivano da je konkordantna stopa bolesti u monozigotnih blizanaca približno dva puta veća nego u dizigotnih parova. Također, rizici oboljevanja za I, II i III srodnike aficiranih osoba odgovaraju modelu nasljeđivanja u kome veći broj gena doprinosi podložnosti za MS<sup>89</sup>. Posljednjih godina je veliki broj studija usmjeren na pokušaje identificiranja gena podložnosti za MS, pri čemu su se kao mogući kandidati istraživali geni koji bi mogli biti značajni u reguliranju restrikcije imunološkog odgovora. Suvremene populacijske studije su utvrdile združenost MS s klasom II fenotipova DR15 i DQ6<sup>109</sup> kao i s alelom u varijabilnoj regiji imunoglobulinskog gena VH2-5<sup>134-135</sup>, ali ne i genetičku povezanost u obiteljima s MS<sup>10,117</sup>. Također, iako populacijska istraživanja nisu dokazala združenost između MS i gena TCR beta lanca, obiteljska ispitivanja su ukazala na moguću genetičku povezanost, posebno nakon stratifikacije za prisustvo DR15 u aficiranih ispitanika, sugerirajući interakciju između genetičkih polimorfizama unutar HLA i TCR gena<sup>129</sup>. Međutim, do danas



nema pouzdanih podataka da bilo koji genetički biljeg, djelujući zasebno ili u kombinaciji s drugim biljezima, determinira podložnost ili otpornost prema MS.

Shodno tome, u ovoj studiji smo pokušali ustanoviti moguću združenost MS s određenim fenotipskim svojstvima kao mogućim genetičkim biljezima za poligene koji mogu direktno utjecati na stvaranje predispozicije za MS i/ili na otpornost prema okolišnim čimbenicima koji provociraju nastanak bolesti. S obzirom da se monogenska kontrola nasljeđivanja ovih fenotipskih svojstava često dovodi u pitanje uslijed relativno učestale pojave fenotipske varijabilnosti unutar jednog genotipa, postavili smo uvjetnu hipotezu da je svako ispitivano svojstvo pod kontrolom odgovarajućeg genskog lokusa i utvrdili učestalosti alela prema krajnje recesivnoj osobini. Usporedba učestalosti recesivnih varijanti promatranih fenotipskih svojstava u bolesnika s MS i u kontrolnoj skupini je ukazala da uzorak oboljelih značajno odstupa od fenotipskog statusa zdravih osoba. Naime, od 50 ispitivanih karakteristika u ukupnom uzorku bolesnika s MS i u zdravih ispitanika 29 je ispoljavalo značajan stupanj međusobne različitosti, dok su se pacijenti i kontrolni ispitanici iz Gorskog kotara razlikovali u 20 svojstava. Usporedba učestalosti recesivnih svojstava u ukupnom uzorku bolesnika s MS i skupini pacijenata Gorana ukazala je na podudarnost u ispoljavanju različitosti u 14 fenotipskih svojstava, pri čemu je 13 osobina imalo učestaliji recesivni fenotip u bolesnika s MS (osobine označene rednim brojevima 4, 6, 7, 15, 19, 22, 23, 25, 31, 32, 37, 38, 42), a samo jedna (dug vrat) je bila češća u skupinama zdravih osoba.

Stupanj genetičke udaljenosti između skupine bolesnika s MS i kontrolne grupe je određen pomoću indeksa fiksacije. Ako je  $F=0$  između skupina nema diferencijacije, a maksimalna vrijednost  $F=1$  ukazuje da su uzorci potpuno razdvojeni za promatranu karakteristiku, odnosno da su se aleli fiksirali. Statistički značajna razlika u zastupljenosti promatranih svojstava u oboljelih i zdravih osoba je nađena za 31 od 50 promatranih osobina. Imajući u vidu da su osobine bile slučajno odabrane i pod pretpostavkom da imaju jednostavnu genetičku determinaciju, možemo zaključiti da bi se genetička struktura u dvije skupine mogla razlikovati u 62% alelogena.

Značajna razlika u pogledu ispitivanih fenotipskih svojstava između oboljelih i zdravih osoba ukazuje da bi oni geni koji determiniraju svojstva s ispoljenom različitosti mogli biti biljezi za poligene uključene u regulatorne procese nastanka predispozicije ili otpornosti za MS. Također, spomenuta razlika u fenotipskom statusu između bolesnika s MS i zdravih osoba mogla bi biti posljedica i mogućnosti da oboljeli predstavljaju uzorak populacije s različitom

genetičkom strukturom ili pak da su genetička opterećenja, koja nastaju uslijed povećane opće recesivne homozigotnosti, uzrok smanjene otpornosti organizma na okolišne čimbenike koji provociraju bolest.

U bolesnika s MS ukupan broj recesivnih osobina je bio značajno veći nego u zdravih ispitanika ( $p < 0,001$ ), kao i u MS pacijenata Gorana u odnosu na kontrolne osobe iz istog područja ( $p < 0,001$ ). Također je u skupinama bolesnika uočen znatno veći minimalni i maksimalni broj homozigotno-recesivnih karakteristika. Statistički značajne razlike u opaženim i očekivanim vrijednostima recesivne homozigotnosti za sve promatrane osobine su uočene kako u skupini bolesnika s MS, tako i u kontrolnoj grupi zdravih osoba ( $p < 0,001$ ). Ovi rezultati ukazuju na značajno povećanje recesivne homozigotnosti u cijeloj populaciji što negira mogućnost da su oboljeli podrijetlom iz neke druge populacije čiji su pripadnici imali smanjenu otpornost za MS. Međutim, navedeni rezultati ne isključuju našu pretpostavku da su genetička opterećenja uzrok smanjene otpornosti bolesnika na MS, jer iako nismo dobili značajnu razliku između opaženih i očekivanih vrijednosti recesivnih homozigota samo za skupinu oboljelih osoba već i za skupinu zdravih ispitanika, ipak je opća recesivna homozigotnost bila znatno veća u skupini bolesnika s MS.

Čini se da svaka razlika u odnosu na optimalnu homozigotnost, bilo da se radi o uvećanoj ili umanjenoj vrijednosti, može dovesti do narušavanja genetičko-fiziološke homeostaze organizma. U svim dosadašnjim radovima koji su ispitali distribuciju fenotipskih svojstava u oboljelih od različitih bolesti ukazano je na postojanje razlike u genetičkoj strukturi između bolesnika i zdravih osoba. Prosječno povećanje recesivne homozigotnosti je iznosilo 43% u neuropsihijatrijskih bolesnika<sup>238</sup> i bolesnika od šećerne bolesti<sup>273</sup>, 27% u djece s alergijskim smetnjama<sup>276</sup>, 24% u osoba s urogenitalnim bolestima<sup>238</sup>, 22% u bolesnika s miotoničnom distrofijom<sup>275</sup>, 15% u žena s karcinomom uterusa<sup>238</sup>, 14% u bolesnika s endemskom nefropatijom<sup>235</sup>, te 13% u osoba s kroničnom limfocitnom leukemijom<sup>274</sup>. Svega 2% je bila povećana recesivna homozigotnost u bolesnika s alergijskom bronhijalnom astmom u odnosu na zdrave osobe, dok je nešto smanjena vrijednost nađena u žena s karcinomom dojke, ali radilo se o izuzetno malom broju ispitivanih svojstava<sup>238</sup>

Prosječna homozigotnost u uzorku bolesnika s MS iznosila je  $17,05 \pm 3,76$ , a  $13,83 \pm 3,58$  u kontrolnih ispitanika što ukazuje na povećanje recesivne homozigotnosti od 23% u oboljelih od MS. Također, izuzetno veliko povećanje recesivne homozigotnosti od 53% je

zamijećeno u MS pacijenata Gorana u odnosu na zdrave ispitanike iz Gorskog kotara. Stoga postojanje genetičkih opterećenja konstatiranih u bolesnika s MS moglo bi ukazivati da je u pitanju pogodna genetička podloga (genetic background) koja povećava vjerojatnoću nastanka bolesti. U sklopu takve genetičko-fiziološke konstitucije čini se da su pojedine osobe osjetljivije na izlaganje štetnim okolišnim čimbenicima i da češće oboljevaju od MS ili neke druge bolesti slične etiologije.

Povećanje recesivne homozigotnosti bi moglo utjecati na različite tipove adaptacije humanih organizama, od mentalnih sposobnosti i fizičkih kapaciteta, pa do fertiliteta koji se u genetici smatra glavnim parametrom adaptivne vrijednosti pojedinih osoba. S tim u svezi smo ispitivali plodnost bolesnika s MS te da li su uočena genetička opterećenja eventualno utjecala na njihovu adaptivnu vrijednost.

U našem uzorku bolesnika s MS od 215 trudnoća 127 (59%) je bilo živorođene djece, 27 (12,5%) spontanih pobačaja, 5 (2,3%) mrtvorodene djece i 56 (26%) artificijelnih pobačaja. Usporedba fertiliteta oboljelih i zdravih osoba ukazala je na značajno veći broj trudnoća ( $p=0,003$ ) te živorođene djece ( $p<0,001$ ) u kontrolnih ispitanika što je bilo i očekivano s obzirom na smanjenu reprodukciju bolesnika s MS opisanu od strane mnogih autora<sup>222,298-300</sup>. Muški bolesnici su često impotentni dok su bolesnice obično savjetovane od strane liječnika da nemaju djece s obzirom na opaženi rizik za egzacerbaciju bolesti tijekom trudnoće ili posebice u razdoblju nakon poroda<sup>298,299</sup>. Također u našoj studiji nije bio uočen povećan broj mrtvorodene djece, kao i broj spontanih i artificijelnih pobačaja u skupini oboljelih ( $p>0,05$ ), što je u skladu s rezultatima drugih autora koji nisu našli povećan gubitak potomstva u bolesnika s MS u odnosu na opću populaciju<sup>297,300</sup>.

