



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

«Ο ρόλος τασεοευαίσθητων διαύλων νατρίου στην
εξατομικευμένη θεραπεία Σύνθετων Εστιακών
Επιληπτικών Κρίσεων»

Διπλωματική Εργασία

Όνομα: Κόκκιου Ελένη

A.M: 160222

Αθήνα 2018

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Δρακούλης Νικόλαος, Επίκουρος Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Επιβλέπων)
2. Παπαπειτρόπουλος Ανδρέας, Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
3. Ανδρεάδου Ιωάννα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο της Ερευνητικής Ομάδας Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής, στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος «Σχεδιασμός και Ανάπτυξη Νέων Φαρμακευτικών Ενώσεων – Κατεύθυνση Φαρμακολογία» του Τμήματος Φαρμακευτικής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο Καθηγητή της Ερευνητικής Ομάδας Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής, Επίκουρο Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Νικόλαο Δρακούλη για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στη συγκεκριμένη ομάδα, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αλλά και την καθοδήγηση του.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα υπόλοιπα μέλη της ομάδας καθώς και την μεταδιδακτορική ερευνήτρια Μάρθα-Σπυριδούλα Κατσαρού για την υπομονή και τη συνεργασία τους. Ιδιαίτερα όμως θέλω να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Μαρία Λάγιου, τόσο για την εκπαίδευση μου μέσα στο εργαστήριο όσο και για τη συμπαράσταση της, σε επιστημονικό αλλά και σε προσωπικό επίπεδο καθ'όλη τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας, για τις συμβουλές της αλλά και την πολύτιμη βοήθεια της.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ανθρώπους που πίστεψαν σε μένα και με στήριξαν, που δεν είναι άλλοι από τους γονείς μου, Βασιλική και Κωνσταντίνο, τον αδερφό μου Δημήτρη αλλά και τους αγαπημένους μου φίλους.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT.....	7
Γενικό Μέρος	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1 Ιστορική Αναδρομή	9
1.2 Ορισμός Επιληψίας και Επιληπτικών Κρίσεων	12
1.3 Ταξινόμηση Επιληπτικών Κρίσεων και Επιληπτικών Συνδρόμων	13
1.4 Επιδημιολογία της Επιληψίας	18
1.5 Βασικοί Μηχανισμοί Επιληψίας	21
1.5.1 Ηλεκτρικά δυναμικά νευρικών κυττάρων	22
1.5.2 Συνάψεις Νευρικού συστήματος	24
1.5.2.1 Ο ρόλος των νευροδιαβιβαστών	27
1.5.2.1α Γλουταμικό Οξύ (Glutamate)	27
1.5.2.1β Γ-αμινοβουτυρικό Οξύ (GABA)	28
1.5.3 Παθοφυσιολογία των επιληπτικών νευρώνων	29
1.6 Αιτιολογία της επιληψίας.....	31
1.6.1 Γενετικοί παράγοντες.....	31
1.6.2 Επίκτητοι παράγοντες	33
1.6.2.1 Εγκεφαλικοί Όγκοι.....	34
1.6.2.2 Εγκεφαλικές κακώσεις	34
1.6.2.3 Μολυσματικοί παράγοντες	35
1.6.2.4 Σκλήρυνση ιππόκαμπου.....	36
1.6.2.5 Άλλοι αιτιολογικοί παράγοντες.....	41
1.7 Αντιμετώπιση της επιληψίας.....	42
1.7.1 Αντιεπιληπτικά φάρμακα.....	46
1.7.1.1 Μηχανισμοί δράσης αντιεπιληπτικών φαρμάκων	48
1.7.1.1α Αναστολείς Διαύλων Νατρίου.....	48
1.7.1.1β Αναστολείς Διαύλων Ασβεστίου	49
1.7.1.1γ Αγωνιστές των GABA υποδοχέων	49
1.7.1.1δ Ανταγωνιστές υποδοχέων του γλουταμικού οξέος	50
1.7.1.1ε Άλλοι μηχανισμοί δράσης	51
1.7.2 Ανεπιθύμητες ενέργειες αντιεπιληπτικών φαρμάκων.....	51
1.8 Φαρμακογονιδιοματική	53
1.8.1 Γενετικοί Πολυμορφισμοί στην Επιληψία	54
1.8.2 Γονίδιο SCN1A	55
1.8.2.1 Ο πολυμορφισμός rs2298771 του γονιδίου SCN1A.....	58
1.8.2.2 Ο πολυμορφισμός rs3812718 του γονιδίου SCN1A.....	59
1.8.2.3 Ο πολυμορφισμός rs10188577 του γονιδίου SCN1A	60
Ειδικό Μέρος.....	61
1.9 Σκοπός της Μελέτης	62

2. Υλικά και Μέθοδοι	63
2.1 Δείγματα Ασθενών	63
2.1.1 Κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού ασθενών	64
2.1.2 Δημογραφικά στοιχεία ασθενών	65
2.2 Μέθοδοι	68
2.2.1 Λήψη δείγματος και επεξεργασία	68
2.2.2 Απομόνωση DNA	69
2.2.2.1 Πρωτοκόλλο	70
2.2.3 Φωτομέτρηση Δειγμάτων	71
2.2.3.1 Πρωτόκολλο φασματοφωτομέτρησης των δειγμάτων	72
2.2.4 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)	73
2.2.4.1 Real-Time PCR	75
2.2.4.1a Διαδικασία Real-time PCR με LightSNIP (SimpleProbe® Melting Curve Analysis)	76
2.2.5 Στατιστική Ανάλυση	79
3. Αποτελέσματα	80
3.1 Κατανομή συχνοτήτων για τον πολυμορφισμό rs2298771	80
3.1.1 Κατανομή αλληλομόρφων	80
3.1.2 Κατανομή Γονοτύπων	81
3.2 Κατανομή συχνοτήτων για τον πολυμορφισμό rs3812718	82
3.2.1 Κατανομή αλληλομόρφων	82
3.2.2 Κατανομή γονοτύπων	83
3.3 Κατανομή συχνοτήτων για τον πολυμορφισμό rs10188577	84
3.3.1 Κατανομή αλληλομόρφων	84
3.3.2 Κατανομή γονοτύπων	85
3.4 Κατανομή συχνότητας συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771, rs3812718 και rs10188577	86
3.5 Συσχέτιση πολυμορφισμών στο δείγμα ασθενών με την απόκριση στη θεραπεία	88
3.6 Κατανομή συχνοτήτων για τους πολυμορφισμούς rs2298771, rs3812718, rs10188577 στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό	90
3.6.1 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs2298771	90
3.6.2 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs3812718	92
3.6.3 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs10188577	93
3.7 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771, rs3812718 και rs10188577 με την εμφάνιση της επιληψίας	95
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	98
Βιβλιογραφία	102
Παράρτημα	110

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η επιληψία αποτελεί την 4^η πιο συχνή νευρολογική διαταραχή παγκοσμίως. Συχνά δεν υπάρχει αναγνωρίσιμη αιτία αν και μπορεί να αναπτυχθεί μετά από εγκεφαλική κάκωση, λοίμωξη, ανάπτυξη όγκου ή άλλα είδη νευρολογικών νόσων. Η ασθένεια χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενους παροξυσμούς με αιφνίδια, υπέρμετρη και ανώμαλη εκφόρτιση εγκεφαλικών νευρώνων (επιληπτικές κρίσεις). Το σημείο της πρωτογενούς εκφόρτισης και η έκταση της εξάπλωσης της καθορίζουν τα συμπτώματα, τα οποία ποικίλλουν από μια σύντομη διάλειψη της προσοχής έως μια πλήρως εξελισσόμενη κρίση σπασμών, η οποία μπορεί να διαρκέσει έως και μερικά λεπτά.

Σήμερα, υπάρχουν περισσότερα από 20 αντιεπιληπτικά σκευάσματα στο εμπόριο. Τα φάρμακα αυτά στοχεύουν στη καταστολή ή στη μείωση της συχνότητας των κρίσεων μέσω της επαναφοράς της φυσιολογικής νευρωνικής δραστηριότητας. Παρόλα αυτά 30-40% των ασθενών δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία, παρουσιάζοντας αντίσταση σε αυτά.

Πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες – στόχους έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη αυτής της αντίστασης. Η Φαρμακογενετική προσπαθεί να συσχετίσει γονιδιακούς πολυμορφισμούς με την απόκριση ενός πληθυσμού ασθενών στη φαρμακοθεραπεία τόσο σε θέματα που έχουν να κάνουν με την αποτελεσματικότητα όσο και με την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών.

Το γονίδιο *SCN1A*, βρίσκεται στη θέση 2q24.3 του χρωμοσώματος 2 και κωδικοποιεί την α-υπομονάδα των τασεοευαίσθητων διαύλων νατρίου NaV1.1. Οι τασεοευαίσθητοι δίαυλοι νατρίου παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή και μεταγωγή ηλεκτρικών σημάτων και κατ' επέκταση στη διεγερσιμότητα των κυττάρων. Έως σήμερα, έχουν περιγραφεί περισσότεροι από 1000 πολυμορφισμοί στο γονίδιο *SCN1A* και έχουν συσχετιστεί τόσο με την ανάπτυξη της νόσου όσο και με απόκριση στη θεραπεία.

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η εύρεση συχέτισης μεταξύ των πολυμορφισμών rs2298771, rs3812718 και rs10188577 του γονιδίου *SCN1A* με την εμφάνιση της νόσου αλλά και την απόκριση στη φαρμακοθεραπεία.

ABSTRACT

Epilepsy is the 4th most common neurological disorder worldwide. Although, in most cases, the cause of epilepsy remains unknown, it can also, be a result of brain injury, infections, brain tumors or other neurological disorders. Epilepsy is characterized by spontaneous recurrent seizures due to abnormal excessive and synchronous neuronal activity in the brain (epileptic seizures). The impact of epilepsy is multifaceted and its effects vary. Typically, an epileptic seizure last from few seconds up to few minutes.

There are more than 20 anti-epileptic drugs (AEDs) available on the market. Treatment with AEDs is used to suppress seizures or to reduce their frequency, through restoration of normal brain activity. However, approximately, 30-40% of epileptic patients fail to respond to current medications, thus, these patients are characterized as drug-resistant.

The mechanism of drug resistance has not been elucidated. However, genetic polymorphisms in genes, which encode molecular targets of anti-epileptic drugs, may be a contributing factor. Pharmacogenetics studies the inherited genetic variation, which can affect responses to drugs, both in terms of therapeutic effect as well as adverse effects.

SCN1A gene is located on Chromosome 2 (2q24.3) and encodes the α -subunit of voltage-gated sodium channels NaV1.1 in the brain. Voltage-gated sodium channels are responsible for action potential initiation and propagation, thus the excitability of cells. Until now, in gene *SCN1A* more than 1000 genetic polymorphisms have been described and associated with susceptibility to epilepsy and drug response.

The purpose of this study is to investigate the correlation of 3 polymorphisms in *SCN1A* gene, rs2298771, rs3812718 and rs10188577, with the susceptibility to epilepsy and drug response to anti-epileptic drugs which act as blockers of voltage-gated sodium channels.

Γενικό Μέρος

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορική Αναδρομή

Η ιστορία της επιληψίας είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ιστορία της ανθρωπότητας καθώς είναι μια από τις ελάχιστες ασθένειες στην ιστορία της ιατρικής για την οποία υπάρχουν αναφορές ήδη από το 2000 π.Χ. Στο πέρασμα του χρόνου έχει βρεθεί πλήθος εγγράφων και φιλοσοφικών κειμένων που περιγράφουν την ασθένεια αυτή σε διάφορους πολιτισμούς.^[39]

Το πρώτο έγγραφο, στο οποίο περιγράφεται η επιληψία, χρονολογείται το 2500 π.Χ. και εντοπίζεται στην περιοχή της Μεσοποταμίας, ενώ η πρώτη περιγραφή της Εστιακής επιληψίας γίνεται το 1700 π.Χ. στην Αρχαία Αίγυπτο. Περίπου το 1050 π.Χ. εντοπίζεται το ιατρικό κείμενο Sakikku στη Βαβυλωνία με την πρώτη κατηγοριοποίηση των επιληπτικών κρίσεων ενώ ακολουθούν παρόμοιες αναφορές στην Ινδία και την Αρχαία Κίνα.^[46]

Στα χρονικά αυτά πλαίσια, η επιληψία είναι έντονα συνδεδεμένη με τις θρησκευτικές πεποιθήσεις κάθε πολιτισμού στις οποίες κοινός παρονομαστής είναι η θεώρηση της ασθένειας ως τιμωρία των θεών σε όσους έχουν αμαρτήσει, για το λόγο αυτό συχνά αναφέρεται ως «ιερά νόσος».^[46]

Στην Αρχαία Ελλάδα, ο Ιπποκράτης (460-390π.Χ.) με το έργο του έθεσε τα θεμέλια για την κατανόηση της επιληψίας και προσπάθησε να απαλλάξει την ασθένεια αυτή από την θεϊκή της υπόσταση και να της προσδώσει μια άλλη επιστημονική, περιγράφοντας την. Προς αυτή την κατεύθυνση συνέβαλε και ο Αριστοτέλης.^[46]

Ωστόσο, κατά τον Μεσαίωνα και μέχρι τον 16^ο αιώνα η ασθένεια αυτή εξακολούθησε να ερμηνεύεται υπό το πρίσμα του δογματισμού και του μυστικισμού διαστρεβλώνοντας τις ιατρικές απόψεις της Ελληνικής Περιόδου. Οι επιληπτικοί ασθενείς μέχρι τότε χαρακτηρίζονταν ως «κυριευμένοι» ή ακόμη και ως «μάγοι», ενώ οι θεραπείες που χρησιμοποιούνταν σε αυτές τις περιπτώσεις είχαν έντονο θρησκευτικό

χαρακτήρα λ.χ. εξορκισμός, προσευχή και κοινωνική περιθωριοποίηση.^[46]

Μετά τον 16^ο αιώνα, σταδιακά η κοινή γνώμη απαλλάχθηκε από τέτοιου τύπου αντιλήψεις ώσπου τον 18^ο αιώνα όλο και περισσότεροι επιστήμονες περιγράφουν την επιληψία ως μια ιδιοπαθή ασθένεια που εντοπίζεται στον εγκέφαλο και όχι ως μια ασθένεια προερχόμενη από τους Θεούς. Ο *Samuel August Tissot* (1728-1797) και ο *William Cullen* (1710-1790) συνέβαλαν σημαντικά στην περαιτέρω κατανόηση της επιληψίας αφού περιέγραψαν με μεγάλη ακρίβεια διάφορους τύπους επιληπτικών κρίσεων. Ο μεν Tissot περιέγραψε κρίσεις όπως *grand mal*, *petite mal* αλλά και επιληπτικά σύνδρομα ενώ ο δε Cullen περιέγραψε τις σύνθετες επιληπτικές κρίσεις.^[46]

Κατά τον 19^ο αιώνα, η κοινωνία έχει αποδεχτεί τους επιληπτικούς ασθενείς ως τυπικούς ασθενείς και φυσιολογικά μέλη της. Επιπλέον, η έρευνα στράφηκε περισσότερο προς την αποσαφήνιση και περιγραφή της παθοφυσιολογίας της ασθένειας αλλά και την τοπογραφική χαρτογράφηση των επιληπτικών κρίσεων. Πληθώρα εργασιών δημοσιεύτηκαν σχετικά με την αιτιολογία και την ταξινόμηση της επιληψίας με σημαντικότερη εκείνη του Άγγλου νευρολόγου *John Hughlings Jackson* (1835–1911). Ο John Hughlings Jackson θεωρείται ο πατέρας της σύγχρονης νευρολογίας και επιλησιολογίας καθώς μέσω της έρευνας του, έδωσε πρώτος έναν ορισμό αναφέροντας ότι η επιληψία χαρακτηρίζεται από ξαφνικές, τυχαίες, γρήγορες, υπέρμετρες εστιακές εκφορτίσεις στη φαιά ουσία.^[39, 46]

Σημαντικό σημείο στον 19^ο αιώνα είναι η συσχέτιση της ηλεκτρικής δραστηριότητας με τη λειτουργία του εγκεφάλου και τελικά τη χρήση του ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος (EEG). Πρώτοι οι *Gustav Fritsch* (1838-1927) και *Edvard Hitzig* (1838-1907) άνοιξαν το δρόμο για τη χρήση ηλεκτρικών ερεθισμάτων δημιουργώντας στον εγκέφαλο σκύλων επιληπτικές κρίσεις, ενώ στη συνέχεια ακολούθησαν πολλοί ερευνητές οι οποίοι προσπάθησαν να καταγράψουν την ηλεκτρική δραστηριότητα του εγκεφάλου πειραματόζων.

Τον 20^ο αιώνα, οι *Pavel Yurevich Kaufman* (1877-1951) and *Vladimir Vladimirovich Pravdich-Neminsky* (1879-1952) παρατήρησαν τις ηλεκτρικές αλλαγές που συμβαίνουν στον εγκέφαλο κατά τη διάρκεια τεχνητών επιληπτικών κρίσεων που οι ίδιοι προκαλούσαν πειραματικά σε πειραματόζωα και ήταν οι πρώτοι που συσχέτισαν τις επιληπτικές κρίσεις με αυτές τις ανώμαλες ηλεκτρικές εκφορτίσεις που παρατηρούνται μέσω EEG.^[39, 46]

Το 1924 ο Γερμανός ψυχίατρος *Hans Berger* (1873-1941) εισάγει τον όρο «εγκεφαλογράφημα» καθώς καταφέρνει να αποδείξει μέσω καταγραφής τις νευρικές ηλεκτρικές ώσεις του ανθρώπινου, πλέον, εγκεφάλου και μάλιστα εγκαθίδρυσε ένα καλό σύστημα καταγραφής των ηλεκτρικών κυμάτων με το γαλβανόμετρο. Σπουδαίος επιστήμονας που συνέβαλλε στην έρευνα του EEG και γενικά στον κλάδο της επιλησιολογίας, ήταν ο *Henri Jean Pascal Gustaut* (1915-1995). Ο *Gustaut* προσδιόρισε πέντε βασικά παρατηρούμενα μοτίβα στο εγκεφαλογράφημα, μελέτησε και περιέγραψε δυο επιληπτικά σύνδρομα, τα οποία έχουν και το όνομα του: *Gustaut Syndrome*, ένα είδος φωτοευαίσθητης επιληψίας και *Lennox-Gustaut*, μια σοβαρή παιδική εγκεφαλοπάθεια καθώς επίσης, μελέτησε άλλες αυτό-επαγόμενες και αιφνίδιες επιληπτικές κρίσεις, το σύνδρομο ημισπασμωδικής – ημιπληγικής επιληψίας και την καλοήγη παιδική εστιακή επιληψία. Επιπλέον, στις αρχές του 20^{ου} αιώνα ιδρύονται επιστημονικοί οργανισμοί όπως η Διεθνής Επιτροπή Κατά της Επιληψίας (*International League Against Epilepsy-ILAE*) και η Αμερικάνικη Κοινωνία της Επιληψίας (*American Epilepsy Society*).^[39, 46]

Τέλος, με την εφεύρεση νέων απεικονιστικών μεθόδων όπως η αξονική τομογραφία (*Computed Tomography*), η μαγνητική τομογραφία (*Magnetic Resonance Imaging*) και η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (*Positron Emission Tomography*) η διάγνωση των επιλησιών βελτιώνεται σημαντικά.^[39, 46]

1.2 Ορισμός Επιληψίας και Επιληπτικών Κρίσεων

Ο όρος επιληψία προέρχεται από το αρχαίο ρήμα «επιλαμβάνω» που σημαίνει καταλαμβάνω, προσβάλλω, επιτίθεμαι. Μεταξύ άλλων η λέξη αυτή είχε και τη σημασία της ασθένειας που επιτίθεται στον οργανισμό.^[2]