U istraživanju Sadovnick i suradnika<sup>300</sup> od 2360 trudnoća bolesnika s MS 247 (10,47%) se završilo spontanom pobačajem, 14 (0,59%) mrtvorodeno djecom, 10 (0,42%) izvanmaterničnom trudnoćom i 129 (5,47%) artificijelnim pobačajem. Spomenuti rezultati su sukladni s procjenama gubitka potomstva u općoj populaciji koje iznose 15-20% za spontane pobačaje, 0,96% za mrtvorodenu djecu i 0,45-0,94% za izvanmaterničnu trudnoću<sup>301,302</sup>. Također, isti autori nisu uočili razliku u prosječnom broju živorođene djece bolesnika (1,79) i bolesnica (1,66) s MS dok je ukupan broj trudnoća bio značajno viši u bolesnica u odnosu na supruge muških bolesnika.

Jedina razlika prilikom ispitivanja plodnosti bolesnica i bolesnika s MS u našoj studiji se odnosila na značajno veću frekvenciju ( $p=0,044$ ) artificijelnih pobačaja u bolesnica s MS

(30,7%) u odnosu na njihov broj u supruga muških pacijenata (13,6%), što je i očekivano s obzirom na razliku u zdravstvenom stanju ispitanica u promatranim skupinama.

Također je zamijećeno da se u bolesnica s MS menarha javljala ranije (12,9 godina), bila je dužeg trajanja (6,35 dana) te je ciklus bio značajno kraći (24,17 dana) nego u zdravih žena iz kontrolne skupine ( $p < 0,05$ ). Razlika u nastupu menopauze između ispitanica u navedenim skupinama nije bila statistički značajna ( $p > 0,05$ ), iako napominjemo da broj bolesnica u menopauzi nije bio veliki ( $N=21$ ). U bolesnica Goranki ( $N=21$ ) menarha se javlja nešto ranije (11,9 godina), menstrualno krvarenje je dužeg trajanja (7,9 dana), te je ciklus kraći (22,81 dana) nego u ostalih bolesnica s MS. Navedene rezultate nismo bili u mogućnosti usporediti s rezultatima drugih autora s obzirom da nismo upoznati da je bilo tko ispitivao dob i dinamiku menstrualnog ciklusa u bolesnica s MS. Stoga smatramo da bi bila neophodna posebna studija koja bi bila usmjerena na ispitivanje hormonalnog statusa i spomenutih kategorija plodnosti u znatno većem uzorku ispitanica s MS.

Ispitivanje fertiliteta u pacijenata iz Gorskog kotara ( $N=35$ ) ukazalo je da od ukupno 88 trudnoća 46 (52,3%) je bilo živorođene djece, 1 (1,14%) mrtvorodeno dijete, 10 (11,4%) spontanih te 31 (35,2%) artificijelnih pobačaja. Međutim, niti za jednu kategoriju fertiliteta nije uočena značajna razlika između pacijenata Gorana i zdravih ispitanika iz Gorskog kotara ( $p > 0,05$ ) što se eventualno može objasniti malim brojem ispitanika u obje skupine.

Ispitivanje recesivne homozigotnosti u bolesnika s MS je ukazalo da ne postoje razlike u prosječnom broju homozigotno-recesivnih svojstava u osoba s reproduktivnim problemima u odnosu na ispitanike bez tih problema ( $p > 0,05$ ). Međutim, distribucija spomenutih osobina u ovim skupinama je ukazala da je 63,3% bolesnica s reproduktivnim problemima, a svega 45% ispitanica bez tih problema imalo 15-20 recesivnih svojstava. Zatim, 78,6% bolesnica s mrtvorodnom djecom i spontanim pobačajima i 70,6% onih koje nisu imale niti jednu trudnoću su imale 15 i više homozigotno-recesivnih karakteristika. Nadalje, 80% bolesnika čije su supruge imale problema tijekom reprodukcije imalo je 15 i više recesivnih osobina u odnosu na 62,5% aficiranih čije su supruge bile bez problema u fertilitetu. Također, 15 i više homozigotno-recesivnih svojstava imalo je 71,4% bolesnika čije supruge nisu imale niti jednu trudnoću, a u slučajevima mrtvorodnog potomstva ili spontanih pobačaja niti jedan bolesnik nije imao manje od 17 spomenutih karakteristika. Na osnovu navedenih rezultata koji pokazuju da je povećana recesivna homozigotnost (15 i više recesivnih osobina) bila zastupljenija u MS



bolesnika s reproduktivnim problemima u odnosu na ispitanike koji ih ne posjeduju, mogli bismo pretpostaviti da genetička opterećenja utječu na fertilitet bolesnika s MS.

Međutim, unatoč činjenici da dob nastupa MS varira od 10 do 59 godina ipak se prvi simptomi bolesti obično javljaju u vrijeme reproduktivnog razdoblja. Stoga smo u razmatranje mogućeg utjecaja genetičkih opterećenja na adaptivnu vrijednost bolesnika uključili i podatke o dobi nastupa bolesti. Rezultati su pokazali da su se prvi klinički simptomi MS javili znatno ranije u bolesnika s reproduktivnim problemima (20,9 godina) nego u aficiranih ispitanika koji nisu imali probleme u reprodukciji (26,7 godina). To bi moglo ukazivati da su povećana genetička opterećenja u pojedinih predisponiranih osoba za MS utjecala na raniji dob nastupa bolesti, što je rezultiralo njihovom smanjenom plodnosti u vrijeme reprodukcije. Spomenuta mogućnost nam se čini vjerojatnijom od pretpostavke da povećana recesivna homozigotnost direktno utječe na adaptivnu vrijednost bolesnika.

Posljednjih godina je značajan interes znanstvenika bio usmjeren na ispitivanje da li bolesnici s MS imaju specifične pozicije u redosljedu rođenja, s obzirom na pretpostavku da bolest, slično poliomielitisu, može biti ovisna o infekciji koja nije štetna u ranom djetinjstvu ali je patogena ako se javi u kasnijoj životnoj dobi<sup>222-230</sup>. Ukoliko bi spomenuta hipoteza bila točna očekivalo bi se da kasnije rođena djeca imaju manji rizik za MS s obzirom da su prethodno već bila izložena djelovanju infektivnog agensa preko starije braće. Međutim, ispitivanje redosljeda rođenja u različitim uzorcima bolesnika i korišćenjem različitih metodologija dovelo je do protivrječnih rezultata. Neki autori su našli značajnu frekvenciju bolesnika među kasnije rođenim članovima<sup>200,223-226</sup>, drugi su ukazali da je rizik za MS bio združen s ranim redosljedom rođenja<sup>226,228</sup>, dok treći nisu uočili značajan utjecaj redosljeda rođenja u ispitivanim uzorcima<sup>222,227</sup>.

U našoj studiji smo koristili obje poznate metode da bismo utvrdili moguću asocijaciju između redosljeda rođenja i MS. Međutim, naši rezultati nisu potvrdili združenost niti s ranim niti kasnim redosljedom rođenja bolesnika s MS. Naime, Greenwood-Yule test<sup>283</sup> je primjenjen na uzorak od 105 bolesnika s MS pri čemu nije utvrđena značajna razlika između opaženih i očekivanih frekvencija redosljeda rođenja ( $\chi^2=3,10$   $df=6$   $p>0,05$ ). Test prema Isageru i suradnicima<sup>228</sup> je korišten prilikom ispitivanja redosljeda rođenja u bolesnika Gorana i kontrolnim ispitanicima uparenim po dobi, spolu i socio-ekonomskom statusu. Rezultati su ukazali da se relativni rizik za rani redosljed rođenja nije značajno razlikovao od rizika za kasni redosljed rođenja. Također, ispitivanjem konkordantnosti parova u pogledu ranog ili

kasnog redoslijeda rođenja uočeno je da su u 5 slučajeva bolesnici imali rani, a kontrolni ispitanici kasni redoslijed rođenja, dok su u 11 parova bolesnici imali kasni, a zdrave osobe rani redoslijed rođenja, međutim Mc Nemarov test nije pokazao da je razlika bila statistički značajna ( $\chi^2=1,07$  df=1 p=0,302). Da bismo eliminirali mogućnost da je na navedene rezultate utjecala eventualna razlika u brojnosti potomstva između bolesnika i kontrolne skupine, analizirali smo distribuciju redoslijeda rođenja posebice za svaki stupanj brojnosti potomstva, ali i tada su uočene male i nesistematske razlike koje se nisu pokazale statistički značajnim ( $\chi^2=1,28$  df=2 p=0,53).

Iako navedeni rezultati ne podržavaju hipotezu o većem riziku za MS za ranije rođene članove potomstva, napominjemo da ispitivani uzorak nije bio veliki, te je korištena metodologija koja pobuđuje sve više kritika. Naime, James<sup>303</sup> je ukazao da bi spomenute metode bile zadovoljavajuće da se brojnost potomstva tijekom vremena nije mijenjala što nije bio slučaj, s obzirom da je posljednjih desetljeća u zapadnim društvima došlo do značajnog opadanja njene vrijednosti. Na taj način će preživjeli članovi u obiteljima s brojnim potomstvom, koji su selekcionirani slučajno ili zbog toga što imaju određeno svojstvo, imati tendenciju da budu među kasnije rođenom djecom. Također, prilikom ispitivanja redoslijeda rođenja bilo bi neophodno u veličinu potomstva uključiti i eventualne slučajeve polubraće ili nesrodne djece koji su živjeli u istom domaćinstvu s oboljelim osobama. Ovakav pristup je primjenjen jedino u radu Vissher i suradnika<sup>226</sup> međutim niti tada nije nađena združenost redoslijeda rođenja i MS. Navedeni rezultati, kao i rezultati Gaudet i suradnika<sup>229</sup>, koji su pokazali da su bolesnici s MS bili slučajno raspoređeni po rođenju u obiteljima s familijarnom pojavom bolesti, govore protiv ambijentalnih faktora kao glavnih čimbenika u etiopatogenezi bolesti.

Na osnovu dobivenih rezultata u ovoj studiji čini se da je MS bolest s multifaktorijalnom etiologijom u kojoj je poligenska genetička komponenta. Spomenuta opažanja nikako ne isključuju postojanje čimbenika okoliša u etiologiji MS koji mogu djelovati kao okidači bolesti u genetički predisponiranih osoba. Također, naši rezultati su sukladni s do sada utvrđenom združenosti bolesti s određenim genetičkim biljezima. Svaki alel ili haplotip za koji je nađena združenost s MS, bilo da se radi o HLA antigenima ili genetičkim biljezima istraživanim u ovom radu, može biti jedan od značajnih poligena čiji doprinos povećava genetičko opterećenje koje uvjetuje podložnost za MS. Činjenica da svi pacijenti nemaju i sve genetičke biljege za koje je utvrđena združenost s bolešću može se objasniti da je za



predispoziciju za bolest potreban dovoljan broj određenih gena u sistemu koji dovode do genetičkog opterećenja organizma. U malim populacijama kao što je Gorski kotar ovi poligeni su vjerojatno široko rasprostranjeni u populaciji što dovodi do češće obiteljske pojavnosti bolesti i do formiranja žarišta za MS.

S obzirom da je MS još uvijek bolest nepoznate etiologije bez mogućnosti uspješnog terapijskog liječenja, a da od nje oboljevaju mlađi odrasli ljudi u doba pune životne i profesionalne aktivnosti, svako novo istraživanje ove bolesti ima nesumnjiv medicinski, etički, skrbeni i socijalni značaj.

## 6. ZAKLJUČCI

Na temelju kvantitativnog i populacijsko-genetičkog istraživanja genetičke komponente u etiologiji MS iz ove disertacije se mogu izvesti sljedeći zaključci:

1. Uočena je obiteljska pojavnost MS s obzirom da je u skupini bolesnika pozitivna obiteljska anamneza nađena u 12 od 105 obitelji (11,43%), a u kontrolnoj grupi u 3 od 105 obitelji (2,86%).
2. Učestalost bolesti u srodnika bolesnika s MS opada s udaljavanjem stupnjeva srodnosti (1:76 u I, 1:225 u II i 1:441 u III srodnika) te je primjetno veća nego u srodnika zdravih osoba (1:564 u I, 1:871 u II i 1:1012 u III srodnika).
3. Vrijednosti koeficijenta heritabilnosti u prvih ( $49,1 \pm 11,5$ ), drugih ( $50,1 \pm 13,7$ ) i trećih srodnika ( $48,7 \pm 14,8$ ) se međusobno znatno ne razlikuju što govori o značaju genetičke komponente u etiologiji MS.
4. U ispitivanom uzorku je uočena nešto veća učestalost aficiranih srodnika bolesnika (13,9%) u odnosu na bolesnice s MS (10,1%).

**MS se odlikuje multifaktorijalnom etiologijom u kojoj je predispozicija za bolest poligeniski determinirana.**

5. Od 50 fenotipskih svojstava 29 osobina je ispoljavalo značajan stupanj međusobne različitosti u uzorku bolesnika s MS i zdravih ispitanika, dok su se pacijenti i kontrolni ispitanici iz Gorskog kotara razlikovali u 20 svojstava.
6. Genetička struktura bolesnika i zdravih osoba bi se mogla razlikovati u 62% alelogena, jer je procjena stupnja genetičke diferencijacije između skupine oboljelih i zdravih osoba ukazala na značajnu razliku u zastupljenosti za 31 fenotipsku osobinu.

**Geni koji determiniraju fenotipska svojstva s ispoljenom različitosti u bolesnika i zdravih osoba bi mogli biti biljezi za poligene uključene u procese nastanka predispozicije ili otpornosti za MS.**

7. Povećana recesivna homozigotnost u odnosu na očekivanu je zamijećena u cijeloj populaciji, ali je za 23% bila veća u ukupnom uzorku bolesnika s MS i za 53% veća u pacijenata iz Gorskog kotara u odnosu na ispitanike iz kontrolnih skupina.

**Genetička opterećenja koja nastaju kao posljedica povećane recesivne homozigotnosti u bolesnika mogu biti uzrokom smanjene otpornosti organizma na okolišne čimbenike koji provociraju MS.**

8. Značajno veći ukupan broj trudnoća i živorođene djece je uočen u zdravih osoba u odnosu na bolesnike s MS, dok razlike u gubitku potomstva nisu potvrđene.

9. U bolesnica s MS se menarha javljala ranije, menstrualno krvarenje je bilo dužeg trajanja, ciklus je bio kraći nego u zdravih žena, dok razlike u nastupu menopauze nisu uočene.

10. Povećana recesivna homozigotnost (15 i više homozigotno-recesivnih osobina) je bila zastupljenija u bolesnika s reproduktivnim problemima u odnosu na aficirane osobe bez reproduktivnih problema.

11. Prvi klinički simptomi bolesti javljali su se znatno ranije u bolesnika s reproduktivnim problemima (20,9 godina) nego u aficiranih ispitanika koji nisu imali problema u reprodukciji (26,7 godina).

**Povećana genetička opterećenja mogu indirektno utjecati i na adaptivnu vrijednost bolesnika uvjetujući raniji nastup bolesti što bi rezultiralo smanjenim fertilitetom oboljelih.**

12. Ne postoji združenost bolesti niti s ranijim niti s kasnijim redoslijedom rođenja, što ne podržava "ambijentalnu" teoriju u kojoj su okolišni faktori glavni čimbenici u etiologiji bolesti.

## 7. LITERATURA

1. Sepčić J. Multipla skleroza. U: Barac i sur., ur. Neurologija. Zagreb: Školska knjiga, 1989; 336-42.
2. Pantović M. Epidemiologija multiple skleroze. U: Lević i sur., ur. Multipla skleroza. Beograd: Dječje novine, 1986; 9-34.
3. Radojčić B. Bolesti nervnog sistema. Beograd: Medicinska naklada, 1986; 863-84.
4. Sepčić J. Multipla skleroza u Riječkom kraju. Epidemiološko statistička studija. Magistarski rad, Sveučilište u Rijeci, Rijeka HR, 1972; 105.
5. Materljan E. Epidemiologija multiple skleroze u Istri. Magistarski rad, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka HR, 1984; 83.
6. Sepčić J, Antonelli L, Materljan E, Šepić-Grahovac D. Multiple sclerosis cluster in Gorski kotar, Croatia, Yugoslavia. U: Battaglia MA, ur. Multiple sclerosis research. Amsterdam, NL: Elsevier Science Publishers, 1989; 165-9.
7. Materljan E, Sepčić J. Multiple sclerosis in Croatia. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach, GE: Leuchtturm-Verlag/LTV Press, 1994; 295-300.
8. Kurtzke JF. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infection. Clin Microbiol Rev 1993; 6: 382-427.
9. Lauer K. Environmental associations with the risk of multiple sclerosis: the contribution of ecological studies. Acta Neurol Scand 1995; Suppl 161:77-88.
10. Compston DAS, Kellar Wood H, Robertson N, Sawcer S, Wood NW. Genes and susceptibility to multiple sclerosis. Acta Neurol Scand 1995; Suppl 161: 43-51.
11. Poeck K. Neurologija. Zagreb: Školska knjiga, 1994.
12. Charcot JM. Histologie de la sclerose en plaque. Gaz hop (Paris) 1868; 41: 554-66.
13. Sepčić J. Klinički aspekti. U: Lević i sur., ur: Multipla skleroza. Beograd: Dječje novine, 1986; 71-85.
14. Sepčić J. Evolucija i prognoza. U: Lević i sur., ur: Multipla skleroza. Beograd: Dječje novine, 1986; 87-90.
15. Poser S, Ritter G. Multiple sclerose in Forschung, Klinik und Praxis. Stuttgart New York: Schatauer, 1980.

16. Kurtzke JF. Geography in multiple sclerosis. *J Neurol* 1977; 215: 1-26.
17. Acheson ED. Epidemiology of multiple sclerosis. *Br med Bull* 1977; 33: 9-14.
18. Davenport CB. Multiple sclerosis from the standpoint of geographic distribution and race. *Arch Neurol* 1922; 8: 51-58.
19. Hyllested K, Kurland LT. Studies in multiple sclerosis. VI. Further exploration on the geographic distribution of multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1966; Suppl. 19: 42.
20. Limberg CC. The geographic distribution of multiple sclerosis and its estimated prevalence in United States. *Procc Assoc Res Neur Dis* 1950; 28: 15-24.
21. Acheson ED, Bachrach CA, Wright FM. Some comments on the relationship of distribution of multiple sclerosis to latitude, solar radiation and other variables. *Acta Psych Scand* 1960; 35 (Suppl 147): 132-47.
22. Alter M, Kurtzke JF. The epidemiology of multiple sclerosis. Springfield, IL: Thomas, 1968.
23. Field EJ, Bell TM, Carnegie PR,ur. Multiple sclerosis-progress in research. Amsterdam: North-Holland Publishing Co, 1972.
24. Kranz JS, Kurland LT. General overview of the epidemiology of multiple sclerosis with emphasis on the geographic pattern and long-term trends. U: Kuroiwa Y, Kurland LT, ur. Multiple Sclerosis. East and West Fukuoka: Kyushu University Press, 1982; 3-29.
25. Martyn C. The epidemiology of multiple sclerosis. U: Matthews WB, ur. Mc Alpine's Multile Sclerosis. Edinburg: Churchill Livingstone, 1991; 3-40.
26. Poskanzer DC, Prenney LB, Sheridan JL, Kondy JY. Multiple Sclerosis in the Orkney and Shetland Islands I. Epidemiology, clinical factors, and methodology. *J Epid Comm Health* 1980; 34: 229-39.
27. Phadke JG, Downie AW. Epidemiology of multiple sclerosis in the north-east (Grampian region) of Scotland-an update. *J Epid Comm Health* 1987; 41: 5-13.
28. Swingler RJ, Compston DAS. The distribution of multiple sclerosis in the United Kingdom. *J Neurol Neurosur Psych* 1986; 49: 1115-24.
29. Hennesy A, Swingler RJ, Compston DAS. The incidence and mortality of multiple sclerosis in south east Wales. *J Neurol Neurosur Osych* 1989; 52: 1085-9.
30. Mc Coubrie M, Shuttlewort D. Prevalence of multiple sclerosis in west Yorkshire. *Brit Med J* 1978; 2: 570.