Η απόδοση ορισμών για τους όρους “επιληψία” και “επιληπτική κρίση” γίνεται από εγκεκριμένες επιστημονικές επιτροπές και είναι καθολικώς αποδεκτοί από την επιστημονική κοινότητα. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή εμφανίζει δυσκολίες καθώς με την πάροδο των χρόνων η επιστημονική γνώση και τεχνολογία εξελίσσεται συνεχώς.^[29]

Σύμφωνα με τη Διεθνή Οργάνωση κατά της Επιληψίας (ILAE) το 2005 ως «επιληψία» ορίστηκε η διαταραχή του εγκεφάλου, η οποία χαρακτηρίζεται από μακροχρόνια προδιάθεση εμφάνισης επιληπτικών κρίσεων και από τις νευρολογικές, νοητικές, ψυχολογικές και κοινωνικές επιπτώσεις που εμφανίζονται λόγω αυτής. Για τον ορισμό της επιληψίας απαιτείται η ύπαρξη μιας τουλάχιστον επιληπτικής κρίσης. Επομένως, η επιληψία αποτελεί μια ετερογενή νοσολογική οντότητα η οποία χαρακτηρίζεται από επιληπτικές κρίσεις.^[29]

Ως «επιληπτική κρίση», ορίστηκε από την ILAE το 2005, η κατάσταση κατά την οποία εμφανίζονται ένα ή περισσότερα συμπτώματα παροδικού χαρακτήρα, τα οποία οφείλονται σε μη φυσιολογική, παροξυσμική και συγχρονισμένη νευρωνική δραστηριότητα λόγω ηλεκτροεγκεφαλογραφικών διαταραχών. Τα συμπτώματα αυτά έχουν ξεκάθαρη αρχή και τέλος και μπορούν να επιβεβαιωθούν είτε με παρατήρηση είτε με ηλεκτροεγκεφαλογράφημα. Ανάλογα με την εστία έναρξης της κρίσης, τα συμπτώματα που εμφανίζονται μπορεί να επηρεάζουν την αισθητική, την κινητική λειτουργία καθώς και τη λειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Επιπλέον, ενδέχεται να επηρεάζεται το επίπεδο συνείδησης, η συναισθηματική κατάσταση, η μνήμη, η αντίληψη και η συμπεριφορά. Σε κάθε επιληπτική κρίση δεν επηρεάζονται όλοι αυτοί οι παράγοντες αλλά επηρεάζεται τουλάχιστον ένας.^[29]

Το 2014, η Διεθνής Οργάνωση Κατά της Επιληψίας δημοσίευσε έναν νέο ορισμό για τους δύο αυτούς όρους καθώς δημιουργήθηκε η ανάγκη για αναθεώρηση τους προς μια πιο κλινική και πρακτική κατεύθυνση. Σύμφωνα με την νέα οδηγία, η επιληψία χαρακτηρίζεται από τα παρακάτω:^[30]

- ❖ Τουλάχιστον δυο απρόκλητες (ή αντανακλαστικές) κρίσεις οι οποίες συμβαίνουν μεταξύ τους σε χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από 24ώρες
- ❖ Μια απρόκλητη (ή αντανακλαστική) κρίση με πιθανότητα εμφάνισης περαιτέρω κρίσεων την επόμενη δεκαετία 60%, δηλαδή ανάλογη με εκείνη του γενικού πληθυσμού, έπειτα από δυο απρόκλητες κρίσεις
- ❖ Διάγνωση επιληπτικού συνδρόμου

Ο όρος «απρόκλητος» υποδηλώνει την απουσία ενός παράγοντα είτε προσωρινού είτε αναστρέψιμου που μειώνει τον ουδό και προκαλεί μια επιληπτική κρίση.

Η επιληψία θεωρείται ότι έχει ιαθεί σε άτομα που εμφανίζουν νόσο εξαρτώμενη από την ηλικία και βρίσκονται εκτός των αναμενόμενων ηλικιακών ορίων αλλά και σε άτομα που εμφανίζονται ελεύθερα κρίσεων τα τελευταία 10 έτη, με τα 5 έτη χωρίς αντιεπιληπτική αγωγή. ^[30]

Σημαντικό σημείο που πρέπει να ληφθεί υπόψη για τη διάγνωση της επιληψίας είναι η τάση του ίδιου του εγκεφάλου να έχει παθολογικά μειωμένο ουδό και άρα να εμφανίζεται πιο επιρρεπής στις επιληπτικές κρίσεις. Αυτό σημαίνει ότι η εμφάνιση μιας επιληπτικής κρίσης σε έναν κατά τα άλλα φυσιολογικό εγκέφαλο δεν οδηγεί απαραίτητα στη διάγνωση επιληψίας.^[30]

1.3 Ταξινόμηση Επιληπτικών Κρίσεων και Επιληπτικών Συνδρόμων

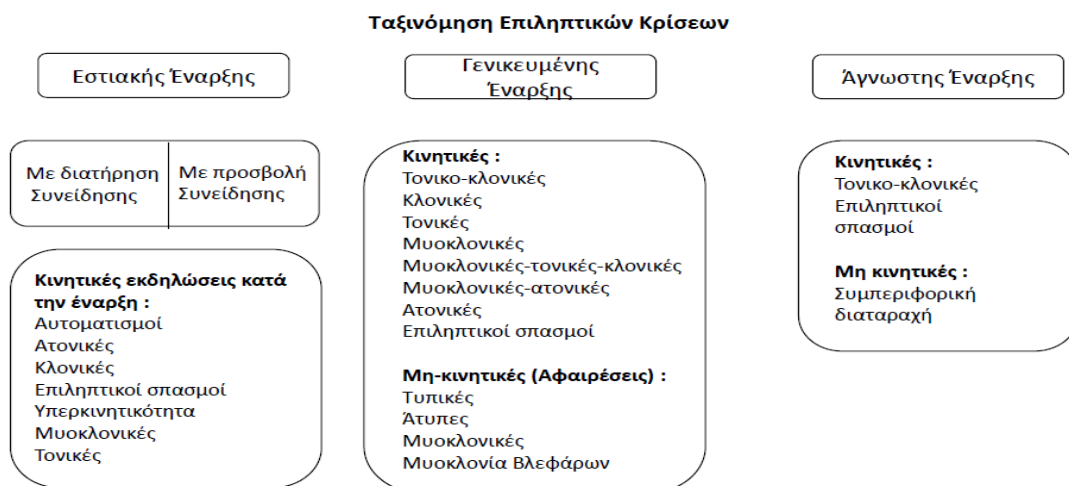
Από τα πρώτα χρόνια που παρατηρήθηκε η επιληψία ως ασθένεια αναφέρονται προσπάθειες περιγραφής και ταξινόμησης των επιληπτικών κρίσεων σε κατηγορίες. Όμως, η απόκτηση όλο και περισσότερων

πληροφοριών σχετικά με τις επιληπτικές κρίσεις και τα αίτια τους κατέστησε αυτό το εγχείρημα δύσκολο. Για το λόγο αυτό η Διεθνής Οργάνωση Κατά της Επιληψίας (ILAE) όρισε την Επιτροπή Ταξινόμησης και Ονοματολογίας ώστε να υπάρχει ένα κοινώς αποδεκτό σύστημα ονοματολογίας και ταξινόμησης των επιληπτικών κρίσεων και συνδρόμων.^[23]

Η Επιτροπή Ταξινόμησης και Ονοματολογίας το 1981 δημοσίευσε την πρώτη πρόταση για την Ταξινόμηση των επιληπτικών κρίσεων, η οποία αναθεωρήθηκε το 1989. Σύμφωνα με την τελευταία, οι επιληπτικές κρίσεις διακρίνονταν ανάλογα με:^[23]

- ❖ Την έναρξη τους σε : Γενικευμένες και Εστιακές
- ❖ Την αιτιολογία τους σε: Συμπτωματικές, Ιδιοπαθείς και Κρυπτογενείς

Ωστόσο, η εξέλιξη της επιστημονικής γνώσης αλλά και των τεχνολογιών από το 1989 μέχρι σήμερα είναι εντυπωσιακή. Πρόοδος στους κλάδους της Μοριακής Κυτταρικής Βιολογίας και Γενετικής, νέες τεχνολογίες ανάλυσης του γονιδιώματος αλλά και νέες νευροαπεικονιστικές και νευροφυσιολογικές τεχνικές παρέχουν το κατάλληλο περιβάλλον για την μελέτη της λειτουργίας του εγκεφάλου αλλά και τον μηχανισμό δημιουργίας και εξάπλωσης των επιληπτικών κρίσεων.^[11] Λόγω αυτής της εξέλιξης, η ταξινόμηση των επιληπτικών κρίσεων και συνδρόμων έχει τροποποιηθεί και έχει διαμορφωθεί όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Ταξινόμηση Επιληπτικών κρίσεων σύμφωνα με την ILAE 2017^[31]

Βασικά κριτήρια για την ταξινόμηση των επιληπτικών κρίσεων είναι:

- ❖ Ο τύπος έναρξης
- ❖ Το επίπεδο συνείδησης

Ανάλογα με τον τύπο έναρξης οι κρίσεις διακρίνονται σε:

Εστιακές δηλαδή οι κρίσεις δημιουργούνται και περιορίζονται στα νευρωνικά δίκτυα του ενός ημισφαιρίου.

Γενικευμένες δηλαδή οι κρίσεις δημιουργούνται και μεταδίδονται γρήγορα αμφίπλευρα και στα δυο ημισφαίρια.

Άγνωστης Έναρξης δηλαδή δεν υπάρχει πληροφορία για το είδος της έναρξης των κρίσεων, άρα δεν μπορούν να καταταχθούν σε μια από τις προηγούμενες κατηγορίες.

Οι εστιακές επιληπτικές κρίσεις ταξινομούνται περαιτέρω ανάλογα με τη διαταραχή του επιπέδου συνείδησης σε: εστιακές επιληπτικές κρίσεις με διατήρηση της συνείδησης (Focal Aware Seizures) και σε επιληπτικές κρίσεις με προσβολή του επιπέδου συνείδησης (Focal Impaired Awareness Seizures). Επιπροσθέτως, οι εστιακές επιληπτικές κρίσεις στην έναρξη τους μπορεί να εμφανίζουν είτε κινητικά είτε μη-κινητικά συμπτώματα. Τέλος, στις εστιακές κρίσεις ανήκουν και οι κρίσεις εστιακής έναρξης που εξελίσσονται σε αμφοτερόπλευρες τονικοκλονικές.

Οι γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις διακρίνονται σε κινητικές και μη κινητικές κρίσεις (αφαιρετικές κρίσεις). Η πλειοψηφία των γενικευμένων επιληπτικών κρίσεων χαρακτηρίζεται από διαταραχή του επιπέδου συνείδησης.^[3, 31]

Με τη νέα ταξινόμηση των επιληπτικών κρίσεων οι παλιοί όροι «απλές εστιακές κρίσεις» και «σύνθετες εστιακές κρίσεις» έχουν αντικατασταθεί από τον γενικό όρο «Εστιακή κρίση» με ακόλουθη περιγραφή της συμπτωματολογίας της κάθε κρίσης. Ενώ, ο όρος «Εστιακή κρίση με δευτεροπαθή γενίκευση» έχει αντικατασταθεί από τον όρο «Εστιακή κρίση εξελισσόμενη σε αμφοτερόπλευρη τονικοκλονική».^[3, 31]

Πέρα των επιληπτικών κρίσεων, εμφανίζεται πληθώρα επιληπτικών συνδρόμων τα οποία διακρίνονται σε 3 βασικές κατηγορίες^[3] :

- ❖ Ηλεκτροκλινικά Σύνδρομα ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης τους
- ❖ Διακριτές Ομάδες/ Χειρουργικά αντιμετωπίσιμα σύνδρομα
- ❖ Σύνδρομα που δεν κατατάσσονται στις προηγούμενες ομάδες

Τα επιληπτικά σύνδρομα της 1^{ης} ομάδας διακρίνονται περαιτέρω σε υποκατηγορίες ανάλογα με την ηλικία έναρξης.

1. Ηλεκτροκλινικά Σύνδρομα στη νεογνική ηλικία

- Καλοήθεις Νεογνικές κρίσεις
- Καλοήθης οικογενή νεογνική επιληψία (BFNE)
- Σύνδρομο Ohtahara
- Πρώιμη Μυοκλονική Εγκεφαλοπάθεια (EME)

2. Ηλεκτροκλινικά Σύνδρομα στη βρεφική ηλικία

- Πυρετικοί Σπασμοί. Επιπεπλεγμένοι πυρετικοί σπασμοί (FS+)
- Καλοήθης βρεφική επιληψία
- Καλοήθης οικογενή βρεφική επιληψία
- Σύνδρομο West
- Σύνδρομο Dravet
- Μυοκλονική επιληψία στη βρεφική ηλικία (MEI)

- Μυοκλονική Εγκεφαλοπάθεια σε μη εξελισσόμενες διαταραχές
- Επιληψία της βρεφικής ηλικίας με μεταναστευτικές εστιακές κρίσεις

3. Ηλεκτροκλινικά Σύνδρομα παιδικής ηλικίας

- Πυρετικοί σπασμοί. Επιπεπλεγμένοι πυρετικοί σπασμοί (FS+)
- Πρώιμης έναρξης ινιακή επιληψία της παιδικής ηλικίας (Σύνδρομο Παναγιωτόπουλου)
- Επιληψία με μυοκλονικές ατονικές (πρώην αστατικές) κρίσεις
- Αφαιρετική επιληψία της παιδικής ηλικίας (CAE)
- Καλοήγησ επιληψία με κεντρικές-κροταφικές αιχμές (BECTS)
- Αυτοσωμική επικρατής νυχτερινή επιληψία μετωπιαίου λοβού (ADNFLE)
- Όψιμης έναρξης ινιακή επιληψία της παιδικής ηλικίας (Gastaut type)
- Επιληψία με μυοκλονικές αφαιρέσεις
- Σύνδρομο Lennox - Gastaut (LGS)
- Επιληπτική εγκεφαλοπάθεια με συνεχείς αιχμές-κύματα κατά τη διάρκεια του ύπνου (CSWS)
- Σύνδρομο Landau Kleffner (LKS)

4. Ηλεκτροκλινικά Σύνδρομα εφηβικής/ενήλικης ηλικίας

- Εφηβική επιληψία με αφαιρέσεις (JAE)
- Εφηβική μυοκλονική επιληψία (JME)
- Επιληψία με γενικευμένες τονικοκλονικές κρίσεις μόνο
- Αυτοσωμική επικρατική επιληψία με ακοολογικά χαρακτηριστικά (ADEAF)
- Άλλες οικογενείς επιληψίες του κροταφικού λοβού

5. Ηλεκτροκλινικά Σύνδρομα με ποικίλη ηλικία έναρξης

- Οικογενή εστιακή επιληψία με ποικίλες εστίες
- Προοδευτικές μυοκλονικές επιληψίες (PME)

- Αντανακλαστικές επιληψίες

Τα σύνδρομα που ανήκουν στη 2^η ομάδα είναι:

- Επιληψία έσω κροταφικού λοβού με σκλήρυνση ιππόκαμπου
- Σύνδρομο Rasmussen
- Γελαστικές κρίσεις με υποθαλαμικό αμάρτωμα
- Ημισπασμώδη- Ημιπληγική επιληψία

Ενώ στην 3^η ομάδα ανήκουν τα παρακάτω σύνδρομα:

- Επιληψίες οφειλόμενες ή οργανωμένες από δομικές-μεταβολικές αιτίες
- Δυσπλασίες φλοιώδους ανάπτυξης
- Νευροεπιδερμικά Σύνδρομα
- Όγκοι, Λοιμώξεις, Τραύματα, Αγγειώματα, Περιγεννητικά συμβάντα, εγκεφαλικά επεισόδια
- Επιληψίες αγνώστου αιτιολογίας

Επιπλέον, οι παλαιότεροι όροι «ιδιοπαθής επιληψία», «συμπτωματική επιληψία» και «κρυπτογενής επιληψία» έχουν αντικατασταθεί από τους όρους «γενετικής αιτιολογίας», «δομικής/μεταβολικής αιτιολογίας» και «αγνώστου αιτιολογίας» αντίστοιχα. [3]

1.4 Επιδημιολογία της Επιληψίας

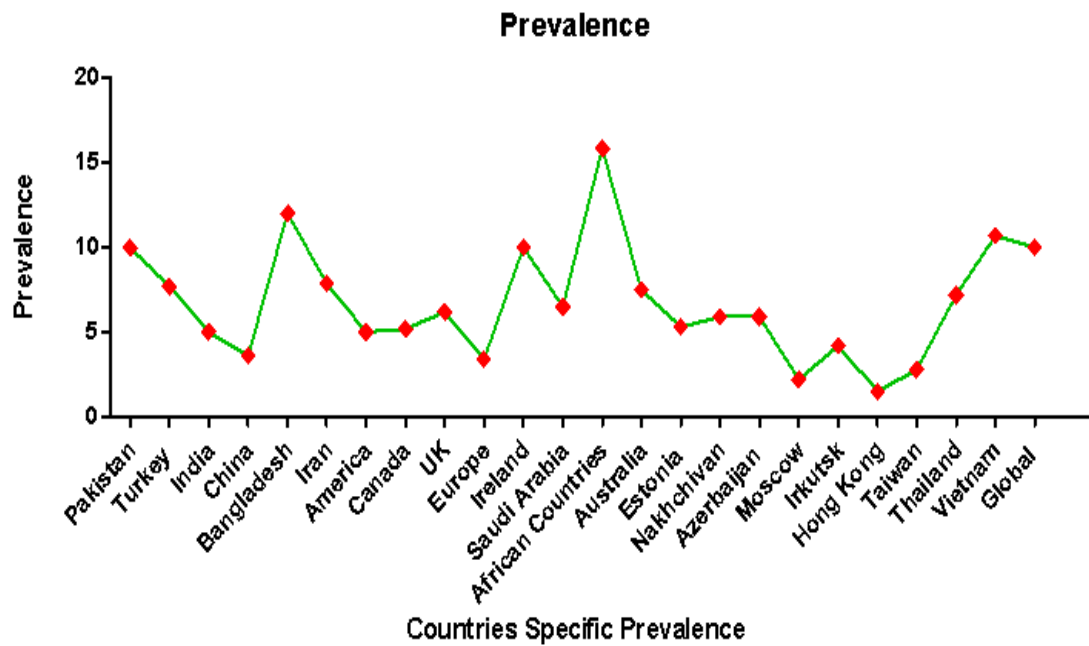
Η επιληψία είναι η 4^η πιο συχνή νευρολογική ασθένεια παγκοσμίως μετά από την ημικρανία, το εγκεφαλικό επεισόδιο και τη νόσο Alzheimer. Εμφανίζεται σε 70 εκατομμύρια ανθρώπους όλων των ηλικιών σε όλον τον κόσμο και αποτελεί το 1% του συνολικού βάρους ασθένειας στον πλανήτη, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στις αναπτυσσόμενες χώρες αγγίζει το 80%.^[61]

Ο επιπολασμός (Prevalence) αλλά και η επίπτωση (Incidence) της επιληψίας είναι παράμετροι που εξετάζονται από τις επιδημιολογικές μελέτες. Ωστόσο, η σύγκριση των δεδομένων διαφόρων μελετών και η

ασφαλής εξαγωγή συμπερασμάτων αποτελεί απαιτητικό εγχείρημα λόγω πολλών παραγόντων. Αρχικά, η επιληψία είναι δύσκολο να διαγνωσθεί επομένως πολλά περιστατικά δεν καταγράφονται, ενώ ταυτόχρονα εμφανίζονται διαφορές στην αιτιολογία και στην ταξινόμηση των επιληπτικών κρίσεων. Περαιτέρω, τόσο οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση των δεδομένων όσο και οι παράγοντες κινδύνου που αξιολογούνται διαφέρουν.^[24]

Ο επιπολασμός μιας ασθένειας αναφέρεται στον αριθμό των ατόμων με την ασθένεια αυτή σε συγκεκριμένη χρονική περίοδο και εκφράζεται ανά 1000 άτομα γενικού πληθυσμού, ενώ η επίπτωση αναφέρεται στον αριθμό των νέων περιστατικών που παρατηρούνται στον πληθυσμό μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο και εκφράζεται ανά 100.000 άτομα γενικού πληθυσμού.^[61]

Τα ποσοστά επιπολασμού της επιληψίας ποικίλλουν σημαντικά τόσο μεταξύ των διαφορετικών χώρων όσο και μεταξύ περιοχών μέσα στην ίδια χώρα. Αναφορικά, σε χώρες όπως το Μπαγκλαντές και η Ινδία έχουν παρατηρηθεί διαφορετικά ποσοστά επιληψίας μεταξύ αστικών και αγροτικών περιοχών, με εκείνα των αστικών να υπερτερούν.^[62]



Εικόνα 2: Ο επιπολασμός της επιληψίας σε διάφορες χώρες ανά τον κόσμο.^[62]

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2, χώρες όπως Ρωσία, Κίνα, Ινδία, Ευρώπη και Αμερική εμφανίζουν χαμηλά ποσοστά επιπολασμού που κυμαίνονται από 2.2 έως 5 ανά 1000 άτομα πληθυσμού. Χώρες όπως Τουρκία, Ιράν, Αραβικές χώρες, Αίγυπτος, Μπαγκλαντές, Πακιστάν και Ιρλανδία εμφανίζουν ενδιάμεσες τιμές επιπολασμού που κυμαίνονται από 7 έως 12 ανά 1000 άτομα πληθυσμού. Να σημειωθεί ότι τόσο η Αμερική όσο και η Αφρική παρουσιάζουν μεγάλο εύρος τιμών από 3.7 έως 22 και από 2.2 έως 58 ανά 1000 άτομα πληθυσμού αντίστοιχα ανάλογα με την περιοχή. Ο συνολικός παγκόσμιος επιπολασμός της επιληψίας υπολογίζεται στο 10 ανά 1000 άτομα πληθυσμού.^[62]

Εκτός από τη γεωγραφική περιοχή που φαίνεται να επηρεάζει τον επιπολασμό και την επίπτωση της επιληψίας σημαντικό ρόλο στη διακύμανση αυτή παίζει η ηλικία, το φύλο και η φυλή.^[62]

Ο επιπολασμός της επιληψίας εμφανίζει ελάχιστη διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών. Σε κάποιες χώρες, όπως Αμερική, Τουρκία, Κίνα, Ινδία και Σαουδική Αραβία, η επιληψία παρατηρείται συχνότερα στον ανδρικό πληθυσμό ενώ σε χώρες όπως Αργεντινή, Ιταλία, Πακιστάν,

Βολιβία, Νιγηρία και Ουγκάντα, η ασθένεια εμφανίζεται συχνότερα στο γυναικείο πληθυσμό. Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται σε βιολογικούς, περιβαλλοντικούς, πολιτισμικούς, πολιτικούς ή οικονομικούς παράγοντες.^[62]

Ο επιπολασμός της νόσου είναι αυξημένος στην παιδική και εφηβική ηλικία στις αναπτυγμένες χώρες. Στην ενήλικη ζωή, στις αναπτυγμένες χώρες, η συχνότητα της ασθένειας μένει σταθερή ενώ αυξάνεται μετά την 5^η δεκαετία, ενώ αντίθετα, στις αναπτυσσόμενες χώρες μειώνεται.^[62]

Ο επιπολασμός είναι μεγαλύτερος στους Αφρικανούς – Αμερικάνους (8,2/1000) από τους Καυκάσιους (5,4/1000).^[62]

Η επίπτωση της νόσου φαίνεται υψηλότερη στις αναπτυσσόμενες χώρες σε σχέση με τις αναπτυγμένες, ενώ ποικίλλει σημαντικά ανάμεσα στις διάφορες χώρες του πλανήτη, αυτό μπορεί να οφείλεται στην έλλειψη φαρμακευτικής αγωγής ή στις πολιτισμικές συνήθειες της κάθε χώρας.^[62]

Στους ανθρώπους, η επίπτωση της επιληψίας είναι υψηλή κατά τον πρώτο χρόνο της ζωής τους, την παιδική ηλικία και μετά την εφηβεία στις αναπτυγμένες χώρες, ενώ στις αναπτυσσόμενες χώρες είναι υψηλή μόνο κατά την παιδική ηλικία.^[62]

Επιπλέον, η επίπτωση εμφανίζεται υψηλότερη στους άνδρες από τις γυναίκες τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Δεν έχει βρεθεί στατιστικά σημαντική διαφορά στις μελέτες σχετικά με την επίπτωση της νόσου και τη φυλή.^[62]

1.5 Βασικοί Μηχανισμοί Επιληψίας

Η επιληψία χαρακτηρίζεται από τις επιληπτικές κρίσεις, οι οποίες είναι παροξυσμικές, συγχρονισμένες και παθολογικές εκφορτίσεις ενός δικτύου νευρώνων. Οι εκφορτίσεις αυτές μπορεί να οφείλονται είτε σε διαταραχή της μεμβράνης των νευρώνων είτε σε διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των διεγερτικών και ανασταλτικών επιδράσεων που δέχονται.^[19, 60]

1.5.1 Ηλεκτρικά δυναμικά νευρικών κυττάρων

Τα κύτταρα του νευρικού συστήματος εμφανίζουν τεράστια ποικιλία μορφών και μεγεθών, ωστόσο όλα χαρακτηρίζονται από 4 βασικές λειτουργικές δομές οι οποίες είναι: οι δενδρίτες, το κυτταρικό σώμα, ο νευρικός άξονας και η νευρική απόληξη ή τελικό κομβίο. Το κυτταρικό σώμα περιέχει τον πυρήνα και τη γενετική πληροφορία του κυττάρου, οι δενδρίτες αποτελούν διακλαδώσεις που χρησιμεύουν στη λήψη εισερχόμενων σημάτων από τους γειτονικούς νευρώνες, ο νευρικός άξονας αποτελεί μια μακριά αποφυάδα στην οποία δημιουργούνται τα ηλεκτρικά δυναμικά τα οποία μεταφέρονται κατά μήκος του φτάνοντας στα τελικά κομβία με στόχο την απελευθέρωση του κατάλληλου νευροδιαβιβαστή που θα δράσει στα γειτονικά κύτταρα δίνοντας το κατάλληλο ερέθισμα.^[66]

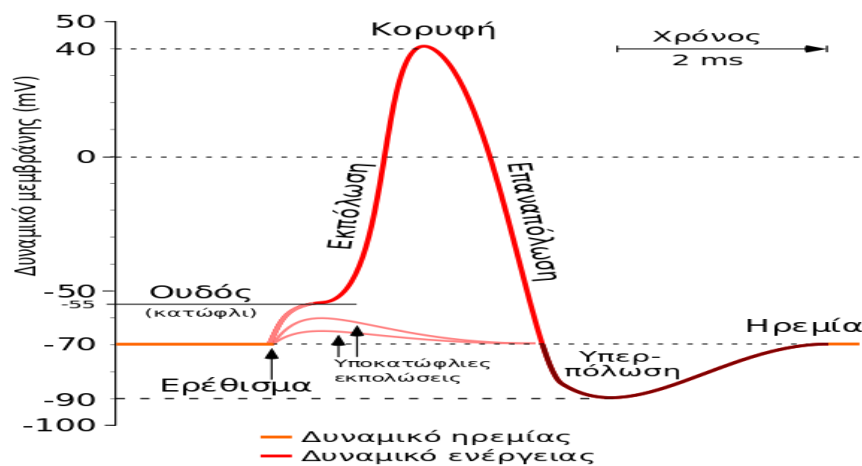
Ο σημαντικότερος τρόπος με τον οποίο λειτουργούν και επικοινωνούν τα νευρικά κύτταρα είναι μέσω των ηλεκτρικών δυναμικών της μεμβράνης τους. Κυρίαρχο ρόλο στη δημιουργία των ηλεκτρικών δυναμικών παίζουν τα ιόντα που βρίσκονται εσωτερικά και εξωτερικά των κυττάρων με σημαντικότερα τα ιόντα νατρίου και καλίου.^[66]

Φυσιολογικά, όλα τα κύτταρα σε κατάσταση ηρεμίας εμφανίζουν μια διαφορά δυναμικού που ονομάζεται **δυναμικό ηρεμίας**, λόγω της άνισης κατανομής των φορτισμένων ιόντων εντός και εκτός της κυτταρικής τους μεμβράνης. Το δυναμικό αυτό οφείλεται στην ύπαρξη μικρής περίσσειας αρνητικά φορτισμένων ιόντων ενδοκυτταρικά και μικρής περίσσειας θετικά φορτισμένων ιόντων εξωκυτταρικά. Ένας τυπικός νευρώνας διαθέτει υψηλή συγκέντρωση καλίου (K^+) στο κυτταρόπλασμα και υψηλή συγκέντρωση νατρίου (Na^+) στον εξωκυττάριο χώρο δημιουργώντας ένα δυναμικό ηρεμίας που κυμαίνεται από -40 έως $-75mV$.^[66]

Καθοριστικό ρόλο για την κατανομή των ιόντων παίζουν οι δίαυλοι ιόντων που είναι εξειδικευμένες πρωτεΐνες για την μεταφορά τους εντός και εκτός του κυττάρου. Η ύπαρξη διαύλων ιόντων έχει ως αποτέλεσμα η ροή των ιόντων να γίνεται κατά το πραινός της συγκέντρωσης τους, δηλαδή το

νάτριο εισέρχεται στο κύτταρο ενώ το κάλιο εξέρχεται. Η ροή είναι συνεχής μέσω των διαύλων, ωστόσο δεν παρατηρείται εξισορρόπηση των συγκεντρώσεων του νατρίου και του καλίου λόγω της αντίθετης ενεργούς μεταφοράς τους μέσω της αντλίας Na, K-ATPάσης. Η αντλία Na, K-ATPάσης είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία μέσω της υδρόλυσης του ATP μεταφέρει 3 ιόντα Na^+ στο εξωτερικό του κυττάρου και 2 ιόντα K^+ στο εσωτερικό ενάντια στο πρηνές συγκέντρωσής τους. Με αυτόν τον τρόπο συμβάλλει έμμεσα στη δημιουργία του δυναμικού ηρεμίας γι' αυτό χαρακτηρίζεται ως ηλεκτρογόνος αντλία.^[66]

Παροδικές αλλαγές στο δυναμικό της μεμβράνης προκαλούν τη δημιουργία ηλεκτρικών σημάτων που εκδηλώνονται με τη μορφή των **δυναμικών ενέργειας**. Τα δυναμικά ενέργειας είναι ταχείες μεταβολές του δυναμικού της μεμβράνης της τάξεως των 100mV και είναι σημαντικά για τη μετάδοση του σήματος σε μακρινές αποστάσεις. Οι μεμβράνες που είναι ικανές να παράγουν τέτοιου τύπου δυναμικά ονομάζονται διεγέρσιμες μεμβράνες. Όταν το κατάλληλο ερέθισμα δράσει πάνω σε ένα νευρικό κύτταρο, οι δίαυλοι νατρίου της μεμβράνης ανοίγουν και ιόντα νατρίου εισρέουν μέσα σε αυτό, με αποτέλεσμα την εκπόλωση της μεμβράνης. Έτσι, το δυναμικό της καθίσταται λιγότερο αρνητικό. Εάν η εκπόλωση αυτή ξεπεράσει έναν ουδό (κατώφλι δυναμικού), ο οποίος είναι περίπου 15mV, τότε το δυναμικό ενέργειας θα εκδηλωθεί. Κατά το δυναμικό ενέργειας, η αρχική εκπόλωση συνεχίζεται ταχύτατα μέχρι το δυναμικό να αναστραφεί και να γίνει θετικό, φτάνοντας τα +40mV, ενώ έπειτα, ακολουθεί η επαναπόλωση της μεμβράνης. Η εκπόλωση επιτυγχάνεται με το διαδοχικό άνοιγμα όλο και περισσότερων διαύλων νατρίου και τη μεγαλύτερη ροή ιόντων στο εσωτερικό του κυττάρου, ενώ η επαναπόλωση της επιτυγχάνεται τόσο μέσω της απενεργοποίησης των διαύλων αυτών όσο και μέσω της ενεργοποίησης διαύλων καλίου που απομακρύνουν το κάλιο προς το εξωτερικό του κυττάρου, επιταχύνοντας έτσι τη διαδικασία αποκατάστασης του δυναμικού ηρεμίας (Εικόνα 3).^[66]



Εικόνα 3: Δυναμικό ενέργειας.

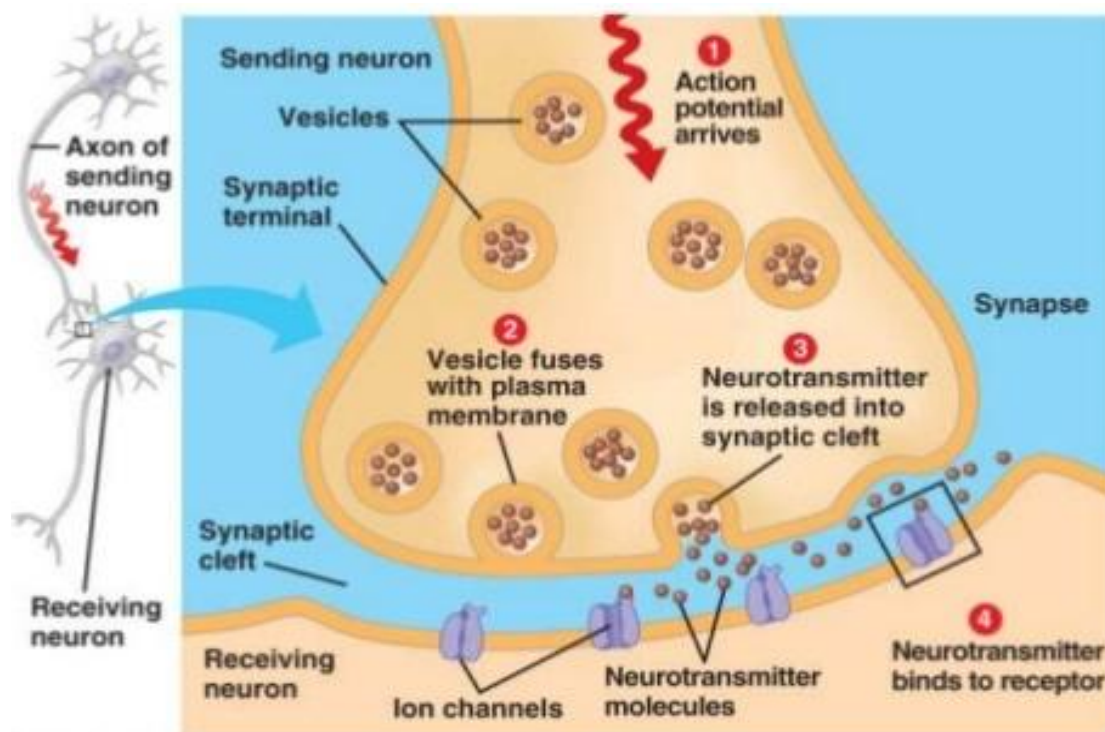
(https://el.wikipedia.org/wiki/Δυναμικό_ενέργειας)

Εάν η αρχική εκπόλωση δεν καταφέρει να φτάσει τον ουδό, δε θα δημιουργηθεί δυναμικό ενέργειας και η μεμβράνη θα επιστρέψει στην αρχική της κατάσταση όταν το ερέθισμα απομακρυνθεί. Τα δυναμικά ενέργειας διαρκούν περίπου 1msec, άγονται χωρίς να φθίνουν, ακολουθούν τον κανόνα «όλα ή τίποτα» δηλαδή ή δε θα δημιουργηθούν ή θα εκδηλωθούν στο μέγιστο εύρος τους και ακολουθούνται από ανερέθιστες περιόδους κατά τις οποίες δεν μπορεί να δημιουργηθεί εκ νέου ένα δεύτερο δυναμικό ενέργειας μέχρι η μεμβράνη να επαναπολωθεί και να επιστρέψει στην αρχική της κατάσταση.^[66]

1.5.2 Συνάψεις Νευρικού συστήματος

Τα κύτταρα του νευρικού συστήματος επικοινωνούν μεταξύ τους μέσω των συνάψεων. Σύναψη καλείται η ανατομικά εξειδικευμένη σύνδεση μεταξύ δύο νευρώνων, όπου μέσω αυτής η ηλεκτρική δραστηριότητα του ενός νευρώνα, που ονομάζεται προσυναπτικός, επιδρά στην ηλεκτρική ή μεταβολική δραστηριότητα του δεύτερου νευρώνα, που ονομάζεται μετασυναπτικός. Επομένως, κάθε σύναψη περιλαμβάνει τμήματα του προσυναπτικού και μετασυναπτικού νευρώνα καθώς και το εξωκυττάριο υγρό που παρεμβάλλεται μεταξύ τους. Ο χώρος αυτός ονομάζεται

συναπτική σχισμή και έχει διάμετρο από 10 έως 20nm. Οι συνάψεις διακρίνονται σε ηλεκτρικές και χημικές, με τις δεύτερες να κυριαρχούν στο νευρικό σύστημα (Εικόνα 4).^[48]



Εικόνα 4: Τυπική χημική σύναψη μεταξύ των νευρώνων. Η χημική σύναψη αποτελείται από το τελικό κομβίο του προσυναπτικού νευρώνα, τη συναπτική σχισμή και τμήμα της μεμβράνης του μετασυναπτικού νευρώνα. Η ύπαρξη της συναπτικής σχισμής δεν επιτρέπει την απευθείας μετάδοση του ηλεκτρικού σήματος στο μετασυναπτικό νευρώνα αντίθετα, επιβάλλει την απελευθέρωση ενός νευροδιαβιβαστή από το τελικό κομβίο ο οποίος θα δράσει και θα επηρεάσει την ηλεκτρική δραστηριότητα του μετασυναπτικού νευρώνα. (<http://www.epilepsyresearch.org.uk/wp-content/uploads/2013/02/Synapse.jpg>)

Στις χημικές συνάψεις, οι προσυναπτικοί νευρώνες επικοινωνούν με τους μετασυναπτικούς απελευθερώνοντας τους νευροδιαβιβαστές. Οι νευροδιαβιβαστές βρίσκονται αποθηκευμένοι στα συναπτικά κυστίδια συγκεντρωμένα στο τελικό κομβίο του κάθε νευρώνα. Όταν ένα δυναμικό ενέργειας φτάσει μέσω του νευρικού άξονα στο τελικό κομβίο και εκπολώσει τη μεμβράνη του, ενεργοποιούνται οι τάσεοευαίσθητοι δίαυλοι ασβεστίου που υπάρχουν στη μεμβράνη με αποτέλεσμα την εισροή ιόντων ασβεστίου στα συναπτικά κυστίδια μέσα στο τελικό κομβίο. Τα ιόντα ασβεστίου διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην απελευθέρωση των νευροδιαβιβαστών καθώς πυροδοτούν μια σειρά

αντιδράσεων που θα επιφέρουν την συγχώνευση της μεμβράνης του συναπτικού κυστιδίου με την προσυναπτική μεμβράνη.^[66]

Αφού απελευθερωθούν, οι νευροδιαβιβαστές διαχέονται στη συναπτική σχισμή και τελικά συνδέονται με κατάλληλους υποδοχείς στην μετασυναπτική μεμβράνη όπου θα δημιουργηθεί εκ νέου ένα δυναμικό ενέργειας μέσω άμεσης, εάν πρόκειται για ιοντοτρόπο υποδοχέα ή έμμεσης, εάν πρόκειται για μεταβολοτρόπο υποδοχέα, ενεργοποίησης διαύλων ιόντων. Ανάλογα με τον τύπο του νευροδιαβιβαστή και τον τύπο των υποδοχέων που ενεργοποιούνται στη μετασυναπτική μεμβράνη η επίδραση μπορεί να είναι διεγερτική ή ανασταλτική.^[66]