31. Larsen JP, Aarli JA, Nyland H, Riise T. Western Norway, a high risk area for multiple sclerosis: a prevalence and incidence study in the country of Hordaland. *Neurology* 1984; 34: 1202-7.
32. Gronning M, Mellgran SI. Multiple sclerosis in the northern most countries of Norway. *Acta Neurol Scand* 1983; 72: 321-7.
33. Kinnunen E, Wikstrom J, Porras J, Palo J. The epidemiology of multiple sclerosis in Finland: increase of prevalence and stability of foci in high risk area. *Acta Neurol Scand* 1983; 67: 255-62.
34. Lauer K, Firnhaber W, Reining R, Leuchtweis B. Epidemiological investigations into multiple sclerosis in southern Hesse. I. Methodological problems and basic epidemiologic characteristics. *Acta Neurol Scand* 1984; 70: 257-67.
35. Bauer HI. Multiple sclerosis in Europe. *J Neurol* 1987; 234: 195-206.
36. Boiko A, Deomina, T, Favorova O, Gusev E, Sudomoina M, Turetskaya R. Epidemiology of multiple sclerosis in Russia and other countries of the former Soviet Union: investigations of enviromental and genetic factors. *Acta Neurol Scand* 1995: Suppl.161:71-6.
37. Savettieri G, Daricello B, Giordano D, Karhausen L, Dean G. The prevalence of multiple sclerosis in Sicily I. Monreale city. *J Epidemiol Community Health* 1981; 35: 114-7.
38. Granieri E, Rosati G, Tola MR et al. The frequency of multiple sclerosis in Mediterranean Europe. An incidence and prevalence study in Barbagia, Sardinia, insular Italy. *Acta Neurol Scand* 1983; 68: 84-9.
39. Rosati G, Aiello I, Pirastru MI et al. Sardinia. A high-risk area for multiple sclerosis. A prevalence and incidence study in the district of Alghero. *Ann Neurol* 1987; 21: 190-4.
40. Rosati G. Epidemiologia della sclerosi multipla. U: Rosati G, Granieri E, ur. *Manuale di Neuroepidemiologia Clinica*. Roma: La Nuova Italia Scientifica, 1990; 143-82.
41. Granieri E, Casetta I, Tola MR et al. Multiple sclerosis: does epidemiology contribute to providing etiological clues? *J Neurol Sci* 1993; Suppl. 115: 16-23.
42. Granieri E, Malagu S, Tola MR et al. The frequency of multiple sclerosis in the province of Ferrara, northern Italy: a prevalence and incidence study. *Multiple Sclerosis Medical Satellite Symposium, I.F.M.S.S., Budapest (Hungary), 1994; 39: 17-19 September.*
43. Konkan-Vracko. Epidemiological investigations of multiple sclerosis in Slovenia. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. *Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update*. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 294.



44. Materljan E. Gorski kotar, Hrvatska, područje visokog rizika za multiplu sklerozu. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka HR, 1994.
45. Pantović M, Lević Z, Pavičević M, Sepčić J. Epidemiological data on multiple sclerosis in Yugoslavia. U: Battaglia MA, ed. International MS Conference, Scientific Meeting. An update on multiple sclerosis. Rome: IFMSS, 1988; IV: 39.
46. Uria DF, Abad P, Virgala P, Calatayud MP. Prevalence and incidence of multiple sclerosis in Gijon (Northern Spain). U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 179-83.
47. Fernandez O, Bufill E. Prevalence of multiple sclerosis in Spain; validation of an epidemiological protocol in two geographically separated areas. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 184-9.
48. Milonas I. Epidemiological data of multiple sclerosis in Northern Greece. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 332-3.
49. Vassilopoulos. Epidemiological data for multiple sclerosis in Greece. Neuroepidemiology 1984; 3: 52-6.
50. Kruja J. Multiple sclerosis in Albania. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 309-15.
51. Ljapčev R, Daskalovska V. Epidemiological studies of multiple sclerosis in the Republic of Macedonia. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 301-8.
52. Georgiev D, Milanov L, Tzonev V, Kalafatova O. The epidemiology of multiple sclerosis in Sofia, Bulgaria. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 322-5.
53. Trendafilova L, Manova M, Hadipetrova K. Multiple sclerosis in the Plovdiv area, Bulgaria. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 326-31.
54. Georgiev D, Milanov L. Epidemiological survey of multiple sclerosis in Bulgaria. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 316-21.

55. Granieri E, Casetta I, Tola MR. Epidemiology of multiple sclerosis in Italy and in southern Europe. *Acta Neurol Scand* 1995; Suppl. 161: 60-70.
56. Ljumanović R, Ledinski N. Klinička studija multiple skleroze s osvrtom na neuralgiju trigeminalnog živca. *An. Bol. "Dr M. Stojanović"*, 1969; 8: 117-23.
57. Kurtzke JF, Boi-Quos-Houng. Multiple sclerosis in a migrant population. *Europ Neurol* 1974; 12: 1-2.
58. Compston DAS. Genetic susceptibility to multiple sclerosis. U: Matthews WB, ur. *Mc Alpine's Multiple Sclerosis*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1991; 301-19.
59. Alter M, Halpern L, Kurland LT, Bornstein B, Tikva P, Leibowitz U, Silberstein J. Multiple sclerosis in Israel. *Arch Neurol (Chic)* 1962; 7: 253-63.
60. Alter M, Leibowitz U, Speer J. Risk of multiple sclerosis related to age at immigration to Israel. *Arch Neurol* 1966; 15: 234-7.
61. Alter M, Leibowitz U, Halpern L. Multiple sclerosis in European and Afro-asian population of Israel. A clinical appraisal. *Acta Neurol Scand* 1966; 42: 47-54.
62. Kahana E, Zilber N, Abramson JH, Biton V, Leibowitz Y, Abramsky O. Multiple sclerosis: genetic versus environmental etiology epidemiology in Israel updated. *J Neurol* 1994; 214: 341-6.
63. Dean G, Kurtzke JF. On the risk of multiple sclerosis according to age at immigration to South Africa. *Brit Med J* 1971; 3: 725-9.
64. Ellian M, Nightingale S, Dean G. Multiple sclerosis among United-Kingdom-born children of immigrants from Indian subcontinent, Africa and the West Indies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53: 906-11.
65. Dean G. Multiple sclerosis among immigrants. *Brit Med J* 1976; 2: 42.
64. Kurtzke JF. Multiple sclerosis in immigrants. *Brit Med J* 1976; 1: 1527-8.
65. Alter M, Kahana E, Loewenson R. Migration and risk of multiple sclerosis. *Neurology* 1978; 28: 1089-93.
66. Detels R, Vissher BR, Haile RW, Malmgren RM, Dudley JP, Coulson AH. Multiple sclerosis and age at migratio. *Am J Epidem* 1978; 108: 386-93.
67. Vissher BA, Bunnell DH, Detels R. Multiple sclerosis and multiple moves: an etiologic hypothesis. *Am J Epidem* 1981; 113: 140-3.

68. Riise T, Gronning M, Klauber MR, Barrett-Connor E, Nyland H, Albrektsen G. Clustering of residence of multiple sclerosis patients at age 13 to 20 years in Hordaland, Norway. *Am J Epidemiol* 1991; 133: 932-9.
69. Kurtzke JF, Bui QH. Multiple sclerosis in a migrant population. II. Half-orientals immigrating in childhood. *Ann Neurol* 1980; 8: 256-60.
70. Miller DH, Hammond SR, McLeod GJ, Purdie G, Skegg DCG. Multiple sclerosis in Australia and New Zealand: are the determinants genetic or environmental? *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1990; 53: 903-5.
71. Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Parts 1 and 2. *Acta Neurol Scand* 1975; 51: 110-57.
72. Compston DAS. The dissemination of multiple sclerosis. *J Roy Coll Phys London* 1990; 24: 207-18.
73. Compston DAS, Ebers GC. The genetics of multiple sclerosis. U: Cook SD, ur. *Handbook of neurology*. New York: Decker, 1990; 25-39.
74. Dean G. Annual incidence, prevalence and mortality of MS in white South African-born and in white immigrants to South Africa. *Br Med J* 1967; 2: 724-30.
75. Dean G, Bhigjee AIG, Bill PLA et al. Multiple sclerosis in black South Africans and Zimbabweans. *J Neurol Neurosurg Psych* 1994; 57: 1964-9.
76. Yu YL, Woo E, Hawkins BR. Multiple sclerosis among Chinese in Hong Kong. *Brain* 1989; 112: 1445-67.
77. Hung TP, Landsborough D, Shi MS. Multiple sclerosis amongst Chinese in Taiwan. *J Neurol Sci* 1976; 27: 459-84.
78. Kuroiwa Y, Shibasaki H, Ikeda M. Prevalence of multiple sclerosis and its north-to-south gradient in Japan. *Neuroepidem* 1983; 2: 62-9.
79. Kurdi A, Ayesh I, Abdallat A. Different B lymphocyte alloantigens associated with multiple sclerosis in Arabs and North Europeans. *Lancet* 1977; 1: 1123-5.
80. Hamdi T. Multiple sclerosis in Iraq. A clinical and geomedical survey. *J Postgrad Med* 1975; 21: 1-9.
81. Al-Din ASN. Multiple sclerosis in Kuwait, clinical and epidemiological study. *J Neurol Neurosurg Psych* 1986; 49: 928-31.
82. Hammond SR, McLeod JG, Millingen KS et al. The epidemiology of multiple sclerosis in 3 Australian cities: Perth, Newcastle and Hobart. *Brain* 1988; 111: 1-25.