Σε μια διεγερτική σύναψη θα δημιουργηθεί ένα κλιμακωτό δυναμικό το οποίο θα εκπολώσει τη μεμβράνη καθιστώντας το δυναμικό της λιγότερο αρνητικό. Το δυναμικό αυτό ονομάζεται διεγερτικό μετασυναπτικό δυναμικό (EPSP) και διαδίδεται κατά φθίνοντα τρόπο. Αντίθετα, σε μια ανασταλτική σύναψη το κλιμακωτό δυναμικό που θα δημιουργηθεί θα υπερπολώσει τη μεμβράνη καθιστώντας περισσότερο αρνητικό το δυναμικό της. Το δυναμικό αυτό ονομάζεται ανασταλτικό μετασυναπτικό δυναμικό (IPSP). Κάθε μετασυναπτικός νευρώνας λειτουργεί ως ολοκληρωτής σημάτων καθώς η τελική του απόκριση είναι ο συνδυασμός των διεγερτικών και ανασταλτικών επιδράσεων που δέχεται μέσω των χιλιάδων συνάψεων που διαθέτει.^[66]

1.5.2.1 Ο ρόλος των νευροδιαβιβαστών

Οι νευροδιαβιβαστές είναι χημικές ουσίες εξέχουσας σημασίας για τη φυσιολογική λειτουργία του νευρικού συστήματος. Απελευθερώνονται από τον προσυναπτικό νευρώνα στη συναπτική σχισμή και επιφέρουν αλλαγές στο δυναμικό της μετασυναπτικής μεμβράνης. Οι σημαντικότεροι νευροδιαβιβαστές είναι η ακετυλοχολίνη (Ach), οι βιογενείς αμίνες όπως ντοπαμίνη, επινεφρίνη, νορεπινεφρίνη, σεροτονίνη και ισταμίνη, και αμινοξέα όπως το γλουταμικό οξύ, το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) και η γλυκίνη. Επιπλέον, κάποια νευροπεπτίδια όπως τα ενδογενή οπιοειδή και η ουσία P φαίνεται να δρουν ως μηνυματοφόρα μόρια, ωστόσο, ο ρόλος τους δεν έχει αποσαφηνιστεί επαρκώς. [66]

Οι δυο περισσότερο συνδεδεμένοι νευροδιαβιβαστές με την επιληπτική διαταραχή είναι ο GABA και το γλουταμικό οξύ. Κάθε σύναψη εμφανίζει πληθώρα υποδοχέων για τα συγκεκριμένα μόρια με αποτέλεσμα η απόκριση του προσυναπτικού και του μετασυναπτικού νευρώνα να ποικίλλει. Οι υποδοχείς μπορεί να είναι είτε ιοντοτρόποι, δηλαδή να αποτελούν οι ίδιοι διαύλους ιόντων και με τον κατάλληλο προσδέτη να ενεργοποιούνται επιτρέποντας τη ροή ιόντων, είτε μεταβολοτρόποι δηλαδή να συζευγνύονται με G-πρωτεΐνες και με τον κατάλληλο προσδέτη να ενεργοποιείται ένας καταρράκτης δεύτερων αγγελιοφόρων μηνυμάτων με τελική ενεργοποίηση διαύλων ιόντων. [66]

1.5.2.1a Γλουταμικό Οξύ (Glutamate)

Το Γλουταμικό Οξύ είναι ο κύριος διεγερτικός νευροδιαβιβαστής του νευρικού συστήματος. Συνδέεται και ενεργοποιεί τόσο ιοντοτρόπους όσο και μεταβολοτρόπους υποδοχείς. Στην κατηγορία των ιοντοτρόπων υποδοχέων ανήκουν οι α-αμινο-5-υδροξυ-3-μεθυλ-4-ισοξαζολο προπιονικού οξέος υποδοχείς (AMPA), οι καϊνικοί υποδοχείς, το όνομα των οποίων προέρχεται από τον προσδέτη τους, δηλαδή το καϊνικό οξύ και οι N-μεθυλο-D-ασπαρτικού οξέος (NMDA) υποδοχείς. Όλοι οι ιοντοτρόποι υποδοχείς είναι διαπερατοί στα ιόντα νατρίου και καλίου ενώ επιπλέον, οι NMDA υποδοχείς είναι διαπερατοί στα ιόντα ασβεστίου.

Με την εισροή νατρίου και ασβεστίου και την εκροή καλίου επιτρέπεται η εκπόλωση του κυττάρου. Οι AMPA υποδοχείς παίζουν ρόλο στη ταχύτερη διεγερτική διάδοση των δυναμικών ενέργειας ενώ οι NMDA υποδοχείς εμπλέκονται στην αργή διάδοση των διεγερτικών μετασυναπτικών δυναμικών απαραίτητων για τη συνολική επεξεργασία των πληροφοριών στο νευρικό σύστημα. Τέλος, οι καϊνικοί υποδοχείς δεν έχουν σαφή ρόλο στη νευρική σηματοδότηση.^[6, 9, 16, 66]

Η κατηγορία των μεταβολοτρόπων υποδοχέων περιλαμβάνει υποδοχείς που διακρίνονται σε 3 υποόμαδες:

Ομάδα I στην οποία περιλαμβάνονται οι υποδοχείς mGluR1 και mGluR5 που εντοπίζονται προσυναπτικά και μετασυναπτικά αντίστοιχα και ευνοούν την διεγερσιμότητα των νευρώνων.

Ομάδα II στην οποία περιλαμβάνονται οι υποδοχείς mGluR2 και mGluR3 που εντοπίζονται κυρίως προσυναπτικά και εμποδίζουν την απελευθέρωση του γλουταμικού οξέος από τον προσυναπτικό νευρώνα.

Ομάδα III στην οποία περιλαμβάνονται οι υποδοχείς mGluR4, mGluR6, mGluR7, mGluR8 οι οποίοι εντοπίζονται προσυναπτικά και έχουν ανασταλτικό ρόλο στην διεγερσιμότητα των νευρώνων.^[9]

1.5.2.1β Γ-αμινοβουτυρικό Οξύ (GABA)

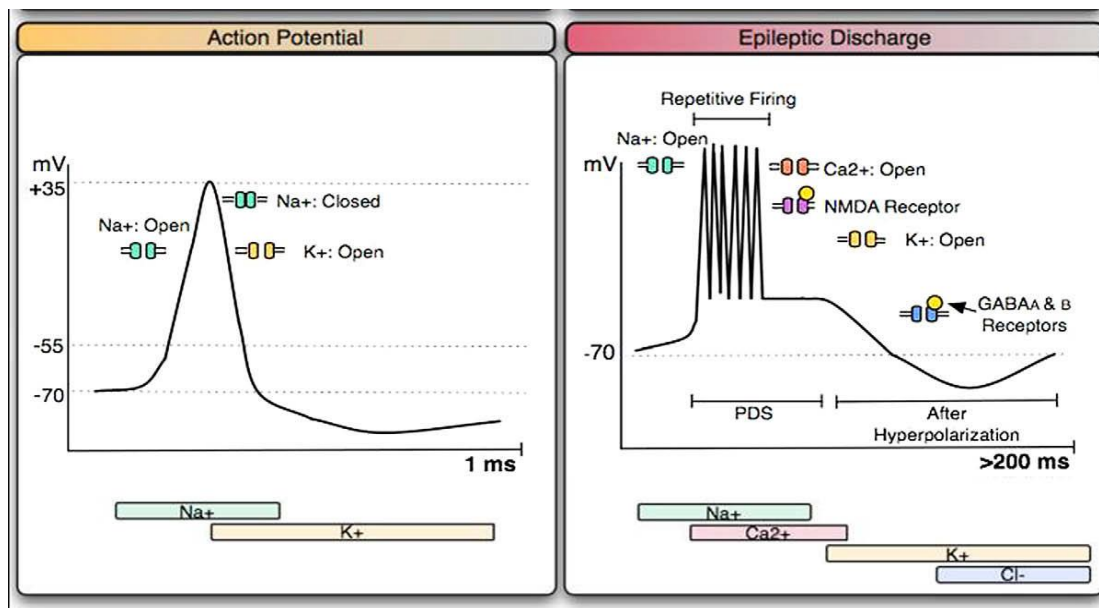
Το GABA είναι ο κύριος ανασταλτικός νευροδιαβιβαστής του νευρικού συστήματος. Όπως το γλουταμικό οξύ, το GABA συνδέεται και ενεργοποιεί ιοντοτρόπους και μεταβολοτρόπους υποδοχείς τόσο στην προσυναπτική όσο και στη μετασυναπτική μεμβράνη. Οι υποδοχείς GABA_A και GABA_C είναι ιοντοτρόποι οι οποίοι μέσω της πρόσδεσης του GABA σε αυτούς επιτρέπουν την εισροή ιόντων χλωρίου στο νευρώνα με αποτέλεσμα την υπερπόλωση του και την αναστολή της δημιουργίας δυναμικών ενέργειας. Ο υποδοχέας GABA_B ανήκει στην κατηγορία των μεταβολοτρόπων υποδοχέων, εντοπίζεται προσυναπτικά και συμβάλλει στη μείωση της απελευθέρωσης των νευροδιαβιβαστών. Η ενεργοποίηση του GABA_B και η μετέπειτα ενεργοποίηση του καταρράκτη μηνυμάτων

στο κύτταρο καταλήγει στο άνοιγμα διαύλων καλίου που οδηγούν στην υπερπόλωση των νευρώνων.^[6, 16]

1.5.3 Παθοφυσιολογία των επιληπτικών νευρώνων

Τα βασικά χαρακτηριστικά των νευρώνων ενός επιληπτικού εγκεφάλου είναι η υψηλή διεγερσιμότητα και ο συγχρονισμός, καθώς για την έναρξη μιας επιληπτικής κρίσης απαιτείται η ταυτόχρονη ύπαρξη και των δυο.^[16]

Η υψηλή διεγερσιμότητα των επιληπτικών νευρώνων οδηγεί στη δημιουργία παρατεταμένης εκπόλωσης, που ονομάζεται μετατόπιση παροξυσμικής εκπόλωσης (Paroxysmal Depolarising Shift, PDS). Η PDS διαρκεί πάνω από 200ms, χρόνος κατά πολύ μεγαλύτερος από τα EPSP δυναμικά των νευρώνων που δεν ξεπερνούν τα 1ms. Η παρατεταμένη εκπόλωση έχει ως συνέπεια τη δημιουργία μιας ακολουθίας δυναμικών ενέργειας τα οποία ταξιδεύουν κατά μήκος των νευρικών αξόνων και διεγείρουν άλλους νευρώνες. Κατά την PDS, τα δυναμικά ενέργειας δημιουργούνται λόγω ροής ιόντων νατρίου όπως έχει ήδη περιγραφεί. Ωστόσο, παρατηρείται ταυτόχρονη αύξηση της εξωκυττάριας συγκέντρωσης ιόντων καλίου με αποτέλεσμα να μειώνεται η εκροή τους από τον ενδοκυττάριο χώρο και να πυροδοτείται η εισροή ιόντων ασβεστίου, διαδικασία η οποία ενισχύει περαιτέρω την εκπόλωση του νευρώνα. Σε αυτό το στάδιο πιθανόν παίζουν ρόλο και επιδράσεις από τους διεγερτικούς υποδοχείς NMDA. Το τέλος της PDS σηματοδοτείται από την ενεργοποίηση διαύλων καλίου και χλωρίου και πιθανόν, την ενεργοποίηση ανασταλτικών υποδοχέων GABA που οδηγούν στην υπερπόλωση της μεμβράνης. Οι μηχανισμοί με τους οποίους διακόπτεται η επιληπτική κρίση είναι ελάχιστα κατανοητοί (Εικόνα 5).



Εικόνα 5: Η κατάσταση των διαύλων ιόντων κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού δυναμικού ενέργειας (αριστερά) και ενός επιληπτικού παροξυσμικού επεισοδίου (δεξιά).^[6]

Ο συγχρονισμός αφορά στην ταυτόχρονη εκπόλωση ενός δικτύου νευρώνων και είναι προαπαιτούμενο για την εκδήλωση μιας επιληπτικής κρίσης. Ο συγχρονισμός των νευρώνων επιτυγχάνεται μέσω διαφόρων μηχανισμών. Αρχικά, οι γλουταμικές διασυνδέσεις των πυραμιδικών κυττάρων του εγκεφαλικού φλοιού ευνοούν τη δημιουργία εκτεταμένων διεγερτικών δυναμικών. Επιπλέον, η ύπαρξη κασματοσυνδέσεων μεταξύ των νευρώνων διευκολύνει τη μετάδοση των δυναμικών και τον συγχρονισμό τους. Περαιτέρω, οι GABA-εργικοί νευρώνες, οι οποίοι έχουν ανασταλτική δράση, συνδέονται με πολλαπλές συνδέσεις με τα πυραμιδικά κύτταρα του εγκεφαλικού φλοιού με αποτέλεσμα όταν η σηματοδότηση μέσω των GABA-νευρώνων μειώνεται να παρατηρείται συγχρονισμένη εκπόλωση σε ένα σύνολο αυτών των κυττάρων. Τέλος, αλλαγές στην ανατομία του εγκεφάλου, στη δομή των εγκεφαλικών κυττάρων και στις μεταξύ τους διασυνδέσεις συμβάλλουν στο συγχρονισμό των νευρώνων κατά την επιληψία.^[6,16,60]

1.6 Αιτιολογία της επιληψίας

Η επιληψία αποτελεί μια ετερογενή ασθένεια παρουσιάζοντας ποικιλία αιτιολογικών παραγόντων. Ανάλογα με την αιτιολογία, η επιληψία χαρακτηρίζεται ως γενετικής, δομικής ή μεταβολικής και αγνώστου αιτιολογίας.^[3] Με το πέρασμα του χρόνου και με την πρόοδο της επιστημονικής γνώσης γίνεται όλο και περισσότερο αντιληπτό ότι η πλειοψηφία των επιληψιών και επιληπτικών συνδρόμων είναι αποτέλεσμα συνδυασμού γενετικών και επίκτητων περιβαλλοντικών παραγόντων, ενώ μόνο μια μικρή μειοψηφία φαίνεται να έχει αμιγώς γενετική αιτιολογία.

1.6.1 Γενετικοί παράγοντες

Οι επιληψίες που φέρονται να έχουν γενετική αιτιολογία και μέχρι πρότινος αναφέρονταν ως ιδιοπαθείς, αποτελούν το 30% των επιληψιών συνολικά.^[12]

Η επιληψία αποτελεί μια κληρονομούμενη κατάσταση γεγονός που αποδεικνύεται αν παρατηρήσει κανείς το αυξημένο ποσοστό εμφάνισης της ασθένειας σε άτομα που έχουν έναν πάσχοντα συγγενή. Ωστόσο, η πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν εμφανίζει ένα τυπικό Μενδελιανό μοτίβο κληρονομικότητας.^[12]

Τα τελευταία 20 χρόνια μέσω παρατήρησης οικογενειών, μονοζυγωτικών διδύμων, γενεαλογικών δέντρων ατόμων με επιληπτικά σύνδρομα και ανάλυσης της γενετικής πληροφορίας και των πολυμορφισμών σε συγκεκριμένα γονίδια, αναγνωρίστηκαν πολλά είδη επιληψιών που οφείλονται σε μεταλλάξεις γονιδίων και κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο (Εικόνα 6).^[63]

Abbreviation	Syndrome	Gene(s)	Chromosome	Mode of inheritance
ADNFLE	Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy	CHRNA4 CHRNA2	20q13.3 1q21	AD
BFNC	Benign familial neonatal convulsions	KCNQ2 KCNQ3	20q13.3 8q24	AD
BFNIS	Benign familial neonatal-infantile seizures	SCN2A	2q24	AD
GEFS+	Generalized epilepsy with febrile seizures plus	SCN1A SCN2A SCN2B GABRG2	2q24 2q24 11q23 5q31.1-q33.1	AD, OG
SMEI	Severe myoclonic epilepsy of infancy	SCN1A	2q24	AD, OG
JME	Autosomal dominant juvenile myoclonic epilepsy	GABRA1 CACNB4 CLCN2	5q34-q35 2q22-q23 3q26	OG, (AD)
EJM1	Juvenile myoclonic epilepsy type 1	EFHC1	6p12-p11	AD
ADPEAF	Autosomal dominant epilepsy with auditory features	LGI1	10q24	AD

Εικόνα 6: Γονίδια συγκεκριμένων επιλησιών. Φαίνονται από αριστερά προς τα δεξιά: η συντομογραφία και ολόγραφη μορφή της επιληψίας, το γονίδιο, η θέση του στο χρωμόσωμα και ο τρόπος κληρονομιάς του. AD=Αυτοσωμική επικρατής, OG=ολιγογενής και (AD) =λίγες οικογένειες έχουν δείξει μονογονική κληρονομικότητα. [63]

Τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν κατά κύριο λόγο υπομονάδες διαύλων ιόντων όπως νατρίου (SCN1A, SCN1B, SCN2A), καλίου (KCNQ2, KCNQ3, LGI1) και ασβεστίου (CACNA1H) καθώς και υπομονάδες υποδοχέων GABA (GABRG2, GABRA1) και ακετυλοχολίνης (CHRNA4, CHRNA2). [12]

Παρόλο που η πλειοψηφία των γονιδίων που φαίνεται να εμπλέκονται στην ανάπτυξη της επιληψίας αφορούν υπομονάδες διαμεμβρανικών πρωτεϊνών που λειτουργούν ως δίαυλοι ή υποδοχείς, δεν αποτελούν την μοναδική κατηγορία που σχετίζεται με την ασθένεια. Νέες μελέτες ανέδειξαν γονίδια που σχετίζονται με την ασθένεια και παράλληλα αποκαλύπτουν νέα μονοπάτια επιλησιογένεσης. Τέτοια παραδείγματα γονιδίων είναι τα εξής:[50]

- ❖ *ARX* το οποίο κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα απαραίτητο για τη σωστή μετανάστευση και επικοινωνία των νευρικών κυττάρων στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο. Πολυμορφισμοί σε αυτό το γονίδιο μπορούν να προκαλέσουν Πρώιμη Παιδική Επιληπτική Εγκεφαλοπάθεια (EIEE1)
- ❖ *STXBP1* (*MUNC18-1*) το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη των συναπτικών κυστιδίων και παίζει ρόλο στη ρύθμιση της

απελευθέρωσης των νευροδιαβιβαστών. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο προκαλούν εγκεφαλοπάθεια συνοδευόμενη από επιληψία

- ❖ *PCDH19* το οποίο κωδικοποιεί μια καδερίνη, ασβεστιοεξαρτώμενη πρωτεΐνη προσκόλλησης του κυττάρου. Το γονίδιο εντοπίζεται στο Χ-χρωμόσωμα και μεταλλάξεις σε αυτό σχετίζονται με μορφές επιληψίας και επιληπτικών συνδρόμων που περιορίζονται στην γυναίκες
- ❖ *TBC1D24* το οποίο ρυθμίζει την έκφραση μιας πρωτεΐνης της οποίας ο ρόλος δεν είναι γνωστός, ωστόσο φαίνεται ότι εμπλέκεται στον καθορισμό των αξόνων στα νευρικά κύτταρα. Πολυμορφισμοί σε αυτό σχετίζονται με κακοήθεις εστιακές κρίσεις σε συνδυασμό με νοητική αναπηρία

Επιπροσθέτως, η επιληψία έχει συσχετιστεί με χρωμοσωμικές ανωμαλίες όπως το Σύνδρομο Down, το Σύνδρομο Angelman και το Σύνδρομο δακτυλοειδούς χρωμοσώματος 20.^[14]

Η συνεχής βελτίωση των τεχνολογιών της βιοπληροφορικής και της αλληλούχισης του γονιδιώματος σε συνδυασμό με τη διεξαγωγή μεγάλης κλίμακας γενετικών μελετών θα συμβάλλουν στην περαιτέρω ανακάλυψη και συσχέτιση νέων γονιδιακών τόπων με την επιληψία, στην αποσαφήνιση του ρόλου τους στη διαδικασία της επιληψιογένεσης και στον καλύτερο σχεδιασμό θεραπειών.^[50]

1.6.2 Επίκτητοι παράγοντες

Πέρα από την γενετική προδιάθεση που χαρακτηρίζει την επιληψία, πληθώρα επίκτητων παραγόντων συντελούν στην εκδήλωση επιληπτικών κρίσεων με διαφορετικό αντίκτυπο στους ανθρώπινους πληθυσμούς.

1.6.2.1 Εγκεφαλικοί Όγκοι

Οι εγκεφαλικοί όγκοι αποτελούν αιτία της επιληψίας στο 30% των περιπτώσεων. Η επιληψία αποτελεί το συνηθέστερο σύμπτωμα σε άτομα με εγκεφαλικούς όγκους, με το 20-40% των συγκεκριμένων ατόμων να εμφανίζουν επιληπτικές κρίσεις κατά την έναρξη της νόσου ενώ το 20-45% κατά την εξέλιξη της.^[14, 41]

Η πιθανότητα ανάπτυξης επιληψίας λόγω εγκεφαλικών όγκων εξαρτάται από παράγοντες όπως ο τύπος, ο βαθμός και το σημείο εστίασης του όγκου στον εγκέφαλο. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συχνότητα εμφάνισης της επιληψίας έχει αρνητική σχέση με το βαθμό κακοήθειας. Εμφανίζεται σε ποσοστό 65-95% σε όγκους χαμηλής επιθετικότητας ενώ σε ποσοστό 15-25% σε όγκους υψηλής επιθετικότητας.^[41]

Οι μηχανισμοί επιληψιογένεσης στη συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών είναι ελάχιστα κατανοητοί, αν και θεωρείται ότι η επιληψία είναι αποτέλεσμα πολλών παραγόντων. Πιθανοί μηχανισμοί που επηρεάζονται και οδηγούν στη δημιουργία επιληπτικών κρίσεων είναι αλλαγές στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, στο ενζυμικό περιβάλλον των κυττάρων αλλά και στη μεταξύ τους σύνδεση και επικοινωνία.^[14, 41]

Τέλος, χαρακτηριστικό της επιληψίας που οφείλεται σε εγκεφαλικούς όγκους είναι η ανθεκτικότητα στη φαρμακευτική αγωγή. Η μειωμένη ανταπόκριση στα φαρμακολογικά σχήματα πιθανόν απορρέει από τον ίδιο τον όγκο και τις τροποποιήσεις που προκαλεί στην διεγερσιμότητα της μεμβράνης των κυττάρων, στο pH, και στα αμινοξέα διαφόρων πρωτεϊνών ή από την αδυναμία των αντιεπιληπτικών φαρμάκων να αποκτήσουν την επιθυμητή συγκέντρωση στην επιληπτική εστία, ενδεχομένως λόγω αλληλεπιδράσεων με τις αντικαρκινικές θεραπείες.^[41]

1.6.2.2 Εγκεφαλικές κακώσεις

Οι εγκεφαλικές κακώσεις προκύπτουν από εξωτερικές μηχανικές δυνάμεις που ασκούνται στο κεφάλι και τον εγκέφαλο. Το εγκεφαλικό τραύμα που δημιουργείται χαρακτηρίζεται από αλλαγές στη λειτουργία του εγκεφάλου, με συμπτώματα όπως απώλεια συνείδησης, σύγχυση και

αμνησία στις ήπιες περιπτώσεις ενώ εγκεφαλική θλάση και ενδοκρανιακή αιμορραγία στους πιο σοβαρούς τραυματισμούς. Οι εγκεφαλικές κακώσεις αποτελούν ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας σε παγκόσμιο επίπεδο ενώ πιστεύεται ότι το 2020 θα θεωρείται η κύρια αιτία θανάτου και αναπηρίας.^[49]

Τα εγκεφαλικά τραύματα αποτελούν σημαντική αιτία επιληψίας καθώς ευθύνονται για το 20% των συμπτωματικών επιληψιών και το 5% των συνολικών περιπτώσεων επιληψίας στο γενικό πληθυσμό. Η πιθανότητα εμφάνισης επιληψίας μετά από εγκεφαλικό τραύμα έχει ανάλογη σχέση με την σοβαρότητα του τραύματος ενώ ο χρόνος εμφάνισης των επιληπτικών συμπτωμάτων ποικίλλει. Ο κίνδυνος έναρξης επιληπτικών κρίσεων είναι αυξημένος κατά τον πρώτο χρόνο, ωστόσο παραμένει μέχρι και 10 χρόνια μετά το τραύμα. Επισημαίνεται ότι το 86% των ασθενών που είχαν μια επιληπτική κρίση μετά το τραύμα, εμφάνισαν και δεύτερη κρίση μέσα σε διάστημα 2 ετών.^[14, 49]

Παράγοντες που συμβάλλουν στην «εγκαθίδρυση» της επιληψιογενούς τάσης μετά από εγκεφαλικό τραύμα είναι οι εξής: ύπαρξη μιας επιληπτικής κρίσης σε διάστημα μιας εβδομάδας, παρατεταμένη αμνησία, ηλικία μεγαλύτερη από 15 έτη, οικογενειακό ιστορικό, χειρουργικές επεμβάσεις ενώ τέλος φαίνεται ότι γενετικοί παράγοντες παίζουν ρόλο αφού πολυμορφισμοί ορισμένων γονιδίων όπως τα ApoE4, HP2-2, GAD-1 έχουν συσχετιστεί από μελέτες με τον κίνδυνο εμφάνισης επιληψίας.^[49]

1.6.2.3 Μολυσματικοί παράγοντες

Οι μολύνσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εκδήλωση επιληπτικών συμπτωμάτων. Επιληπτικά συμπτώματα έχουν παρατηρηθεί σε μολύνσεις βακτηριακής, ιικής ή παρασιτικής προέλευσης ενώ το ποσοστό εμφάνισης επιληπτικών κρίσεων μετά από μια τέτοια μόλυνση κυμαίνεται από 6,8% - 8,3%.^[42]

Στην περίπτωση των βακτηριακών μολύνσεων, η μηνιγγίτιδα αποτελεί την πιο κοινή αιτία ανάπτυξης επιληπτικών κρίσεων. Η πλειοψηφία των

απρόκλητων επιληπτικών κρίσεων που ακολουθούν τη μόλυνση, συμβαίνουν εντός πενταετίας ενώ η εμφάνιση των κρίσεων κατά την οξεία φάση της μόλυνσης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο επανεμφάνισης τους σε επόμενη φάση. Επιπλέον, οι επιληπτικές κρίσεις χαρακτηρίζονται από περιοδικότητα. Τέλος, η πιθανότητα ανάπτυξης επιληπτικών κρίσεων λόγω μηνιγγίτιδας επηρεάζεται από τον παράγοντα που προκάλεσε την μόλυνση, με τον *Streptococcus pneumoniae* να κατέχει τα υψηλότερα ποσοστά 14,8% και με τους *Haemophilus Influenzae* (6,1%) και *Neisseria meningitides* (1,4%) να ακολουθούν.^[42]

Ο ιός του απλού έρπητα (HSV) που προκαλεί ιική εγκεφαλίτιδα είναι ο πιο συχνά σχετιζόμενος με την επιληψία καθώς εμφανίζεται στο 40-65% των περιπτώσεων. Ο κίνδυνος εμφάνισης των επιληπτικών κρίσεων είναι ιδιαίτερα αυξημένος στην πρώτη πενταετία, ωστόσο παραμένει μέχρι και είκοσι έτη μετά. Οι επιληπτικές κρίσεις είναι περιοδικές και το 40% αυτών είναι εστιακές με ενδεχόμενη δευτεροπαθή γενίκευση.^[14]

Η Ελονοσία και η Κυστικέρκωση, που οφείλονται στα *Plasmodium falciparum* και *Taenia solium* αντίστοιχα, αποτελούν τις συχνότερες αιτίες επιληψίας λόγω παρασίτων. Η Ελονοσία αποτελεί μάλιστα της Νότιας Αφρικής καθώς το 90-95% των θανάτων και ιδιαίτερα παιδιών ηλικίας μικρότερης των 5ετών, οφείλονται σε αυτή την εγκεφαλική μόλυνση. Το 69% των επιληπτικών κρίσεων που απαιτείται νοσοκομειακή νοσηλεία οφείλονται στο συγκεκριμένο παράσιτο. Αντίστοιχα, η κυστικέρκωση αποτελεί αιτία για το 30-50% των επιληψιών στις ενδημικές χώρες, στις οποίες η μετάδοση του παρασίτου συμβαίνει σε καθημερινή βάση. Ανάλογα με τα στελέχη του παρασίτου επηρεάζεται η επιληψιογόνος τάση του εγκεφάλου και η ανταπόκριση στην αγωγή. Τα ασβεστοποιημένα κυστίδια της νόσου έχουν σχετιστεί με χρόνια επιληψία, παρότι ορισμένα στελέχη του παρασίτου δεν προκαλούν επιληψία.^[43]

1.6.2.4 Σκλήρυνση ιππόκαμπου

Η σκλήρυνση του ιππόκαμπου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη επιληψίας και έχει ήδη αναγνωρισθεί από το 1825. ^[56] Ο όρος

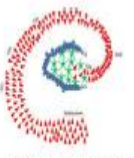
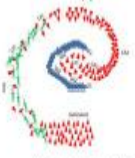
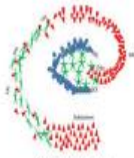
σκλήρυνση του ιππόκαμπου αναφέρεται στη παθολογική κατάσταση όπου παρατηρείται γλοίωση και απώλεια νευρώνων στην περιοχή του ιππόκαμπου, την πιο μελετημένη περιοχή του εγκεφάλου όσον αφορά στην επιληψία.

Ο ιππόκαμπος αποτελεί σπουδαίο τμήμα του μεταϊχμιακού συστήματος. Απαρτίζεται από τρεις δομικές στιβάδες και εντοπίζεται στο μέσο κροταφικό λοβό κάθε εγκεφαλικού ημισφαιρίου. Ιστολογικά, διακρίνονται 4 τμήματα (CA₁-CA₄) τα οποία αποτελούνται κυρίως από πυραμιδικά κύτταρα με διαφορετικά μεγέθη και πυκνότητα. Το CA₄ τμήμα περιβάλλεται από την οδοντωτή έλικα, που αποτελεί μέρος της φαιάς ουσίας.^[58]

Η σκλήρυνση του ιππόκαμπου χαρακτηρίζεται από εκφυλισμό και απώλεια νευρικών κυττάρων, παθολογικό πολλαπλασιασμό των διαμέσων νευρώνων - που σχηματίζουν ανασταλτικές συνάψεις με τα υπόλοιπα κύτταρα του ιππόκαμπου - γλοίωση, εκβλάση και αναδιοργάνωση των βρυωδών ινών (mossy fibers), δηλαδή των νευρικών αξόνων των κοκκιωδών κυττάρων της οδοντωτής έλικας αλλά και επέκταση των κυττάρων αυτών.^[58]

Τα νευρογλοιακά κύτταρα του εγκεφάλου και ειδικότερα τα αστροκύτταρα εμπλέκονται ενεργά στη διαδικασία της γλοίωσης. Τα νευρογλοιακά κύτταρα εκτός από υποστηρικτικό ρόλο επηρεάζουν και άλλες σημαντικές λειτουργίες του εγκεφάλου, όπως τη νευροδιαβίβαση και την διατήρηση της ομοιόστασης του ύδατος και των ιόντων. Τα κύτταρα αυτά προλαμβάνουν τη διέγερση των κυττάρων καθώς διαθέτουν μεγαλύτερο αριθμό διαύλων καλίου οι οποίοι δρουν ανασταλτικά ενώ ταυτόχρονα μέσω κατάλληλων πρωτεϊνικών μεταφορών απομακρύνουν την περίσσεια των διεγερτικών νευροδιαβιβαστών από την συναπτική σχισμή. Στην παθολογική κατάσταση της ιπποκαμπιαίας σκλήρυνσης έχει περιγραφεί από διαφορετικές ερευνητικές ομάδες αυξημένη νευροδιαβίβαση, αυξημένη δραστηριότητα των διεγερτικών διαύλων νατρίου καθώς και μειωμένη έκφραση ή δυσλειτουργία των διαύλων καλίου με αποτέλεσμα την υπερδιεγερσιμότητα των νευρώνων.^[58]

Η σκλήρυνση του ιππόκαμπου οφείλεται σε αλληλεπίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων και επομένως, η νευροπαθολογική κατάσταση σε κάθε ασθενή διαφέρει. Έχει αναγνωρισθεί ότι για την έκβαση της σκλήρυνσης σε κάθε ασθενή σημαντικό ρόλο παίζει το πρότυπο της νευρολογικής διαταραχής και όχι μόνο η έκταση της νευρικής απώλειας. Για το λόγο αυτό, η Διεθνής Οργάνωση κατά της Επιληψίας (ILAE) δημιούργησε ένα σύστημα ταξινόμησης των διαφορετικών προτύπων σκλήρυνσης στηριζόμενη στα αντικειμενικά κριτήρια της νευρικής απώλειας και γλοιώσης που έχουν παρατηρηθεί παραλείποντας άλλες παραμέτρους που είναι δύσκολο να αξιολογηθούν (Πίνακας 1).^[64]

	No HS	Gliosis only	ILAE type 3	ILAE type 2	ILAE type 1	ILAE type 1
						
	No HS	End folium gliosis	End folium sclerosis	CA1 predominant	Classical HS	
Classification system/era	No neuronal loss and no gliosis	Gliosis only (often involving the subgranular zone)	Neuronal loss and gliosis in CA4 subfield (endplate/hilus)	Neuronal loss and gliosis predominant in CA1 subfield	Neuronal loss and gliosis in CA1 > CA4, CA3 with sparing of CA2	Extensive neuronal loss (and gliosis) in all subfields including the dentate gyrus
Corsellis/Bruton (1966 to 1988)	No HS		End folium sclerosis	Not identified	Classical Sclerosis	Total Sclerosis
Wyler (1996)	Grade 0	Grade 1	Grade 2 (end folium pattern)	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Blumcke/ILAE (2007 to 2013)	No HS	Gliosis only	ILAE type 3 HS	ILAE type 2 HS	ILAE type 1 HS	
Approximate proportion*	10–30%	Unknown	3–7.4%	5–10%	60–80%	
Clinicopathological correlations in temporal lobe epilepsy surgical series†	(1) Poorer postsurgical seizure-free outcomes (42–58% seizure free) (2) FS – less common	Unknown specificity for TLE	(1) Pattern of HS most often associated with a second (dual) pathology (e.g. DNT, cavernoma) (2) Older age at onset of epilepsy† (3) Poorer postsurgical seizure-free outcomes in some series	(1) Older age at onset of epilepsy in some series (2) Poorer postsurgical seizure-free outcomes in some series	(1) Highest rates of seizure freedom (~70–85% seizure freedom post-operatively at 2 years, ~50% at 10 years) (2) Common association with febrile seizures 50–76%	

Πίνακας 1: Παλιότερα συστήματα ταξινόμησης συμπεριλαμβανομένου του τελευταίου χρονολογικά της ILAE σε συνδυασμό με τα κλινικά δεδομένα συσχέτισης του τύπου σκλήρυνσης με την επιληψία καθώς και τα ποσοστά εμφάνισης κάθε τύπου σκλήρυνσης. Σε κάθε τύπο παρατηρείται ποσοτική και ποιοτική διαφοροποίηση του ιππόκαμπου.^[64]

Στον τύπο 1 η μεγαλύτερη απώλεια κυττάρων παρατηρείται στην CA1 περιοχή με ποσοστό >80% ενώ ακολουθούν οι περιοχές CA4, CA3 και CA2 με ποσοστά 40-90%, 30-90% και 30-50%, αντίστοιχα. Η έκταση της γλοιώσης μπορεί να περιορίζεται στην CA1 περιοχή ή να υπάρχει σε όλες τις περιοχές του ιππόκαμπου. Ο τύπος I σχετίζεται με υψηλά ποσοστά ελευθερίας κρίσεων μετά από χειρουργική επέμβαση (70-85%

κατά την πρώτη διετία και περίπου 50% κατά την πρώτη δεκαετία). Στον τύπο 2 η νευρική απώλεια αλλά και η γλοίωση εστιάζονται στην περιοχή CA1 του ιππόκαμπου, ενώ στις υπόλοιπες περιοχές είναι ελάχιστη σχεδόν μη ανιχνεύσιμη. Στον τύπο 3 η περισσότερο επηρεασμένη περιοχή είναι η CA4 από άποψη απώλειας κυττάρων (50%) και γλοίωσης ενώ αντίστοιχα οι υπόλοιπες περιοχές είναι πολύ λιγότερο επηρεασμένες. Τέλος, ο τύπος 4 περιλαμβάνει τις περιπτώσεις που δεν παρατηρείται απώλεια κυττάρων ή/και γλοίωση. Οι τύποι 2,3 και 4 έχουν μειωμένη περίοδο ελευθερίας κρίσεων μετά από χειρουργική επέμβαση.^[67]

Η μορφή της επιληψίας που έχει συσχετιστεί περισσότερο με την σκλήρυνση του ιππόκαμπου είναι η επιληψία του μέσου κροταφικού λοβού. Η επιληψία του μέσου κροταφικού λοβού με σκλήρυνση ιππόκαμπου αποτελεί το 20% όλων των επιληψιών συνολικά και το 65% των επιληψιών του μέσου κροταφικού λοβού.^[14]

Παρά την πληθώρα πληροφοριών για την ιστολογική βάση της σκλήρυνσης του ιππόκαμπου, η παθοφυσιολογία της παραμένει ασαφής και το ερώτημα αν αποτελεί αιτία ή αποτέλεσμα της επιληψίας παραμένει αναπάντητο. Η πιο διαδεδομένη υπόθεση ερμηνείας αυτού του προβληματισμού είναι ότι η ύπαρξη μιας εναρκτήριας προσβολής σε μια μικρή περιοχή του εγκεφάλου προκαλεί ποικίλες ιστολογικές και βιοχημικές αλλαγές καθιστώντας με αυτό τον τρόπο τον εγκέφαλο πιο επιρρεπή στις επιληπτικές κρίσεις. Κατά συνέπεια, ένας δεύτερος αιτιολογικός παράγοντας που θα δράσει στο συγκεκριμένο σημείο, θα μπορούσε να επιφέρει την εκδήλωση της επιληψίας. Οι βασικοί παράγοντες που οδηγούν στην σκλήρυνση του ιππόκαμπου και στην έναρξη της διαδικασίας της επιληπτογένεσης είναι οι εγκεφαλικοί τραυματισμοί, περιγεννητικά τραύματα και ιστορικό επιληπτικών κρίσεων σε παιδική ηλικία όπως πυρετικοί σπασμοί, οι οποίοι μάλιστα είναι η πιο συχνή αιτία σκλήρυνσης. Με άλλα λόγια, παρατηρείται ένας κύκλος αντιδράσεων με τις κρίσεις και την σκλήρυνση να έχουν διττό ρόλο, αφενός οι κρίσεις δημιουργούν ή επιδεινώνουν την σκλήρυνση του

υππόκαμπου και με τη σειρά της η σκλήρυνση οδηγεί σε περαιτέρω επιληπτικές κρίσεις.^[1, 58]

1.6.2.5 Άλλοι αιτιολογικοί παράγοντες

Οι εγκεφαλικές δυσπλασίες αν και είναι σπάνιες στο γενικό πληθυσμό μπορεί να αποτελέσουν αιτία της επιληψίας σε ποσοστό 30-64%, με υψηλότερο να εντοπίζεται στα παιδιά. Συνήθως, οι δυσπλασίες αυτές έχουν συσχετιστεί με μορφές επιληψίας ανθεκτικές στη θεραπεία, με αποτέλεσμα η χειρουργική επέμβαση να απαιτείται για την αντιμετώπιση της επιληψίας με καλά δεδομένα ύφεσης στο 90% των περιπτώσεων.^[14,27]

Παθολογικές καταστάσεις του εγκεφάλου, όπως η ύπαρξη δυσπλασιών του φλοιού κατά την ανάπτυξη, εγκεφαλικά επεισόδια ή νευροεκφυλιστικές νόσοι, όπως η νόσος του Alzheimer οδηγούν συχνά στην εκδήλωση επιληπτικών κρίσεων.^[14,32,44,54]

Επιπροσθέτως, η επιληψία μπορεί να έχει φλεγμονώδη αιτιολογία όπως συμβαίνει στις περιπτώσεις αυτοάνοσων εγκεφαλίτιδων. Τέτοια παραδείγματα συνδρόμων που οδηγούν στην ανάπτυξη επιληπτικών κρίσεων είναι το σύνδρομο Rasmussen, η ασθένεια Behcet και η εγκεφαλοπάθεια Hashimoto.^[14,22,69]

Τέλος, συχνά η επιληψία παρατηρείται σε παθολογικές καταστάσεις γενετικής αιτιολογίας όπως στις περιπτώσεις της πολλαπλής σκλήρυνσης και της οξώδους σκλήρυνσης καθώς και σε καταστάσεις εθισμού όπως στην περίπτωση των χρόνιων αλκοολικών. ^[14,20,25,56]

1.7 Αντιμετώπιση της επιληψίας

Για την ορθότερη αντιμετώπιση της επιληψίας απαιτείται η σωστή συνεργασία του ασθενούς και του θεράποντος ιατρού. Για την επίτευξη του σωστού αποτελέσματος θα πρέπει να ακολουθηθούν συγκεκριμένα βήματα.