83. Skegg DCG, Corwin PA, Craven RS, Malloch JA, Pollock M. Occurrence of multiple sclerosis at the north and south of New Zealand. *J Neurol Neurosurg Psych* 1987; 50: 134-9.
84. Palffy GY. Multiple sclerosis in Hungary including the gypsy population. U: Kuroiwa Y, Kurland LT, ur. *Multiple sclerosis east and west*. Basel: Karger, 1982; 149-57.
85. Hader WJ. Prevalence of multiple sclerosis in Saskatoon. *Can Med J* 1982; 127: 295-7.
86. Robertson NP, Compston DAS. Surveying multiple sclerosis in the United Kingdom. *J Neurol Neurosurg Psych* 1995; 58/1: 2-6.
87. Rosati G. Descriptive epidemiology of multiple sclerosis in Europe in the 1980s. A critical review. *Ann Neurol* 1994; 36(S2): S164-S174.
88. Poser CM. The dissemination of multiple sclerosis: a Viking saga? A historical essay. *Ann Neurol* 1994; 36(S2): S231-S243.
89. Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH. Multiple sclerosis: updated risk for relatives. *Am J Med Genet* 1988; 29: 533-41.
90. Weinshenker B, Bulman D, Carriere W, et al. A comparison of sporadic and familial multiple sclerosis. *Neurology* 1990; 40: 1354-8.
91. Sweeney VP, Sadovnick AD, Brandeys V. Prevalence of multiple sclerosis in British Columbia. *Can J Neurol Sci* 1986; 13: 47-51.
92. Mackay RP, Myriantopoulos NC. Multiple sclerosis in twins and their relatives. Final report. *Arch Neurol Psych* 1966; 15: 449-62.
93. Williams A, Eldridge R, McFarland H et al. Multiple sclerosis in twins. *Neurology* 1980; 30: 1139-47.
94. McFarland HF. Twin studies and multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1992; 32: 722-3.
95. Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GPA et al. A population-based study of multiple sclerosis in twins. Update. *Ann Neurol* 1993; 33: 281-5.
96. Mumford CJ, Wood NW, Kellar-Wood HE, Thorpe J, Miller D, Compston DAS. The British Isles survey of multiple sclerosis in twins. *Neurology* 1994; 44: 11-5.
97. Ebers GC, Bulman DE, Sadovnick AD et al. A population based study of multiple sclerosis in twins. *New Eng J Med* 1986; 315: 1638-42.
98. Kinnunen E, Juntunen J, Ketonen L et al. Genetic susceptibility to multiple sclerosis: a co-twin study of a nation wide series. *Arch Neurol* 1988; 45: 1108-11.
99. Heltberg A, Holm NV. Concordance in twins and recurrence in sibships in multiple sclerosis. *Lancet* 1982; 1: 1068.



100. French Research Group on Multiple Sclerosis: Multiple Sclerosis in 54 twinships: concordance rate is independent of zygosity. *Ann Neurol* 1992; 32: 724-7.
101. Sadovnick AD. Familial recurrence risks and inheritance of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1993; 6: 189-94.
102. Schapira K, Poskanzer DC, Millar H. Familial and conjugal multiple sclerosis. *Brain* 1963; 86: 315-32.
103. Frederikson S, Michelsberg J, Hillert J, Wang Z, Sun JB, Olerup O, Olsson T, Link H. Conjugal multiple sclerosis: Immunogenetic characterization and analysis of T- and B-cells reactivity to myelin proteins. *Neurology* 1992; 42: 577-82.
104. Finelli PF. Conjugal multiple sclerosis: A clinical and laboratory study. *Neurology* 1991; 41: 1320-1.
105. Kaufman MD. Conjugal multiple sclerosis. *Neurology* 1992; 42: 1644-5.
106. Oksenberg JR, Begovich AB, Erlich HA, Steinman L. Genetic factors in multiple sclerosis. *JAMA* 1993; 270: 2362-9.
107. Haegert DG, Marrosu MG. Genetic susceptibility to multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1994; 36(S2): S204-S210.
108. Tienari PJ. Multiple sclerosis: multiple etiologies, multiple genes? *Ann Med* 1994; 26: 259-69.
109. Olerup O, Hillert J. HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue Antigens* 1991; 38: 1-15.
110. Spurkland A, Ronningen K, Vandvik B et al. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 genes may jointly determine susceptibility to develop multiple sclerosis. *Human Immunology* 1990; 30: 69-75.
111. Hillert J, Olerup O. Multiple sclerosis is associated with genes within or close to the HLA-DR-DQ sub-region on a normal DR15 DQ6, DW2 haplotype. *Neurology* 1993; 43: 163-8.
112. Haegert D, Francis GS. HLA-DQ polymorphisms do not explain HLA class II associations with multiple sclerosis in two Canadian patient groups. *Neurology* 1993; 43: 1207-10.
113. Batchelor JR, Compston DAS, McDonald WI. The significance of the association between HLA and multiple sclerosis. *Br Med Bull* 1978; 34: 279-84.
114. Kurdi A, Abdallat A, Ayesb I et al. Different B lymphocyte alloantigens associated with multiple sclerosis in Arabs and Northern Europeans. *Lancet* 1977; I: 1123-5.

115. Marrosu MG, Muntoni F, Murru ME et al. HLA-DQB1 genotype in Sardinian multiple sclerosis: evidence for a key role of DQB1.0201 and DQB1.0302 alleles. *Neurology* 1992; 42: 883-6.
116. Strenja-Linić I. Antigeni HLA sustava i multipla skleroza u Gorskom kotaru, Hrvatska. Magistarski rad, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka HR, 1994.
117. Kellar Wood H, Wood NW, Holmans P, Clayton D, Robertson N, Compston DAS. Multiple sclerosis and the HLA-D region; linkage and association studies. *J Neuroimmunol* 1995; 58/2: 183-90.
118. Zipp F, Weber F, Huber S et al. Genetic control of multiple sclerosis: increased production of lymphotoxin and tumor necrosis factor- $\alpha$  by HLA-DR2+ T cells. *Ann Neurol* 1995; 38: 723-30.
119. Martell M, Marcadet A, Strominger J et al. T cell receptor alpha genes might be involved in multiple sclerosis genetic susceptibility. *CR Acad Sci* 1987; 304: 105-10.
120. Oksenberg JR, Sherritt M, Begovich AB et al. T cell receptor V alpha and C alpha alleles associated with multiple sclerosis and myasthenia gravis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 988-92.
121. Hillert J, Leng C, Olerup O. T-cell receptor alpha-chain gene germline polymorphisms in multiple sclerosis. *Neurology* 1992; 42: 80-4.
122. Eoli M, Wood NW, Kellar-Wood HF et al. No linkage between multiple sclerosis and the T cell receptor alpha chain locus. *J Neurol Sci* 1994; 124: 32-7.
123. Hashimoto LL, Mak T, Ebers GC. T-cell receptor alpha-chain polymorphisms in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1992; 40: 41-8.
124. Lynch SG, Rose JW, Petagan JH et al. Discordance of the T-cell receptor alpha-chain gene in familial multiple sclerosis. *Neurology* 1992; 42: 839-44.
125. Fugger L, Sandberg-Wollheim M, Morling N, Ryder LP, Svejgaard A. The germline repertoire of T-cell receptor beta chain genes in patients with relapsing remitting multiple sclerosis or optic neuritis. *Immunogenetics* 1990; 31: 278-80.
126. Hillert J, Leng C, Olerup O. No association with germline T cell receptor beta chain alleles or haplotypes in Swedish patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1991; 31: 141-7.



127. Vandevyver C, Buyse I, Philippaerts L, Ghabanbasani Z, Medaer R, Carton H, Cassiman JJ, Raus J. HLA and T-cell receptor polymorphisms in Belgian multiple sclerosis patients: no evidence for disease association with the T-cell receptor. *J Neuroimmunol* 1994; 52: 25-32.
128. Seboun E, Robinson MA, Doolittle TH et al. A susceptibility locus for multiple sclerosis is linked to the T cell receptor beta chain complex. *Cell* 1989; 57: 1095-100.
129. Wood NW, Kellar-Wood HF, Holmans P, Clayton D, Robertson N, Compston DAS. The T-cell receptor beta locus and susceptibility to multiple sclerosis. *Neurology* 1995; 45/10: 1859-63.
130. Cox DW, Marković VD, Teshima IE. Genes for immunoglobulin heavy chains and for alpha-antitrypsin are localised to specific regions of chromosome 14q. *Nature* 1982; 297: 428-30.
131. Yu JS, Pandey JP, Massacesi L et al. Segregation of immunoglobulin heavy chain constant region genes in multiple sclerosis sibling pairs. *J Neuroimmunol* 1993; 42: 113-6.
132. Hillert J. Immunoglobulin gamma constant gene region polymorphisms in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1993; 43: 9-14.
133. Haile RWC, Goldstein A, Degos JD, Marazita A. A linkage analysis of the Gm locus and multiple sclerosis. *Genet Epidemiol* 1985; 2: 29-34.
134. Walter MA, Gibson WT, Ebers GC, Cox DW. Susceptibility to multiple sclerosis is associated with the proximal immunoglobulin heavy chain variable region. *J Clin Invest* 1991; 87: 1266-73.
135. Hashimoto LL, Walter MA, Cox DW, Ebers GC. Immunoglobulin heavy chain variable region polymorphism and multiple sclerosis susceptibility. *J Neuroimmunol* 1993; 44: 77-84.
136. Wood NW, Sawcer S, Kellar Wood HF, Holmans P et al. A susceptibility gene for multiple sclerosis linked to the immunoglobulin heavy chain variable region. *J Neurol* 1995 (in press).
137. Kamholz J, Spielman R, Gogolin K et al. The human myelin basic protein gene: chromosomal localization and RFLP analysis. *Am J Hum Genet* 1987; 40: 365-73.
138. Kamholz J, Toffenetti J, Lazzarini RA. Organization and expression of the human myelin basic protein gene. *J Neurosci Res* 1988; 21: 62-70.
139. Deber CM, Reynolds SJ. Central nervous system myelin: structure, function, and pathology. *Clin Biochem* 1991; 24: 113-34.