Αρχικά, θα πρέπει να προσδιοριστεί η μορφή των κρίσεων ή του επιληπτικού συνδρόμου αλλά και των πιθανότερων αιτιολογικών παραγόντων που οδήγησαν σε αυτά, καθώς θα αποτελέσουν τη βάση για την επιλογή της κατάλληλης φαρμακευτικής αγωγής.^[19]

Η ψυχολογική επίπτωση της ασθένειας στον ασθενή είναι σημαντική. Είναι σύνηθες οι επιληπτικοί ασθενείς να εμφανίζουν κοινωνικά και ψυχολογικά προβλήματα διότι, λόγω της ασθένειας χάνουν την αυτοεκτίμηση τους, την εργασία τους και κυριεύονται με το άγχος μιας ενδεχόμενης επόμενης κρίσης και χρήζουν σωστής πληροφόρησης και ψυχολογικής στήριξης.^[19]

Το κατάλληλο φάρμακο επιλέγεται σύμφωνα με τη μορφή της επιληπτικής κρίσης, με τη μονοθεραπεία να προτιμάται. Το επιλεγόμενο φάρμακο είναι εκείνο που αποδεδειγμένα έχει την υψηλότερη αποτελεσματικότητα και τη χαμηλότερη τοξικότητα για την εκάστοτε μορφή κρίσης ή συνδρόμου στον εκάστοτε ασθενή. Αρχικά, ο ασθενής λαμβάνει τη μέση δόση του φαρμάκου. Αυτή η δοσολογία, εφόσον οι κρίσεις ελέγχονται και οι ανεπιθύμητες ενέργειες δεν είναι σοβαρές, διατηρείται. Στην περίπτωση που οι κρίσεις δεν αντιμετωπίζονται επαρκώς, η δόση του φαρμάκου πρέπει να αυξάνεται μέχρι να επιτευχθεί ο έλεγχος των κρίσεων ή μέχρι οι ανεπιθύμητες ενέργειες να μην επιτρέπουν περαιτέρω αύξηση.^[19]

Η πολυθεραπεία δεν προτιμάται καθώς εκθέτει τον ασθενή σε κινδύνους όπως υψηλή τοξικότητα, ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φαρμάκων, ενδεχόμενη αλλεργία στα φάρμακα, έξαρση των κρίσεων και ανικανότητα εκτίμησης της αποτελεσματικότητας κάθε φαρμάκου ξεχωριστά. Ωστόσο, η απουσία ελέγχου της επιληψίας παρά τη λήψη της

μέγιστης δυνατής δόσης και την επίτευξη των μέγιστων επιπέδων συγκέντρωσης στο πλάσμα του αρχικού αντιεπιληπτικού φαρμάκου, επιβάλλει την προσθήκη ενός δεύτερου στην αγωγή. Η συνήθης και καλύτερη προσέγγιση είναι η μη διακοπή του πρώτου φαρμάκου μετά την προσθήκη του δεύτερου διότι, αφενός το πρώτο φάρμακο παρέχει προστατευτικό ρόλο μέχρι το δεύτερο να φτάσει τα επιθυμητά επίπεδα συγκέντρωσης στο πλάσμα αφετέρου, η απότομη διακοπή του πρώτου φαρμάκου μπορεί να ενεργοποιήσει επιληπτική δραστηριότητα.^[19]

Αφού έχουν επιτευχθούν επιθυμητά επίπεδα στο πλάσμα για το δεύτερο φάρμακο, μπορεί ενδεχομένως να διακοπεί το αρχικό φάρμακο. Είναι σημαντικό να συνυπολογίστουν πολλοί παράγοντες όπως η αποτελεσματικότητα του πρώτου φαρμάκου χωριστά, οι ανεπιθύμητες ενέργειες και την ψυχολογική επίπτωση, που μπορεί να έχει η πιθανή επανεμφάνιση των κρίσεων μετά τη διακοπή του αρχικού φαρμάκου. ^[19]

Για να προστεθεί ένα τρίτο φάρμακο στην αγωγή θα πρέπει να έχουν εξαντληθεί οι θεραπευτικές δυνατότητες των δυο προηγούμενων φαρμάκων. Ωστόσο, προτιμάται πάλι η προσθήκη ενός επιπλέον φαρμάκου και όχι η αντικατάσταση.^[19]

Η θεραπεία με αντιεπιληπτικά φάρμακα θα πρέπει να είναι συνεχής σε ασθενείς με προοδευτικές νευρολογικές παθήσεις όπως γλοιοβλάστωμα ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις να διατηρείται τουλάχιστον 2 με 3 χρόνια από τη διάγνωση της επιληψίας, ακόμα και σε ασθενείς που είναι ελεύθεροι κρίσεων σε αυτό το διάστημα. Στη συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών, η συνέχιση της θεραπείας θα πρέπει να επανεξετάζεται αφού η ενδεχόμενη διακοπή της αγωγής έχει ψυχολογικό και οικονομικό όφελος για τον ασθενή και τον απαλλάσσει από τη χρόνια τοξικότητα των φαρμάκων. Η πιθανότητα υποτροπής της επιληψίας μετά τη διακοπή της φαρμακευτικής αγωγής είναι 25% σε άτομα χωρίς παράγοντες κινδύνου και 50% σε άτομα με παράγοντες κινδύνου. Παράγοντες κινδύνου υποτροπής είναι οι εξής : α) συμπτωματική αιτιολογία β) παθολογικό ηλεκτροεγκεφαλογράφημα γ) έναρξη κρίσεων σε ηλικία κάτω των 2 ετών

ή στην εφηβεία δ) νευρολογικές ανωμαλίες ε) δύσκολος έλεγχος κρίσεων.^[19]

Το φαινόμενο της ανθεκτικής επιληψίας, δηλαδή της μη ανταπόκρισης ασθενών στη φαρμακευτική αγωγή, είναι συχνό. Σύμφωνα με την ILAE ως ανθεκτική επιληψία στη θεραπεία χαρακτηρίζεται η ανεπάρκεια δύο, ορθώς επιλεγόμενων και χορηγούμενων ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό, αντιεπιληπτικών φαρμάκων να επιτύχουν ελευθερία κρίσεων.^[36] Σημαντικοί παράμετροι ώστε να χαρακτηριστεί η επιληψία ανθεκτική είναι αφενός τα φάρμακα να έχουν επιλεγθεί σύμφωνα με τον τύπο της κρίσης που εμφανίζει κάθε ασθενής και αφετέρου να έχει δοθεί η κατάλληλη εξατομικευμένη δόση για ένα επαρκές χρονικό διάστημα ώστε να έχουν επιτευχθεί τα σωστά επίπεδα στο αίμα.^[35]

Ως περίοδος ελευθερίας κρίσεων ορίζεται το χρονικό διάστημα που ο ασθενής δεν εκδηλώνει καμία μορφή κρίσης, ούτε αύρες. Αν και κάθε μορφή κρίσης έχει διαφορετικό αντίκτυπο στο κάθε ασθενή ξεχωριστά και η αξιολόγηση θα έπρεπε να γίνεται εξατομικευμένα από τον ιατρό, για πρακτικούς λόγους, η εμφάνιση έστω και μιας επιληπτικής κρίσης αποτελεί ένδειξη αποτυχίας της θεραπείας να οδηγήσει σε ελευθερία κρίσεων.^[30] Δύο βασικά στοιχεία που είναι απαραίτητα να ληφθούν υπόψη για τον χαρακτηρισμό ενός ασθενούς ως ελεύθερο κρίσεων και άρα ανταποκρινόμενο στη θεραπεία είναι το χρονικό διάστημα για το οποίο παρακολουθείται και δεν έχει εμφανίσει επιληπτικές κρίσεις, να ακολουθεί τον λογόμενο «κανόνα των τριών», δηλαδή να είναι τρεις φορές μεγαλύτερο από τη μεσοκριτική περίοδο των δύο τελευταίων κρίσεων και μεγαλύτερο από 12 μήνες. Στην περίπτωση που ικανοποιείται μόνο μια από τις δυο συνθήκες, ο ασθενής δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ακόμα. Το δεύτερο στοιχείο είναι η επιβεβαίωση πως η ανταπόκριση στη θεραπεία αντικατοπτρίζεται σε κλινική βελτίωση του επιπέδου ζωής του ασθενούς.^[36]

Για τους ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στη αντιεπιληπτική αγωγή ενδείκνυται η χειρουργική επέμβαση. Η χειρουργική αντιμετώπιση της επιληψίας δεν είναι κάτι καινούριο, όμως τις τελευταίες τρεις δεκαετίες

με την εξέλιξη των απεικονιστικών και διαγνωστικών τεχνολογιών είναι πλέον εφικτή αυτή η θεραπευτική προσέγγιση, ειδικά για την ανθεκτική στη φαρμακοθεραπεία επιληψία.^[51]

Συγκεκριμένοι τύποι επιληψίας με καθορισμένη παθολογική αιτιολογία που δεν ανταποκρίνονται καλά στην αντιεπιληπτική αγωγή, εμφανίζουν καλή ανταπόκριση στη χειρουργική επέμβαση. Χαρακτηριστικό παραδείγμα αποτελεί η επιληψία του μέσου κροταφικού λοβού.^[51]

Πριν από την χειρουργική επέμβαση, απαιτείται λεπτομερής αξιολόγηση των ενδείξεων και των αντενδείξεων ώστε να διαπιστωθεί εάν ο ασθενής μπορεί να επιλεχθεί. Στις ενδείξεις για την επιλογή χειρουργικής επέμβατικής αγωγής ανήκουν μεταξύ άλλων, η ύπαρξη ανθεκτικής στη φαρμακοθεραπεία επιληψίας, θετική σχέση οφέλους - κινδύνου για την επέμβαση, αν οι κρίσεις έχουν σοβαρή κοινωνική και λειτουργική επίπτωση στον ασθενή ενώ στις αντενδείξεις ανήκουν η ύπαρξη γενικευμένης επιληψίας, η μικρή υποβάθμιση της ποιότητας ζωής από τις υπάρχουσες κρίσεις και η ύπαρξη νευρολογικής διαταραχής. Οι ενδείξεις και οι αντενδείξεις παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.^[51]

Ενδείξεις

- Ανθεκτικές στη φαρμακοθεραπεία επιληπτικές κρίσεις
- Κρίσεις που προκαλούν σημαντικά κοινωνικά και ιατρικά προβλήματα
- Ο χειρισμός των κρίσεων θα επιφέρει σημαντική βελτίωση στην ποιότητα ζωής του ασθενούς
- Η επιληψιογόνος ζώνη μπορεί να εντοπιστεί και να χαρακτηριστεί επαρκώς στον εγκέφαλο
- Θετική σχέση οφέλους – κινδύνου για την χειρουργική επέμβαση

Αντενδείξεις

- Πρωτοπαθής Γενικευμένη επιληψία
- Ελάσσονος σημασίας επιληπτικές κρίσεις που δεν επηρεάζουν την ποιότητα ζωής του ασθενούς
- Προοδευτική νευρολογική διαταραχή
- Ψυχοσική διαταραχή
- Διαταραχές συμπεριφοράς που θέτουν σε κίνδυνο την αποκατάσταση μετά τη χειρουργική επέμβαση

Πίνακας 2: Ενδείξεις και αντενδείξεις για την αξιολόγηση ασθενών με στόχο τη χειρουργική επέμβαση.^[51]

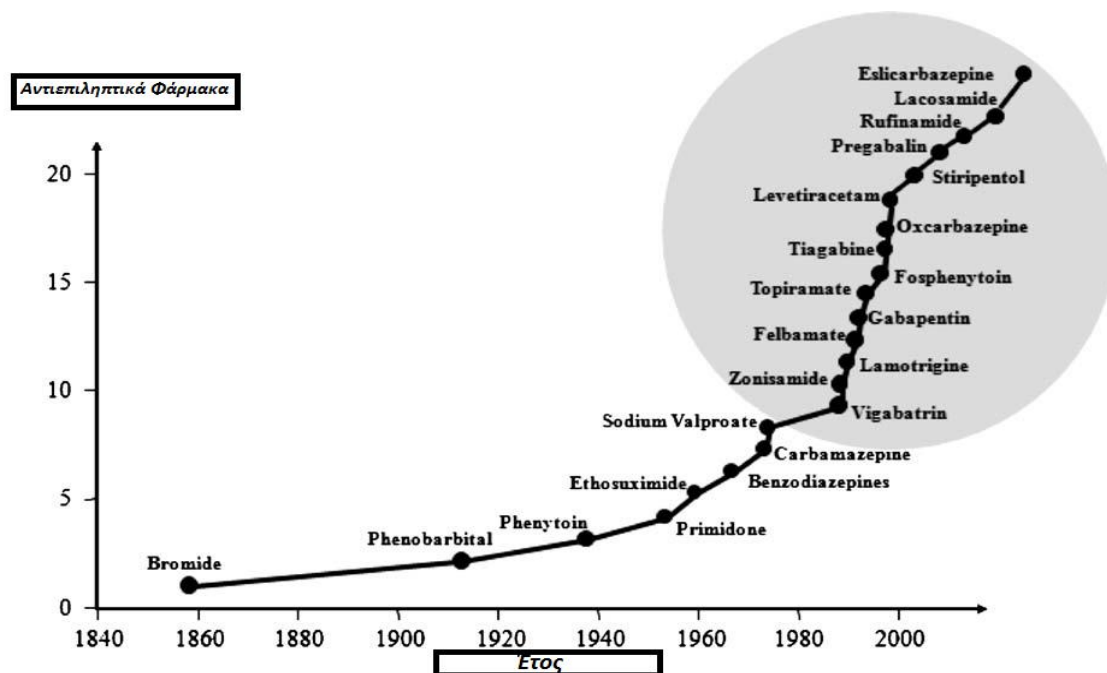
Πριν τη χειρουργική επέμβαση απαιτείται η περιγραφή και ακριβής εντοπισμός των επιληψιογόνων ζώνων του εγκεφάλου, δηλαδή των περιοχών από όπου γίνεται η έναρξη των κρίσεων και να εξεταστεί αν είναι εφικτή η αφαίρεση τους χωρίς σημαντική επιδείνωση. Βασικός στόχος της χειρουργικής επέμβασης είναι να αφαιρεθεί όσο το δυνατόν λιγότερο τμήμα του εγκεφάλου. Προεγχειρητικά είναι δύσκολο να οριοθετηθεί το επιληψιογόνο τμήμα από μόνο του, για το λόγο αυτό εντοπίζονται και άλλες σημαντικές περιοχές του εγκεφάλου που έχουν κλινική σημασία όπως η περιοχή δημιουργίας των μεσοκριτικών αιχμών (irritative zone) ή η περιοχή που είναι υπεύθυνη για τη εκδήλωση των κλινικών συμπτωμάτων κατά την φάση της κρίσης (symptomatogenic zone). Το εγχείρημα αυτό διεκπεραιώνεται μέσω απεικονιστικών τεχνικών όπως το ηλεκτροεγκεφαλογράφημα, η μαγνητική τομογραφία, η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων και τομογραφία εκπομπής φωτονίου.^[51]

1.7.1 Αντιεπιληπτικά φάρμακα

Η φαρμακευτική αντιμετώπιση της επιληψίας ξεκινά το 1857 όταν για πρώτη φορά ο Sir Charles Locock αναφέρει την αντισπασμωδική δράση του βρωμιούχου καλίου. Το βρωμιούχο κάλιο χρησιμοποιήθηκε για περίπου 50 χρόνια μέχρι το 1912, όπου ουσιαστικά, ο Alfred Hauptmann εισήγαγε τη φαινοβαρβιτάλη ως αντιεπιληπτικό φάρμακο και εγκαίνιασε τη σύγχρονη φαρμακολογική εποχή για την αντιμετώπιση της επιληψίας.^[17]

Με την πάροδο του χρόνου, αποκαλύφθηκε η αντιεπιληπτική ιδιότητα πολλών άλλων ουσιών όπως είναι η φαινυτοΐνη, η καρβαμαζεπίνη, η αιθοσουλιμίδη, το βαλπροϊκό νάτριο και η κλοναζεπάμη. Τα φάρμακα αυτά, μαζί με την φαινοβαρβιτάλη, είναι τα πλέον εδραιωμένα αντιεπιληπτικά φάρμακα. Η φαινυτοΐνη αποτελεί το πιο συχνό συνταγογραφούμενο αντιεπιληπτικό φάρμακο στις Ηνωμένες Πολιτείες, ενώ η φαινοβαρβιτάλη αποτελεί πρώτη επιλογή, λόγω του χαμηλού κόστους, ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες.^[17]

Από το 1975 και έπειτα, η πιο στοχευμένη και καθοδηγούμενη μελέτη χημικών ουσιών με πιθανές αντιεπιληπτικές ιδιότητες ανέδειξε τα αντιεπιληπτικά φάρμακα δεύτερης γενιάς τα οποία είναι καλύτερα ανεκτά με βελτιωμένη φαρμακοκινητική. Εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι η λαμοτριγίνη, η καρβαμαζεπίνη, η τοπιραμάτη, η ζανισαμίδη κ.α Τα φάρμακα της πρώτης και δεύτερης γενιάς φαίνονται στην Εικόνα 7. [17]



Εικόνα 7: Χρονολογική παρουσίαση της ανακάλυψης των αντιεπιληπτικών φαρμάκων. [17]

Παρά την πληθώρα των αντιεπιληπτικών φαρμάκων που υπάρχουν διαθέσιμα, σημαντικό ποσοστό των ασθενών δεν ανταποκρίνεται στην θεραπεία. Για το λόγο αυτό η επιστημονική έρευνα οδηγήθηκε στην ανάπτυξη 20 αντιεπιληπτικών φαρμάκων τρίτης γενιάς. Για την ανάπτυξη αυτών των φαρμάκων ακολουθούνται τρεις διαφορετικές προσεγγίσεις. [38]

Η πρώτη βασίζεται στην χημική ή δομική τροποποίηση των ήδη υπάρχοντων αντιεπιληπτικών ουσιών με στόχο τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας και της τοξικότητας τους. [38]

Η δεύτερη προσέγγιση βασίζεται στην εκ νέου εύρεση χημικών ουσιών και την απόδειξη της αντιεπιληπτικής τους δράσης με *in vivo* και *in vitro* πειράματα. [38]

Η τρίτη προσέγγιση είναι πιο στοχευμένη καθώς στηρίζεται στο σχεδιασμό φαρμάκων που προσδένονται σε μόρια τα οποία εμπλέκονται στις παθοφυσιολογικές διαδικασίες της νόσου. Οι κυριότεροι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι η μπριβιρακετάμη, η λακοσαμίδη, η περαμπανέλη, η εσλικαρβαζεπίνη και η πρεγκαμπαλίνη. [38]

Τέλος, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι δεν αρκεί ένα φάρμακο να είναι μόνο αποτελεσματικό όσον αφορά στον περιορισμό των επιληπτικών κρίσεων αλλά θα πρέπει να έχει καλά ανεκτό από τον ασθενή και να υπάρχει εμφανές αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής του

1.7.1.1 Μηχανισμοί δράσης αντιεπιληπτικών φαρμάκων

Τα αντιεπιληπτικά φάρμακα μειώνουν την επιληπτική δραστηριότητα του εγκεφάλου αλληλεπιδρώντας με τα κατάλληλα μόρια στόχους. Τέτοια μόρια είναι οι δίαυλοι ιόντων νατρίου και ασβεστίου αλλά και υποδοχείς νευροδιαβιβαστών όπως GABA, NMDA και AMPA. Να σημειωθεί ότι αρκετά αντιεπιληπτικά φάρμακα έχουν περισσότερους από έναν μοριακούς στόχους άρα και μηχανισμούς δράσης.[19]

1.7.1.1a Αναστολείς Διαύλων Νατρίου

Οι δίαυλοι νατρίου λαμβάνουν τρεις διαφορετικές διαμορφώσεις. Μια διαμόρφωση όταν βρίσκεται σε κατάσταση ηρεμίας όπου υπάρχει μικρή ροή ιόντων, μια ενεργή διαμόρφωση όπου η ροή των ιόντων είναι αυξημένη και μια ανενεργή διαμόρφωση όπου δεν διαχέονται καθόλου ιόντα νατρίου. Τα αντιεπιληπτικά φάρμακα συνδέονται και σταθεροποιούν την ανενεργή διαμόρφωση με αποτέλεσμα τη μειωμένη πυροδότηση δυναμικών ενέργειας (Πίνακας 3).[18,19]

Δραστική Ουσία	Εμπορικό Όνομα
Φαινυτοΐνη	Epanutin
Καρβαμαζεπίνη	Tegretol
Οξκαρβαζεπίνη	Trileptal
Λαμοτριγίνη	Lamictal, Dezipil
Λακοσαμίδη	Vimpat
Εσλικαρβαζεπίνη	Zebinix
Ρουφιναμίδη	Inovelon
Ζονισαμίδη	Zonegran
Τοπιραμάτη	Topamac
Βαλπροϊκό Οξύ	Depakine

Πίνακας 3: Αντιεπιληπτικές ουσίες που δρουν στους διαύλους νατρίου

1.7.1.1β Αναστολείς Διαύλων Ασβεστίου

Οι δίαυλοι ασβεστίου όταν είναι ενεργοί επιτρέπουν τη ροή ιόντων ασβεστίου στο κύτταρο ευνοώντας τη δημιουργία δυναμικών ενέργειας αλλά και την απελευθέρωση των νευροδιαβιβαστών στο τελικό κομβίο. Διακρίνονται στους T-διαύλους χαμηλού δυναμικού και τους L-, N-, P-, R-, Q- υψηλού δυναμικού. Οι αναστολείς των διαύλων αυτών εμποδίζουν τη δράση τους και μειώνουν την εκδήλωση της επιληπτικής δραστηριότητας (Πίνακας 4).^[19]

Δραστική Ουσία	Εμπορικό Όνομα
Αιθοσουμίδη	Zarontin
Λεβετιρακετάμη	Keppra
Γκαμππεντίνη	Neurontin
Πρεγκαμπαλίνη	Lyrica
Λαμοτριγίνη	Lamictal, Dezipil
Τοπιραμάτη	Topamac
Οξκαρβαζεπίνη	Trileptal
Φαινοβαρβιτάλη	Gardenal

Πίνακας 4: Αντιεπιληπτικές ουσίες που δρουν στους διαύλους ασβεστίου.

1.7.1.1γ Αγωνιστές των GABA υποδοχέων

Η ενεργοποίηση των υποδοχέων GABA οδηγεί στην υπερπόλωση των κυττάρων και την αναστολή της πυροδότησης δυναμικών ενέργειας. Τα αντιεπιληπτικά φάρμακα δρουν με ποικίλους τρόπους στους συγκεκριμένους υποδοχείς ενισχύοντας την αναστολή αυτή. Ορισμένα

φάρμακα προσδένονται άμεσα στη θέση του GABA προσδέτη λειτουργώντας αγωνιστικά ενώ άλλα δρουν αλλοστερικά. Επιπλέον, υπάρχουν φάρμακα που ανταγωνίζονται την επαναπρόσληψη του GABA από τα νευρικά κύτταρα ή παρεμποδίζουν τη μεταβολική αποικοδόμηση του (Πίνακας 5).^[19]

Δραστική Ουσία	Εμπορικό Όνομα
Βιγκαμπατρίνη	Sabril
Κλομπαζάμη	Frisium
Κλοναζεπάμη	Clonotril, Rivotril
Πριμιδόνη	Mysoline
Τιαγκαμπίνη	Gabitril
Φαινοβαρβιτάλη	Gardenal
Διαζεπάμη	Stedon
Βαλπροϊκό Οξύ	Depakine
Γκαμπαπεντίνη	Neurontin
Πρεγκαμπαλίνη	Lyrica
Τοπιραμάτη	Topamac
Ρετιγκαμπίνη	Trobalt

Πίνακας 5: Αντιεπιληπτικές ουσίες που ενισχύουν τη δράση του GABA.

1.7.1.1δ Ανταγωνιστές υποδοχέων του γλουταμικού οξέος

Τα αντιεπιληπτικά φάρμακα που προσδένονται στους διεγερτικούς υποδοχείς γλουταμικού οξέος εμποδίζουν την ενεργοποίηση τους από τον φυσικό προσδέτη τους με αποτέλεσμα τη μείωση του διεγερτικού σήματος (Πίνακας 6).^[19]

Δραστική Ουσία	Εμπορικό Όνομα
Φελμπαμάτη	Felbatol
Λακοσαμίδη	Vimpat
Τοπιραμάτη	Topamac

Πίνακας 6: Αντιεπιληπτικές ουσίες που δρουν στους διαύλους γλουταμικού οξέος.

1.7.1.1ε Άλλοι μηχανισμοί δράσης

Δύο ακόμη μοριακοί στόχοι ορισμένων αντιεπιληπτικών φαρμάκων είναι οι Η-διάυλοι και η συναπτική πρωτεΐνη SV2.^[19] Οι Η-διάυλοι όταν είναι ενεργοποιημένοι έχουν υψηλή διαπερατότητα στα ιόντα καλίου και έχουν την τάση να σταθεροποιούν το δυναμικό της μεμβράνης στο δυναμικό ηρεμίας. Δραστικές ουσίες που δρουν στους Η-διαύλους είναι η λαμοτριγίνη (Lamictal, Dezipil) και η γκαμπαπεντίνη (Neurontin).^[52] Η συναπτική πρωτεΐνη SV2 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη στα συναπτικά κυστίδια των νευρώνων και παίζει σπουδαίο ρόλο στην επιληψιογένεση και την απελευθέρωση των νευροδιαβιβαστών. Δραστικές ουσίες που δρουν στη συγκεκριμένη πρωτεΐνη με στόχο τη μείωση της επιληπτικής δραστηριότητας είναι η λεβετιρακετάμη (Keppra) και η Μπριβαρακετάμη (Briviact).^[65]

1.7.2 Ανεπιθύμητες ενέργειες αντιεπιληπτικών φαρμάκων

Όλα τα διαθέσιμα φάρμακα για την επιληψία εμφανίζουν μεγάλο εύρος ανεπιθύμητων ενεργειών. Ως ανεπιθύμητη ενέργεια (ΑΕ) ορίζεται η απόκριση σε ένα φάρμακο η οποία είναι επιβλαβής και ακούσια και παρατηρείται στις συνήθεις χορηγούμενες δόσεις που έχουν ως στόχο την προφύλαξη, τη διάγνωση, τη θεραπεία μιας ασθένειας ή την τροποποίηση μια φυσιολογικής λειτουργίας.^[19, 45]

Ομάδες ασθενών όπως έγκυες γυναίκες και ηλικιωμένοι θα πρέπει να χαίρουν ειδικής μεταχείρισης. Στο παρακάτω πίνακα φαίνονται οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες των αντιεπιληπτικών φαρμάκων (Πίνακας 6).^[45]

Αντιεπιληπτικό Φάρμακο	Κύριες ΑΕ	Απειλητικές για τη ζωή ΑΕ
Βαλπροϊκό Οξύ	Ναυτία, εμετός, τρόμος, τριχόπτωση, αύξηση βάρους	AHS, ηπατική και παγκρεατική ανεπάρκεια
Βιγκαμπατρίνη	Μη αναστρέψιμη απώλεια οπτικών πεδίων, αύξηση βάρους, κόπωση	Όχι
Γκαμπαπεντίνη	Αύξηση βάρους, περιφερικό οίδημα, διαταραχές συμπεριφοράς	Οξεία παγκρεατίτιδα, Σύνδρομο Stevens-Johnson
Εθοσουξιμίδη	Κεφαλαλγία, εξάνθημα, απώλεια βάρους	AHS, νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια
Ζονισαμίδη	Υπνηλία, ανορεξία, φωτοευαισθησία	AHS, ανϊδρωσία
Καρβαμαζεπίνη	Διπλωπία, κεφαλαλγία, τρόμος, ζάλη, αταξία, υπνηλία	AHS, ηπατική ανεπάρκεια
Κλομπαζάμη	Κόπωση, υπνηλία, διαταραχές αντίληψης και συμπεριφοράς,	Όχι
Κλοναζεπάμη	Όπως η κλομπαζάμη	Όχι
Λακοσαμίδη	Ζάλη, κεφαλαλγία, διπλωπία, ναυτία, εμετός, θόλωση	Όχι
Λαμοτριγίνη	Τικ, αϋπνία, εξάνθημα, διπλωπία, αταξία, κεφαλαλγία	AHS, ηπατική ανεπάρκεια
Λεβετιρακετάμη	Ευερεθιστικότητα, ζάλη, διαταραχές συμπεριφοράς	Ηπατική ανεπάρκεια
Οξκαρβαζεπίνη	Εξάνθημα, κεφαλαλγία, ζάλη, αδυναμία, ναυτία, διπλωπία	AHS
Πρεγκαμπαλίνη	Αύξηση βάρους, ζάλη, υπνηλία, αταξία	Νεφρική και καρδιακή ανεπάρκεια
Τιαγκαμπίνη	Αδυναμία, κόπωση, νοητική επιβάρυνση	Status Epilepticus
Τοπιραμάτη	Ανορεξία, κόπωση, νευρικότητα, απώλεια βάρους, διαταραχές συγκέντρωσης και μνήμης	Ηπατική ανεπάρκεια, ανϊδρωσία
Φαινοβαρβιτάλη	Υπερκινητικότητα, υπνηλία, εξάνθημα, διαταραχές νόησης	AHS, ηπατική ανεπάρκεια
Φαινυτοΐνη	Εξάνθημα, αταξία, λήθαργος,	AHS, ηπατική ανεπάρκεια

Πίνακας 6: Παρουσίαση των κυριότερων αντιεπιληπτικών ουσιών με τις συχνότερες και τις απειλητικές για τη ζωή ΑΕ. AHS=Aanticonvulsant Hypersensitivity Syndrome (Σύνδρομο υπερευαισθησίας στα αντιεπιληπτικά φάρμακα).^[45]

1.8 Φαρμακογονιδιωματική

Η Φαρμακογονιδιωματική είναι η επιστήμη που μελετά το ρόλο του γονιδιώματος στην ανταπόκριση στη θεραπεία. Συγκεκριμένα, εστιάζει στην ταυτοποίηση γονιδιακών πολυμορφισμών που επηρεάζουν τη δράση του φαρμάκου είτε μέσω αλλαγών στις φαρμακοκινητικές του ιδιότητες (απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμό, απέκκριση) είτε μέσω αλλαγών στις φαρμακοδυναμικές του ιδιότητες (τροποποίηση του μορίου στόχου ή των βιολογικών μονοπατιών που ελέγχουν την ευαισθησία στο φάρμακο).^[53]

Ως γενετικός πολυμορφισμός ορίζεται η αλλαγή που εντοπίζεται στην αλληλουχία του DNA με συχνότητα εμφάνισης σε έναν πληθυσμό μεγαλύτερη από 1%. Η αλλαγή στο DNA μπορεί να αφορά μια μόνο νουκλεοτιδική βάση ή να είναι πιο εκτεταμένη όπως συμβαίνει στην περίπτωση των μεταλλάξεων.^[34]

Η έννοια της φαρμακογονιδιωματικής δεν είναι καινούρια, καθώς πιθανολογείται ότι η πρώτη αναφορά σε αυτή έγινε από τον Πυθαγόρα το 510 π.Χ, όταν παρατήρησε πως η κατανάλωση κουκιών οδηγούσε σε θανατηφόρο αιμολυτική αναιμία μόνο σε μια μερίδα ανθρώπων και όχι στο γενικό σύνολο. Δεν ήταν παρά αιώνες αργότερα που επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη ενός γενετικού αιτιολογικού κληρονομούμενου παράγοντα για το φαινόμενο αυτό, το G6PD ενζύμο.^[53,59]

Έκτοτε, πλήθος παρατηρήσεων ενισχύουν την υποψία συσχέτισης του γενετικού υπόβαθρου με την ανταπόκριση στα φάρμακα. Το 1959, ο Friedrich Vogel να εισαγάγει τον όρο «φαρμακογενετική» Παράλληλα, ο Elliot Vessel και ο George Page παρατήρουν ότι οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες της αντιπυρίνης είναι κατά πολύ περισσότερο κοινές στους μονοζυγωτικούς διδύμους από ότι στους διζυγωτικούς ενώ αντίστοιχες παρατηρήσεις έγιναν και σε μελέτες οικογενειών που φάνηκε να έχουν κοινό πρότυπο ανταπόκρισης στα φάρμακα.^[53, 59]

Σήμερα, στόχος της φαρμακογενετικής είναι η επιλογή του κατάλληλου φαρμάκου και δοσολογικού σχήματος να γίνεται βάσει του γενετικού

προφίλ κάθε ατόμου. Έτσι, μπορεί να προβλέπεται η αποτελεσματικότητα ενός φαρμάκου και η ενδεχόμενη τοξικότητα του. Αν και η εξέλιξη της τεχνολογίας και η ολοκλήρωση της αλληλούχισης του ανθρώπινου γονιδιώματος επιτάχυναν σημαντικά την ταυτοποίηση γενετικών πολυμορφισμών που σχετίζονται με την απόκριση στη φαρμακευτική αγωγή, η εφαρμογή αυτής της γνώσης σε επίπεδο κλινικής πράξης είναι ακόμα περιορισμένη.^[53,59]

Η εφαρμογή των φαρμακογενετικών ευρημάτων στην κλινική πρακτική μέσω ενός διαγνωστικού τεστ εμφανίζει αρκετά εμπόδια τόσο λόγω της ίδιας της φύσης του τεστ που απαιτεί να έχει συγκεκριμένες προϋποθέσεις όσο και λόγω προβλημάτων προερχόμενων από το σύστημα υγείας (έλλειψη προϋπολογισμού και κατάλληλο εκπαιδευμένο προσωπικό).^[53,59]

Μελλοντικός στόχος της Φαρμακογενετικής επιστήμης και της επιστημονικής κοινότητας είναι να αυξηθεί η χρήση της γενετικής πληροφορίας προς όφελος του ανθρώπου και κάθε άνθρωπος να διαθέτει όλη την πληροφορία του γονιδιώματος του ήδη από τα αρχικά στάδια της ζωής του με σκοπό τη χρήση αυτής για τη βέλτιστη διάγνωση και αντιμετώπιση των ασθενειών σε εξατομικευμένο επίπεδο.^[53,59]

1.8.1 Γενετικοί Πολυμορφισμοί στην Επιληψία

Η αντιμετώπιση της επιληψίας μέσω της φαρμακευτικής αγωγής αποτελεί δύσκολο εγχείρημα διότι παρά την σωστή επιλογή του φαρμάκου, η τελική απόκριση και οι ανεπιθύμητες ενέργειες που ενδεχομένως θα εμφανίσει ο κάθε ασθενής λόγω αυτού δεν μπορούν να προβλεφθούν.^[8]

Η γενετική ποικιλομορφία που εμφανίζει ο κάθε άνθρωπος επηρεάζει την απόκριση του στα φάρμακα. Οι αλλαγές της γενετικής πληροφορίας μπορεί να αφορούν σε γονίδια που σχετίζονται με την ίδια την ασθένεια όπως κανάλια ιόντων ή με γονίδια που κωδικοποιούν μεταβολικά ένζυμα και άρα επηρεάζουν τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες του φαρμάκου.^[8]

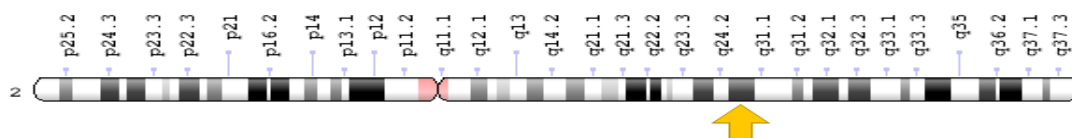
Στην επιληψία, αρκετά γονίδια έχουν συσχετιστεί με πολλούς τύπους επιληψίας και επιληπτικών συνδρόμων και έχουν χρησιμοποιηθεί ως στόχοι για την επιλογή της θεραπείας. Ενδεικτικά, αναφέρεται η περίπτωση του συνδρόμου ανεπάρκειας GLUT-1, το οποίο οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο SLC2A1 που κωδικοποιεί τον πρωτεϊνικό μεταφορέα της γλυκόζης μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Λόγω των μεταλλάξεων αυτών η ροή γλυκόζης στον εγκέφαλο είναι μειωμένη. Τα σύνδρομο αυτό χαρακτηρίζεται από επιληπτικές κρίσεις και μάλιστα ανθεκτικές στη θεραπεία. Η ενδεδειγμένη θεραπευτική προσέγγιση για το σύνδρομο αυτό είναι η υιοθέτηση της κετονικής διαίτας. Η αξία της γνώσης του γενετικού υπόβαθρου για την σωστή και αποτελεσματική αντιμετώπιση της επιληψίας είναι φανερή.^[8]

1.8.2 Γονίδιο SCN1A

Σύμφωνα με τις διαθέσιμες βάσεις δεδομένων όπως η OMIM, η EpilepsyGene, η HGMD αλλά και τις σχετικές δημοσιεύσεις στο Pubmed, υπάρχουν 977 γονίδια σχετιζόμενα με την επιληψία, εκ των οποίων τα 60 αφορούν διαύλους ιόντων.^[70]

Η σπουδαιότητα των διαύλων ιόντων και ειδικότερα των διαύλων νατρίου για τη λειτουργία του νευρικού συστήματος έχει ήδη αναλυθεί σε άλλη ενότητα. Ένα από τα γονίδια που εμπλέκεται στην κωδικοποίηση των τασσεοευαίσθητων διαύλων νατρίου, δηλαδή των διαύλων που ενεργοποιούνται μέσω αλλαγών στο δυναμικό της μεμβράνης, είναι το γονίδιο *SCN1A*.