140. Wucherpfennig KW, Weiner HL, Hafler DA. T-cell recognition of myelin basic protein. *Immunol Today* 1991; 12: 277-82.
141. Oksenberg JR, Panzara MA, Begovich AB et al. Selection for T-cell receptor V $\beta$ -D $\beta$ -J $\beta$  gene rearrangements with specificity for a myelin basic protein peptide in brain lesions of multiple sclerosis. *Nature* 1993; 362: 68-70.
142. Kristensson K, Holmes KV, Duchala CS et al. Increased levels of myelin basic protein transcripts in virus-induced demyelination. *Nature* 1986; 322: 544-7.
143. Jordan CA, Friedrich Jr VL, De Ferra F et al. Differential exon expression in myelin basic protein transcripts during central nervous system (CNS) remyelination. *Cell Mol Neurobiol* 1990; 10: 3-18.
144. Boylan KB, Takahashi N, Paty DW et al. DNA length polymorphism 5' to the myelin basic protein gene is associated with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1990; 27: 291-7.
145. Tienari PJ, Wikstrom J, Sajantila A, Palo J, Peltonen L. Genetic susceptibility to multiple sclerosis linked to myelin basic protein gene. *Lancet* 1992; 340: 987-91.
146. Rose J, Gerken S, Lynch S et al. Genetic susceptibility in familial multiple sclerosis not linked to the myelin basic protein gene. *Lancet* 1993; 340: 987-91.
147. Wood NW, Holmans P, Clayton D, Robertson N, Compston DAS. No linkage or association between multiple sclerosis and the myelin basic protein gene in affected sibling pairs. *J Neurol Neurosurg Psych* 1994; 57: 1191-4.
148. Graham C, Kirk C, Nevin N et al. Lack of association between myelin basic protein gene microsatellite and multiple sclerosis. *Lancet* 1993; 324: 1596.
149. Cernacek J, Varsik P, Uihazyiova D, Traubner P. The relation of geographical and meteorological factors to the occurrence of multiple sclerosis in Czechoslovakia. *Acta Neurol Scand* 1971; 47: 227-32.
150. Norman JE, Kurtzke JF, Beebe GW. Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans. 2. Latitude, climate, and the risk of multiple sclerosis. *J Chron Dis* 1983; 36: 551-9.
151. Lauer K. A factor-analytical study of multiple sclerosis mortality in Hesse and Baden-Wuerttemberg, Germany. *J Publ Health (Weinheim)* 1993; 1: 319-27.
152. Lauer K. Epidemiologische Charakteristika der Multiplen Sclerose in Sudhessen. *Inform Biometrie Epidemiol Med Biol (Stuttgart)* 1994; 25: 84-92.
153. Lević Z, Pavičević M, Pantović M et al. Epidemiology of multiple sclerosis in Montenegro. Symposium "Actual aspects of multiple sclerosis", Igalo, Yugoslavia, 1989.

154. Mutlu A. The effect of geographical and meteorological factors on the incidence of multiple sclerosis in Turkey. *Acta Neurol Scand* 1960; 35 (Suppl. 147): 47-54.
155. Beebe GW, Kurtzke JF, Kurland JT, Auth TL, Nagler B. Studies on the natural history of multiple sclerosis. 3. Epidemiologic analysis of the army experience in World War II. *Neurology* 1967; 17: 1-17.
156. Morariu M, Alter M, Harshe M. Multiple sclerosis in Transilvania. A zone of transition in frequency. *Neurology* 1974; 24: 673-9.
157. Pantović M, Lević Z. Epidemiological study of multiple sclerosis in the area of Kragujevac and a review of other epidemiological research of MS in Yugoslavia. U: Pedersen E, Clausen J, Oades L, ur. Actual problems in multiple sclerosis research. Copenhagen: FADL, 1983; 224-6.
158. Lauer K. Multiple sclerosis in relation to geographic factors in France. *Neuroepidemiology* 1990; 9: 113-7.
159. Barlow J. Correlation of the geographic distribution of multiple sclerosis with cosmic ray intensities. *Acta Neurol Scand* 1960; 35 (Suppl. 147): 108-30.
160. Resch J. Relation in space and time between the frequency of multiple sclerosis and geophysical factors. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 159-65.
161. Kreienbrock L, Poffijn A, Tirmarche M, Kayser P, Darby S, Wichmann HE. Radon and lung cancer in the Ardennes and Eifel region-Concepts and experiences of an international epidemiological study. *Med Inform Biometr Epidemiol (Munich)* 1993; 76: 19-23.
162. Tjzhkorob AM, Masjuk WA, Yarosh AA. Rasprostranjenje rassejanogo skleroza w USSR. *Vrachebnoe Delo (Kiev)* 1987; 9: 115-7.
163. Lauer K. The risk of multiple sclerosis in the USA in relation to sociogeographic features: a factor-analytical study. *J Clin Epidemiol* 1994; 47: 43-8.
164. Sepčić J, Ledić P. Sinteza epidemioloških istraživanja multiple skleroze u riječkom kraju. *Neurologija. Zbornik radova VI Kongresa neurologa i psihijatara Jugoslavije*, Sarajevo, 1980: 148-50.
165. Layton W, Aust M, Sutherland JM. Geochemistry and multiple sclerosis: a hypothesis. *Med J Austr* 1975; 1: 73-7.
166. Warren HV, Delavault RE, Cross CH. Possible correlations between geology and some disease patterns. *ANN NY Acad Sci* 1967; 136: 659-710.

167. Irvine DG, Schipper HB, Hader WJ. Geotoxicology of multiple sclerosis: the Henriborough, Saskatchewan, cluster focus. I. The water. *Sci Tot Env* 1989; 84: 45-59.
168. Lauer K, Firnhaber W. Descriptive and analytical epidemiological data on multiple sclerosis from a long-term study in Southern Hesse, Germany. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 147-58.
169. Hyllested K. Disseminated sclerosis in Denmark. Copenhagen: Rosenkilde & Bakker, 1956.
170. Lauer K. Multiple sclerosis in the Old World: the new old map. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 14-27.
171. Petrescu A. Epidemiology of multiple sclerosis in Romania. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 287-93.
172. Jedlicka P, Benes B, Hron B et al. Epidemiology of MS in the Czech Republic. U: Firnhaber W, Lauer K, ur. Multiple sclerosis in Europe. An epidemiological update. Alsbach Belgstrasse: Leuchtturm Verlag/LTV Press, 1994; 261-5.
173. Goettlich K. Moor- und Torfkunde. Stuttgart: E. Schweizerbart, 1980.
174. Sarkanen KV, Ludwig CH. Lignins. Occurrence, formation, structure and reactions. New York: Wiley, 1971.
175. Palfy G. MS in Hungary. U: Battaglia MA, Crimi G, ur. An update on multiple sclerosis. Bologna: Monduzzi, 1989; 293-7.
176. Lauer K. Risk of multiple sclerosis in relation to industrial activities: an ecological study in four European countries. *Neuroepidemiology* 1989; 8: 38-42.
177. Sepčić J. Benigni oblici multiple skleroze u riječkom kraju. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka HR, 1978.
178. Amaducci L, Arfaioli C, Inzitari D, Marchi M. Multiple sclerosis among the shoe and leather workers: an epidemiological survey in Florence. *Acta Neurol Scand* 1982; 65: 94-103.
179. Guiliani G, Brizioli E, Angeleri VA, Caraffa G, Faschi N, Speranzini C. The organic glue solvents in the pathogenesis of multiple sclerosis: an epidemiological study. U: Battaglia MA, Crimi G, ur. An update on multiple sclerosis. Bologna: Monduzzi, 1989; 243-7.



180. Landtblom AM, Flodin U, Karlsson M, Paalhagen S, Axelson O, Soderfeldt B. Multiple sclerosis and exposure to solvents, ionizing radiation and animals. *Scand J Work Env Health* 1993; 19: 399-404.
181. Gronning M, Albrektsen G, Kvale G, Moen B, Aatli JA, Nyland H. Organic solvents and multiple sclerosis: a case-control study. *Acta Neurol Scand* 1993; 88: 247-50.
182. Poser CM. The pathogenesis of multiple sclerosis: a critical reappraisal. *Acta Neuropathol* 1986; 71: 1-10.
183. Sheperd DI. Increased risk of multiple sclerosis among nurses and doctors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991; 54: 848.
184. Dean G, Gray R. Do nurses or doctors have an increased risk of developing multiple sclerosis? *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1990; 53: 899-902.
185. Lauer K. Sociogeographic factors and multiple sclerosis. An ecological study in 6 European countries. *Neuroepidemiology* 1988; 7: 122-129.
186. Swank R, Lerstad O, Strom A, Backer J. Multiple sclerosis in rural Norway: Its geographic and occupational incidence in relation to nutrition. *New Eng J Med* 1952; 246: 721-8.
187. Alter M, Yamoor M, Harshe M. Multiple sclerosis and nutrition. *Arch Neurol* 1974; 31: 267-72.
188. Knox EG. Foods and diseases. *Br J Prev Soc Med* 1977; 31: 71-80.
189. Agranoff BWA, Goldberg D. Diet and the geographical distribution of multiple sclerosis. *Lancet* 1974; 2: 1061-6.
190. Dean G. Diet and geographical distribution of multiple sclerosis. *Lancet* 1974; I: 445.
191. Twomey J. Diet and multiple sclerosis. *Lancet* 1974; II: 1204.
192. Lauer K. Dietary changes in temporal relation to multiple sclerosis in the Faroe Islands. An evaluation of literary sources. *Neuroepidemiology* 1989; 8: 200-6.
193. Lauer K. Multiple sclerosis in relation to meat preservation in France and Switzerland. *Neuroepidemiology* 1989; 8: 308-15.
194. Lauer K. The food pattern in geographical relation to the risk of multiple sclerosis in the Mediterranean and Near East region. *J Epidemiol Comm Health* 1991; 45: 251-2.
195. Sepčić J, Mesaroš E, Materljan E, Šepić-Grahovac D. Nutritional factors and multiple sclerosis in Gorski kotar, Croatia. *Neuroepidemiology* 1993; 12: 234-40.

196. Cook SD, Rohowsky-Kochan C, Bansil S, Dowling PC. Evidence for multiple sclerosis as an infectious disease. *Acta Neurol Scand* 1995; Suppl. 161: 34-42.
197. Alvord EC, Ulrike J, Fischer EH et al. The multiple causes of multiple sclerosis: the importance of infections in childhood. *J Child Neurol* 1987; 2: 313-21.
198. Haile R, Smith P, Read D et al. A study of measles virus and canine distemper antibodies and of childhood infections in multiple sclerosis patients and controls. *J Neurol Sci* 1982; 56: 1-10.
199. Sullivan CB, Visscher BR, Detels R. Multiple sclerosis and age of exposure to childhood diseases and animals: Cases and their friends. *Neurology* 1984; 34: 1144-8.
200. Poskanzer DC, Sheridan JL, Prenny LB et al. Multiple sclerosis in the Orkney and Shetland Islands. II. The search for an exogenous aetiology. *J Epidemiol Community Health* 1980; 34: 240-52.
201. Gronning M, Riise T, Kvale G et al. Infections in childhood and adolescence in multiple sclerosis. *Neuroepidemiology* 1993; 12: 61-9.
202. Alter M, Zhen-Win Z, Davanipour Z et al. Multiple sclerosis and childhood infections. *Neurology* 1986; 36: 1386-9.
203. Operskalski EA, Visscher BR, Malmgren R, Detels R. A case-control study of multiple sclerosis. *Neurology* 1989; 39: 825-9.
204. Kurtzke JF, Gudmundsson KRI, Bergmann S. Multiple sclerosis in Iceland. I. Evidence of a post-war epidemic. *Neurology* 1981; 32: 143-50.
205. Pryse-Phillips WEM. The incidence of multiple sclerosis in Newfoundland and Labrador, 1960-1984. *Ann Neurol* 1986; 20: 323-8.
206. Cook SD, Dowling PC. Distemper and multiple sclerosis in Sitka, Alaska. *Ann Neurol* 1981; 11: 192-4.
207. Cook SD, Cromarty JJ, Tapp W et al. Declining incidence of multiple sclerosis in the Orkney Islands. *Neurology* 1985; 35: 545-51.
208. Johnson RT. The virology of demyelinating diseases. *Ann Neurol* 1994; 36: 554-60.
209. Dowling PC, Cook SD, Whitaker JN. Cold agglutinin-positive Guillain-Barre' syndrome. *Trans Am Neurol Assoc* 1970; 95: 234-5.
210. Adams JM, Imagawa DT. Measles antibodies in multiple sclerosis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 3: 562-6.
211. Norrby E. Viral antibodies in multiple sclerosis. *Prog Med Virol* 1978; 24: 1-39.



212. Bansil S, Troiano R, Dowling PC, Cook SD. Measles vaccination does not prevent multiple sclerosis. *Neuroepidemiology* 1990; 9: 248-54.
213. Salmi A, Zoila B, Hovi T, Reunanen M. Antibodies to coronaviruses OC43 and 229E in multiple sclerosis patients. *Neurology (NY)* 1982; 32: 292-5.
214. Stewart JN, Mounir S, Talbot PJ. Human coronavirus gene expression in the brains of multiple sclerosis patients. *Virology* 1992; 191: 502-5.
215. Larsen PD, Bloomer LC, Bray PF. Epstein-Barr nuclear antigen antibody titers in multiple sclerosis. *Neurology* 1985; 35: 435-8.
216. Bray PF, Culp KW, McFarlin DE, Panitch HS, Torkelson RD, Schlight JP. Demyelinating disease after neurologically complicated primary Epstein-Barr virus infection. *Neurology* 1992; 42: 278-82.
217. Cook SD, Dowling PC. Multiple sclerosis and viruses: an overview. *Neurology* 1980; 30/2: 80-91.
218. Rice GPA. Virus-induced demyelination in man: models for multiple sclerosis. *Current opinion in neurology and neurosurgery* 1992; 5: 188-94.
219. Allen I, Brankin B. Pathogenesis of multiple sclerosis-the immune diathesis and the role of viruses. *J Neuropathol* 1993; 52: 95-105.
220. Boos J, Kim JH. Evidence for a viral etiology of multiple sclerosis. U: *Handbook of multiple sclerosis*. New York: Marcel Dekker, 1990.
221. Whitaker JN, Kingsbury DW. Viruses and the pathogenesis of multiple sclerosis. *Trends Neurosci* 1984; 7: 57-60.
222. Koch-Henriksen N. An epidemiological study of multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1989; 80 (Suppl. 124): 1-123.
223. Alperowich A, Le Canuet P, Marteau R. Birth order and risk of multiple sclerosis: Are they associated and how? *Acta Neurol Scand* 1981; 63: 136-8.
224. Pratt RTC. The familial occurrence of disseminated sclerosis. *Annals of Eugenics* 1951; 16: 45-59.
225. Cendrowski WS. Birth order and multiple sclerosis subjects. *Psychiatria et Neurologia Basel* 1966; 151: 161-7.
226. Visscher BR, Liu KS, Sullivan CB, Valdiviezo NL, Detels R. Birth order and multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1982; 66: 209-15.

227. Cripps J, Rudd A, Ebers GC. Birth order and multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1982; 66: 342-6.
228. Isager H, Andersen E, Hyllested K. Risk of multiple sclerosis inversly associated with birth order position. *Acta Neurol Scand* 1980; 61: 393-6.
229. Gaudet JPC, Hashimoto L, Sadovnick AD, Ebers GC. A study of birth order and multiple sclerosis in multiplex families. *Neuroepidemiology* 1995; 14: 188-92.
230. Roberts DF, Roberts MJ, Johnston AW. Genetic epidemiology od Down's syndrome in Shetland. *Hum Genet* 1991; 87: 57-60.
231. Roberts DF, Roberts MJ, Poskanzer DC. Genetic analysis of multiple sclerosis in Shetland. *J Epidemiol Community Health* 1983; 37: 281-85.
232. Jorde LB, Fineman RM, Martin RA. Epidemiology and genetics of neural tube defects. *Am J Phys Anthropol* 1983; 62: 23-31.
233. Bear JC, Richler A. Ocular refraction and inbreeding. *J Biosoc Sci* 1981; 13: 391-99.
234. Berberović LJ, Popović N, Hadžiselimović R, Boro J. Raspodela nekih grupno specifičnih svojstava u uzorku oboljelih od mišićne distrofije. *Akademija nauka i umjetnosti BIH* 1984; 22: 21-7.
235. Blagojević J, Marinković D, Radovanović Z. Populaciono-genetička istraživanja endemske nefropatije u okolini Loznice. *Genetika* 1989; 21/3: 83-94.
236. Clarke CA, Wyn Edwards J, Haddock DRW et al. ABO blood groups and secretor character in duodenal ulcerpopulation and sibship studies. *Brit Med J* 1956; 15: 70-6.
237. Tiška-Rudman LJ. Onkološke bolesti i krvne grupe. *Libri Oncologici* 1977; I: 13-22.
238. Marinković D, Jovanović D, Cvjetičanin S, Savić M, Branković S. Genetic homozygosity and normal vs. pathological human variation. *Genetika* 1994; 26/3: 147-56.
239. Gillin J. Varietes in modern man. U: Korn N, Reece SH. *Human evolution*. New York: Henry Comp Inc, 1959; 366-387.
240. Černý M. *Lekarska genetika*. Praha: Statni zdravotnicke nakladatelstvi, 1967.
241. Mc Kusick VA. *Mendelian inheritance in man*, 6th ed. Baltimore: The Johns Hopkins University press, 1983.
242. Štefančić M. Barvi las in kombinacija barve las in oči pri otrocih iz Ljubljane. *Glasnik ADJ* 1984; 21: 83-9.
243. Novosel V. Boja očiju, boja kose i forma kose u uzorcima učenika na području Crne Gore. *Glasnik ADJ* 1985; 22: 97-103.

245. Czekus G. Boja očiju, boja kose i oblik kose u jednom subotičkom uzorku. *Glasnik ADJ* 1989; 26: 97-109.
246. Chattopadhyay PK. A note on the ear lobe attachment among the Jats and Ahirs. *Acta Genet Statist Med* 1968; 18/3: 277.
247. Messeri E. Variabilità morfologica del lobulo auricolare in Sardegna. *Atti Soc Peloritana, Sc Fis Mat* 1967; 13(1/2): 89.
248. Hadžiselimović R, Berberović LJ, Sofradžija A. Populacijska genetika viđenja crvenog i zelenog dijela spektra u stanovništvu Bosne i Hercegovine. *God Biol inst* 1980; 33: 87-97.
249. Danforth CD. Distribution of hair on the digits in man. *Am J Phys Antrop* 1921; 4: 189-204.
250. Bernstein MM, Burks BS. The incidence and mendelian transmission of mid-digital hair in man. *J Hered* 1942; 33: 45-53.
251. Bernstein MM. The middigital hair genes, their inheritance and distribution among the white race. *J Hered* 1949; 40: 127-31.
252. Sergent E.: cit. po Vlahović P, Boev P. Index digitalis u Jugoslaviji. *Glasnik ADJ* 1969; 6: 25-37.
253. Phelps R. Relative index finger length as a sex-influenced trait in man. *Am J Genet* 1952; 4: 72-89.
254. Vlahović P, Boev P. Index digitalis u Jugoslaviji. *Glasnik ADJ* 1969; 6: 25-37.
255. Tomazo Ravnik T. Digitalni indeks pri ljubljanskih osnovnošolcih. *Glasnik ADJ* 1984; 21: 55-9.
256. Glass B, Kistler JC. Distal hyperextensibility of the thumbs. *Acta Genet Statist Med* 1952; 4: 192-206.
257. Hadžiselimović R, Berberović LJ. Genetička udaljenost bosanskohercegovačkih lokalnih populacija s obzirom na kvalitativnu varijaciju nekih osobina šake. *Glasnik ADJ* 1981; 18: 81-90.
258. Hadžiselimović R, Berberović LJ, Sofradžija A. Populacijska genetika sposobnosti savijanja jezika u žlijeb u stanovništvu Bosne i Hercegovine. *Glasnik ADJ* 1980; 17: 87-95.
259. Hadžiselimović R, Mršić K, Rončević R. Genetičke osobenosti nekih jugoslovenskih lokalnih ljudskih populacija s obzirom na kompleks od tri kvalitativna svojstva jezika. *God Biol inst* 1984; 37: 37-43.

260. Grunwald P, Pfeifer S. Ispitivanje okusne osjetljivosti za gorko feniltiokarbamidom (PTC test). *Liječ Vjesn* 1962; 84/1: 27-30.
261. Hadžiselimović R, Novosel V, Bukvić S, Vrbić N. Distribucija praga nadražaja za ukus feniltiokarbamida (PTC) u tri uzorka stanovništva Jugoslavije. *God Biol inst* 1982; 35: 71-80.
262. Ristić S, Hadžiselimović R, Marinković D. Population-genetic analysis of some phenotypic systems of qualitative variation in the population of Rijeka. *Genetika* 1992; 24/2: 101-7.
263. Annett M. A model of inheritance of handedness and cerebral dominance. *Nature* 1964; 204: 59-60.
264. Wiener AS. Observations on the manner of clasping the hands and folding the arms. *Am Nat* 1932; 66: 365-70.
265. Freire-Maia N, Quelce Saldago A, Freire-Maia A. Hand clasping in different ethnic groups. *Hum Biol* 1958; 30: 281-91.
266. Freire-Maia A, De Almeida J. Hand clasping and arm folding among African Negroes. *Hum Biol* 1966; 38/3: 175-9.
267. Leguebe A. Hand clasping: etude anthropologique et genetique. *Bull Soc Roy Anthropol Prehist* 1967; 78: 81-107.
268. Leguebe A, Martinez-Fuentes A. Etude genetique du mode de croisement des bras. *Acta Genet Med Gemellol* 1971; 20: 267-83.
269. Sarna J, Siniarska A, Wokroj A. Hand clasping, arm and leg folding in populations of Poland and other countries. *Coll Anthropol* 1980; 4/1: 37-43.
270. Hadžiselimović R, Berberović LJ, Sofradžija A. Distribucija fenotipova načina sklapanja šaka i prekrštanja ruku u stanovništvu BIH. *God Biol inst* 1979; 32: 101-16.
271. Marinković D, Spremo LJ, Ilić M. Studies of human population-genetic variation. I. *Arch Biol Sci* 1990; 42 (3-4): 11.
272. Marinković D, Cvjetičanin S. Studies of human population-genetic variation. II. *Arch Biol Sci* 1991; 43 (1-2): 5.
273. Marjanović M, Marinković D, Marković S. Population-genetic study of diabetes mellitus. *Genetika* 1992; 24/2: 81.
274. Marković-Denić LJ. Epidemiološke studije kronične limfatične leukemije. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 1991.

275. Ristić S. Populaciono-genetičke analize miotonične distrofije u Istri. Magistarski rad, Biološki fakultet PMF, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 1991.
276. Tomić V. Genetičko-epidemiološke studije alergijske bronhijalne astme. Magistarski rad, Biološki fakultet PMF, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 1993.
277. Poser CM, Paty DW, Mc Donald WI, Scheinberg L, Ebers GC, ur. The diagnosis of multiple sclerosis. New York: Thieme-Stratton Inc; 1984.
278. Falconer DS. The inheritance of liability to certain diseases, estimated from the incidence among relatives. *Ann Hum Genet* 1965; 29: 51-76.
279. Ishihara S. Tests for colour blindness. Tokyo: Kanehara Shuppan Co, 1973.
280. Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 1965; 9: 395.
281. Čukuranović R, Marinković D, Strahinjić S, Stefanović V. Population-genetic analysis of balkan endemic nephropathy. *Genetika*; 21/2:171-8.
282. Kalezić M. Alozimska polimorfnost i razmatranje genetičke udaljenosti nekih populacija u rodu *Triturus*, Rafinesque 1815. Magistarski rad, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 1977:26-41.
283. Greenwood M, Yule GU. On the determination of size of family and of the distribution of characters in order of birth from samples taken through members of the sibships. *Roy Stat Soc J* 1914; 77: 179-97.
284. Poser CM. Multiple sclerosis. Observation and reflections-a personal memoir. *J Neurol Sci* 1992; 107: 127-40.
285. Detels R. Case-control studies of multiple sclerosis. *Neuroepidemiology* 1982; 115-23.
286. Curtius F, Speer H. Multiple Sklerose und Erbanlage. Leipzig: Thieme, 1933.
287. Pratt RTC, Compston ND, McAlpine D. The familial incidence of disseminated sclerosis and its significance. *Brain* 1951; 74: 191-232.
288. Allison RS, Millar JDH. Prevalence and familial incidence of disseminated sclerosis. *Ulster Med J* 1954; Suppl.2:23.
289. Sutherland JM. Observations on the prevalence of multiple sclerosis in Northern Scotland. *Brain* 1956; 79: 635-54.
290. Mackay RP, Myrianthopoulos NC. Multiple sclerosis in twins and their relatives-final report. *Arch Neurol* 1966; 15: 449-62.



291. Roberts DF, Roberts MJ, Poskanzer DC. Genetic analysis of multiple sclerosis in Orkney. *J Epidemiol Commun Health* 1983; 37: 281-5.
292. Sadovnick AD, Macleod MJ. The familial nature of multiple sclerosis-empiric recurrence risks for first, second, and third relatives of patients. *Neurology* 1981; 31: 1039-41.
293. Roberts DF, Bates D. The genetic contribution to multiple sclerosis. Evidence from North-East England. *J Neurol Sci* 1982; 54: 287-93.
294. Falconer DS. The inheritance of liability to disease with variable age of onset, with particular reference to diabetes mellitus. *Ann of Hum Genet* 1967; 31: 1-20.
295. Emery AEH. *Elements of medical genetics*, sixth ed. Edinburgh London Melbourne New York: Churchill Livingstone, 1983.
296. Gottesman II, Shields J. In pursuit of the schizophrenic genotype. U: Vanderberg SG., ur. *Progress in human behaviour genetics*. Baltimore, Johns Hopkins, 1968: 67-103.
297. Sadovnick DA. Genetic epidemiology of multiple sclerosis: a survey. *Ann Neurol* 1994; 36(S2): S194-S20.
298. Szasz G, Paty D, Maurice WL. Sexual dysfunction in multiple sclerosis. *Ann NY Acad Sci* 1984; 436: 443-52.
299. Matthews WB. *Clinical aspects*. U: Matthews WB, Acheson ED, Batchelor JR, Weller RO, ur. *Mc Alpine's multiple sclerosis*. New York: Churchill Livingstone, 1985.
300. Sadovnick DA, Bulman D, Ebers GC. Parent-child concordance in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1991; 29: 252-5.
301. Rubin GL, Peterson HB, Dorfman SF et al. Ectopic pregnancy in the United States: 1970 through 1978. *JAMA* 1983; 249: 1725-9.
302. Poland BJ, Miller JR, Harris M, Livingston J. Spontaneous abortion. A study of 1961 women and their conceptuses. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1981: 102.
303. James W H. Multiple sclerosis and birth order. *J Epidemiol Community Health* 1984; 38: 21-2.



## ŽIVOTOPIS

Rođena sam 23.listopada 1958. u Zemunu. Osnovnu školu i gimnaziju završila sam u Beogradu gdje sam školske godine 1977/78. upisala biologiju na Prirodno-matematičkom fakultetu. Nakon diplomiranja i stjecanja stručnog naziva diplomirani biolog, školske godine 1985/86.upisala sam poslijediplomski studij iz genetike na istom fakultetu. Magistrirala sam 12.siječnja 1991.godine na temu:"Populaciono-genetičke analize miotonične distrofije u Istri" i stekla stručni naziv magistra bioloških znanosti.

Na Zavodu za biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci radim od veljače 1987. godine, a u siječnju 1992. godine izabrana sam za suradnika u nastavi u znanstveno-nastavnom zvanju asistent za predmet biologija. U spomenutom razdoblju aktivno sam učestvovala na većem broju znanstvenih kongresa i stručno se usavršavala pohađajući kurseve iz područja molekularne i humane genetike. Tako sam 1987. godine u Trstu sudjelovala u dvotjednom radu škole iz molekularne genetike pod naslovom "Replicazione e riparo del DNA in eucarioti". Iz područja humane genetike usavršavala sam se kroz školu "Recent advances in human genetics", Inter-University centre u Dubrovniku 1990. godine; na "4th Course on Human Genetics" International School of Medical Genetics u Trstu 1991.godine te "Muscular dystrophy research' 93" International School of Neurological Sciences u Veneciji 1993. godine.

Do 1991.godine bila sam uključena u rad na istraživačkom zadatku Kromosomske aberacije kao mogući uzrok smanjene reproduktivne sposobnosti i njihova prenatalna dijagnostika u okviru projekta br.1.8.6. tadašnjeg SIZ-a znanosti Republike Hrvatske, kao i na zadatku Toksično djelovanje teških metala na embrionalni razvoj i odrasle eksperimentalne životinje u okviru projekta br.1.8.2.

Tijekom 1993. godine boravila sam tri mjeseca kao stipendist Alpe Adria u laboratoriju za molekularnu genetiku Instituta "Oasi Maria", Troina, Sicilija gdje sam radila na molekularnoj dijagnostici fragilnog-X sindroma.

Od 1.02.1994. do 1.02.1995. kao stipendist Univerzitetskog konzorcija u Udinama radila sam kao istraživač u laboratoriju za molekularnu genetiku Neurološkog Instituta Sveučilišta u Udinama na projektu Korelacija između fenotipa i genotipa kod pacijenata oboljelih od miotonične distrofije tipa Steinert.

Član sam Hrvatskog biološkog društva i Sekcije za humanu genetiku Hrvatske, a u Registru znanstvenih djelatnika vodim se pod brojem 142283.