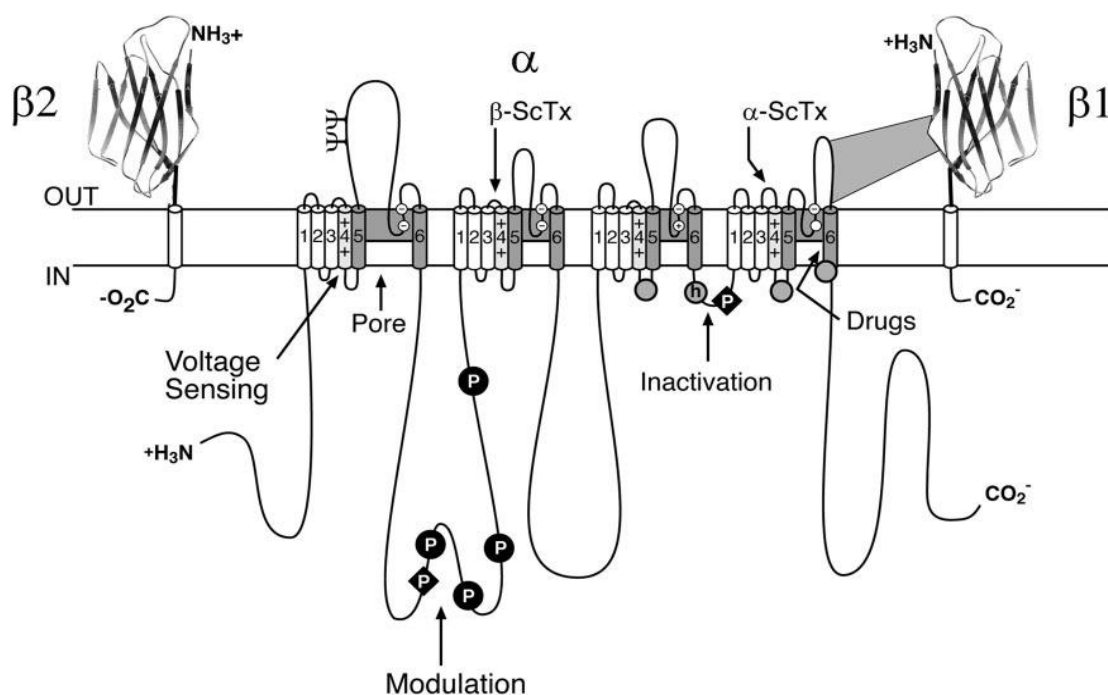
Το γονίδιο *SCN1A* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 2 στη θέση 2q24.3 στο μακρύ βραχίονα και αποτελείται από 26 εξώνια, 6030 ζευγών βάσεων.



Εικόνα 8: Κυτταρογενετική θέση του γονιδίου *SCN1A*. (<httpsghr.nlm.nih.gov/gene/SCN1A#location>).

Το γονίδιο *SCN1A* κωδικοποιεί την α-υπομονάδα των τασεοευαίσθητων διαύλων νατρίου Nav1.1 , οι οποίοι εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στο κεντρικό νευρικό σύστημα και ειδικότερα στο κυτταρικό σώμα και στους δενδρίτες των νευρώνων αλλά και στα καρδιακά μυοκύτταρα.^[21,70]

Δομικά, οι τασεοευαίσθητοι διαύλοι νατρίου είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες αποτελούνται από μια α-υπομονάδα που σχηματίζει τον πόρο του διαύλου και δυο μικρότερες βοηθητικές β-υπομονάδες. Υπάρχουν εννέα ισομορφές των α-υπομονάδων ($\text{Nav1.1} - \text{Nav1.9}$) οι οποίες εμφανίζουν διαφορετικό πρότυπο έκφρασης ανάλογα με τον ιστό (Εικόνα 9).^[21]



Εικόνα 9: Δομή τασεοευαίσθητου διαύλου νατρίου ^[21]

Κάθε α-υπομονάδα αποτελείται από τέσσερις ομόλογες επικράτειες (I-IV). Κάθε δομική επικράτεια απαρτίζεται από έξι διαμεμβρανικές α-έλικες (S1-S6) και έναν βρόχο μεταξύ των S5-S6 α-ελίκων. Επιπλέον, η S4 έλικα διαθέτει θετικά φορτισμένα αμινοξέα ανα τρεις θέσεις, χαρακτηριστικό που προσδίδει στη συγκεκριμένη έλικα το ρόλο του αισθητήρα της διαφοράς τάσης της μεμβράνης. Τέλος, ο βρόχος που

συνδέει τις επικράτειες III και IV λειτουργεί ως απενεργοποιητής του διαύλου καθώς φράζει τον πόρο και σταματά τη ροή του νατρίου οδηγώντας με αυτό τον τρόπο το δυναμικό του κυττάρου στην κατάσταση ηρεμίας (Εικόνα 9).^[21]

Το γονίδιο *SCN1A* αποτελεί το πιο συχνά σχετιζόμενο με την επιληψία γονίδιο με περισσότερες από 1257 μεταλλάξεις να έχουν ταυτοποιηθεί σε αυτό. Μεταλλάξεις στο *SCN1A* γονίδιο ευθύνονται για την εκδήλωση πολλών μορφών επιληψίας με ευρύ φάσμα φαινοτύπων από σοβαρές περιπτώσεις όπως είναι το συνδρόμο Dravet (Σοβαρή Μυοκλονική Επιληψία της Βρεφικής ηλικίας- SMEI) αλλά και ηπιότερες μορφές όπως η γενικευμένη επιληψία με επιπεπλεγμένους πυρετικούς σπασμούς (GEFS+). Οι παρατηρούμενες μεταλλάξεις μπορεί να οδηγούν στην απώλεια λειτουργίας της πρωτεΐνης ή να είναι συνώνυμες με αποτέλεσμα ελάχιστη επίδραση στη λειτουργία της. Επίσης, εκτός από το είδος της μετάλλαξης σημαντικό ρόλο για τον φαινότυπο παίζει και η θέση στην οποία εντοπίζονται (Εικόνα 10).^[70]

Gene	Phenotype	Inheritance	Mutations	Functional alteration
<i>SCN1A</i>	SME	<i>de novo</i> (mostly), inherited	42.3% cases have missense mutations 57.7% cases have destructive mutations	Missense mutations in pore region (54.1%) lead to LOF or pLOF, in other regions can cause pLOF, G-LOF, and LOF
	PE and/or FS+	<i>de novo</i> , inherited	74.5% cases have missense mutations 25.5% cases have destructive mutations	Missense mutations in pore region (42.1%) lead to LOF or pLOF, in other regions can cause pLOF, G-LOF, and LOF
	GE and/or FS+	Inherited (mostly), <i>de novo</i>	87.0% cases have missense mutations 13.0% cases have destructive mutations	Milder functional alterations, such as increased excitability, decreased excitability, pLOF, or pure GOF, but no LOF and G-LOF

Εικόνα 10: Μεταλλάξεις σε γονίδια σχετιζόμενα με την επιληψία και οι λειτουργικές επιπτώσεις τους.^[70]

Εκτός των μεταλλάξεων που ευθύνονται για την εκδήλωση της επιληψίας, πλήθος γενετικών πολυμορφισμών έχουν μελετηθεί όσον αφορά στην ανταπόκριση των επιληπτικών ασθενών στα αντιεπιληπτικά φάρμακα.

Τρεις γενετικοί πολυμορφισμοί που έχουν συσχετιστεί με την ανταπόκριση στη θεραπεία είναι οι: rs2298771, rs3812718 και rs10188577.

1.8.2.1 Ο πολυμορφισμός rs2298771 του γονιδίου SCN1A

Ο πολυμορφισμός rs2298771 εντοπίζεται στο εξώνιο 16 του γονιδίου και αφορά στην αλλαγή μιας αδενίνης (A) σε γουανίνη (G). Η αλλαγή αυτή προκαλεί την αμινοξική αντικατάσταση της Θρεονίνης σε Αλανίνη στη θέση 1067.^[68]

Πολλές μελέτες έχουν γίνει με στόχο τη συσχέτιση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με την απόκριση στην αντιεπιληπτική αγωγή αλλά και την εμφάνιση της νόσου, με τα αποτελέσματα να ποικίλλουν μεταξύ των πληθυσμών.

Η μελέτη των Lahkan et al. ^[37] έδειξε ότι ο γονότυπος AG σχετίζεται με την εμφάνιση της επιληψίας στον Ινδικό πληθυσμό, αποτέλεσμα που επιβεβαιώνεται και στη μελέτη των Ebrahimi et al. ^[28] που αφορούσε τον Ιρανικό πληθυσμό.

Σχετικά με την απόκριση στη θεραπεία, οι Haerian et al. ^[33] δεν αναφέρουν συσχέτιση του πολυμορφισμού με την απόκριση στην αντιεπιληπτική θεραπεία σε ασθενείς που μελετήθηκαν από τη Μαλαισία και το Hong Kong. Επιπλέον, το ίδιο παρατηρείται σε μελέτη που έγινε σε ασθενείς Αλβανικής καταγωγής. ^[26]

Αντιθέτως, οι Wang et al. ^[68] στον Κινέζικο πληθυσμό, παρατήρησαν πως υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού με την απόκριση στη θεραπεία, με τους ομόζυγους ασθενείς για το A αλληλόμορφο να έχουν αυξημένα ποσοστά ελευθερίας κρίσεων με τη φαρμακευτική αγωγή σε σύγκριση με του ομόζυγους για το G αλληλόμορφο. Προτείνοντας ότι το G αλληλόμορφο αποτελεί δείκτη μειωμένης ανταπόκρισης. Ωστόσο, οι

Bertok et al. ^[13] αν και βρήκαν συσχέτιση του πολυμορφισμού με την απόκριση στη θεραπεία κατέληξαν στο αντίθετο συμπέρασμα, ότι το G αλληλόμορφο έχει προστατευτικό ρόλο έναντι της επιληψίας και οι ασθενείς που φέρουν έστω ένα G αλληλόμορφο έχουν περισσότερες πιθανότητες να είναι ελεύθεροι κρίσεων.

1.8.2.2 Ο πολυμορφισμός rs3812718 του γονιδίου SCN1A

Ο πολυμορφισμός rs3812718 (IVS5-91) εντοπίζεται στην 5' περιοχή του ιντρονίου 5 του γονιδίου *SCN1A*. Πρόκειται για μια αλλαγή μιας γουανίνης σε αδενίνη, η οποία επηρεάζει το εναλλακτικό μάτισμα του μεταγραφικού προϊόντος του γονιδίου. Έχουν περιγραφεί δυο εναλλακτικές μορφές ματίσματος του εξωνίου 5, από τις οποίες προκύπτει η νεογνική μορφή (5N) και η ενήλικη μορφή (5A), οι οποίες συνεκφράζονται στον ενήλικο εγκέφαλο. Ο πολυμορφισμός rs3812718 επηρεάζει τις αναλογίες των δυο μορφών, με το G αλληλόμορφο να επιτρέπει την έκφραση και των δυο ενώ το A αλληλόμορφο να μειώνει την 5N μορφή συγκριτικά με την 5A. ^[5]

Πειραματικά, η μορφή 5N του διαύλου νατρίου φαίνεται ότι μεταπίπτει πιο γρήγορα στην ενεργοποιημένη κατάσταση. Εφόσον, ο δίαυλος νατρίου εντοπίζεται κυρίως στους GABAεργικούς νευρώνες που έχουν ανασταλτική δράση, η γρήγορη μετάπτωση στην ενεργή κατάσταση ενισχύει το ανασταλτικό σήμα άρα αποτρέπει την εκδήλωση επιληπτικών κρίσεων. Αυτός πιθανόν είναι ο μηχανισμός μέσω του οποίου ο πολυμορφισμός διαταράσσει την ανασταλτική δράση των νευρώνων, ευνοώντας την υπερδιεγερσιμότητα τους.^[10]

Σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού με την εμφάνιση επιληψίας έχει αναφερθεί σε μελέτες που έγιναν με ασθενείς από τη Μαλαισία, το Hong-Kong, την Ινδία, την Ιαπωνία αλλά και από Καυκάσιους ασθενείς, με το G αλληλόμορφο να προσδίδει προστατευτικό ρόλο. ^[4, 5, 33]

Ωστόσο, όσον αφορά στην απόκριση στην αντιεπιληπτική θεραπεία, η πλειοψηφία των μελετών που έχουν γίνει σε ασθενείς από χώρες όπως η Ιταλία και η Ινδία δεν έδειξαν να υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού

με την ανθεκτικότητα σε αυτή. [33, 40] Εξαιρέση αποτελούν οι μελέτες των Abe et al. [4] και των Angelopoulou et al. [5] όπου φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού και την απόκριση στην φαρμακευτική αγωγή, υποστηρίζοντας ότι το A αλληλόμορφο εμφανίζεται συχνότερα στους ανθεκτικούς επιληπτικούς ασθενείς.

1.8.2.3 Ο πολυμορφισμός rs10188577 του γονιδίου SCN1A

Ο πολυμορφισμός rs10188577 εντοπίζεται στο ιντρόνιο 1 του γονιδίου SCN1A και αφορά στην αντικατάσταση μιας θυμίνης (T) με μια Κυτοσίνη (C). Αν και υπάρχουν λίγες μελέτες που εξετάσει την επίδραση του στην εμφάνιση της επιληψίας και στη απόκριση στη θεραπεία, τα δεδομένα δείχνουν συσχέτιση με την ασθένεια τόσο σε Αυστραλούς όσο και σε Κινέζους, με το C αλληλόμορφο να έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση της νόσου.[71,72]

Ειδικό Μέρος

1.9 Σκοπός της Μελέτης

Η επιληψία είναι μια ασθένεια η οποία δεν αντιμετωπίζεται επαρκώς σε όλους τους ασθενείς με την διαθέσιμη αντιεπιληπτική αγωγή. Σε αυτό, είναι γνωστό ότι παίζουν ρόλο και γενετικοί παράγοντες καθώς, πολλοί πολυμορφισμοί γονιδίων έχουν συσχετιστεί τόσο με την εμφάνιση της ασθένειας όσο και με την απόκριση στην αγωγή.

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι η μελέτη τριών πολυμορφισμών στο γονίδιο *SCN1A* σε επιληπτικούς ασθενείς από την Ελλάδα που εμφανίζουν σύνθετες εστιακές επιληπτικές κρίσεις και η συσχέτιση τους με την εμφάνιση της νόσου και την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή με στόχο την πιθανή ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Δείγματα Ασθενών

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη πάσχουν από επιληψία.

Όλοι οι επιληπτικοί ασθενείς εισήχθησαν στη μελέτη προοπτικά κατά την προγραμματισμένη επίσκεψη τους στα εξωτερικά ιατρεία της νευροχειρουργικής κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός», (Διευθυντής: Καθηγητής Δαμιανός Σακκάς) και στο ιδιωτικό ιατρείο του Καθηγητή Στέργιου – Στυλιανού Γκατζώνη, Νευρολόγου Α' Νευροχειρουργικής Κλινικής.

Οι ασθενείς συμμετείχαν στη μελέτη εθελοντικά, αφού είχαν διαβάσει και υπογράψει το ειδικό έντυπο συγκατάθεσης (Informed Consent- IC). Το συγκεκριμένο έντυπο έχει δημιουργηθεί με στόχο ο ασθενής μέσω της ανάγνωσης του να κατανοεί τον σκοπό της μελέτης, το είδος του δείγματος που καλείται να δώσει και την πορεία αυτού μέσα στη μελέτη, καθώς και την εμπιστευτικότητα και την ανωνυμοποίηση που χαρακτηρίζουν την όλη διαδικασία. Αφού, η ενημέρωση του ασθενούς είναι πλήρης, υπογράφει το IC τόσο ο ίδιος όσο και ο υπεύθυνος ιατρός.

Στη συνέχεια, οι ασθενείς καλούνται να συμπληρώσουν ένα ειδικά σχεδιασμένο για τη μελέτη ερωτηματολόγιο (CRF) με τη βοήθεια του ιατρού. Το ερωτηματολόγιο περιέχει πληροφορίες σχετικά με:

- ❖ Κοινωνικά – δημογραφικά στοιχεία του ασθενούς
- ❖ Οικογενειακό ιστορικό
- ❖ Ατομικό ιστορικό
- ❖ Στοιχεία σχετικά με το κάπνισμα
- ❖ Ιστορικό Φαρμακοθεραπείας

Τα δείγματα των ασθενών και το ερωτηματολόγιο φέρουν μόνο τον αριθμό του κάθε ασθενούς και καμία πληροφορία για την ταυτότητα του. Το μοναδικό έντυπο που έχει το όνομα του ασθενούς είναι το έντυπο συγκατάθεσης, το οποίο παραμένει στο ιατρείο και στο οποίο δεν αναγράφεται ο κωδικός του επομένως δεν υπάρχει ιχνηλασιμότητα.

Με αυτόν τον τρόπο, τα δείγματα ανωνυμοποιούνται και όταν δείγματα και ερωτηματολόγια μεταφέρονται στο εργαστήριο της Ερευνητικής Ομάδας Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιοματικής, του Τμήματος Φαρμακευτικής (Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ). Ουδεμία προσωπική πληροφορία για τον ασθενή δεν τηρείται από το Τμήμα.

2.1.1 Κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού ασθενών

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν μόνο οι ασθενείς που πληρούσαν τις παρακάτω προϋποθέσεις :

- ❖ Ύπαρξη ενυπόγραφης συγκατάθεσης του ασθενούς για εθελοντική συμμετοχή
- ❖ Άνδρες – Γυναίκες ηλικίας >18ετών
- ❖ Βέβαιη διάγνωση επιληψίας με σύνθετες εστιακές επιληπτικές κρίσεις
- ❖ Λήψη φαρμακευτικής αγωγής με σκευάσματα που στοχεύουν τους τασεοευαίσθητοι διαύλους νατρίου
- ❖ Απουσία άλλης παθολογικής κατάστασης που ενδεχομένως να επηρεάζει το αποτέλεσμα της αντιεπιληπτικής αγωγής ή τη συμμόρφωση του ασθενούς σε αυτή

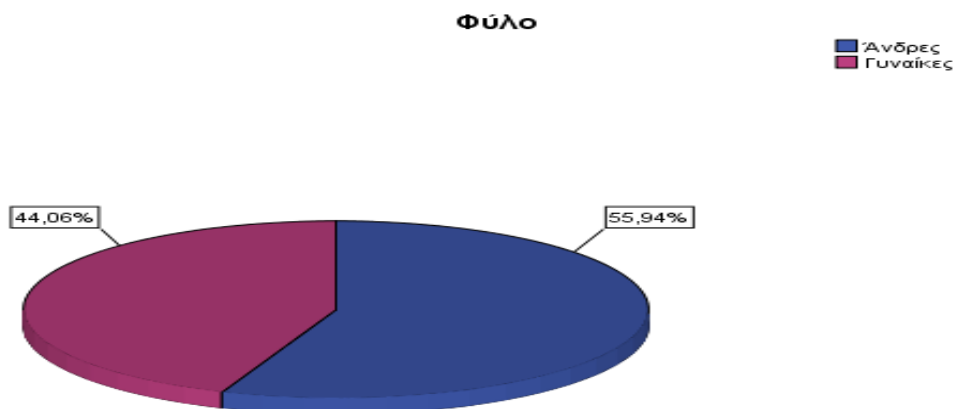
Ενώ από τη μελέτη απορρίφθηκαν οι ασθενείς για τους οποίους ίσχυαν τα παρακάτω:

- ❖ Άνδρες – Γυναίκες ηλικίας <18ετών
- ❖ Νοητική υστέρηση (IQ<50)
- ❖ Μη επιβεβαιωμένη διάγνωση επιληψίας
- ❖ Αδυναμία καταμέτρησης των κρίσεων (πολλαπλές κρίσεις, status, κρίσεις στον ύπνο)
- ❖ Λήψη φαρμακευτικών σκευασμάτων για άλλη πάθηση με τον ίδιο μηχανισμό δράσης

2.1.2. Δημογραφικά στοιχεία ασθενών

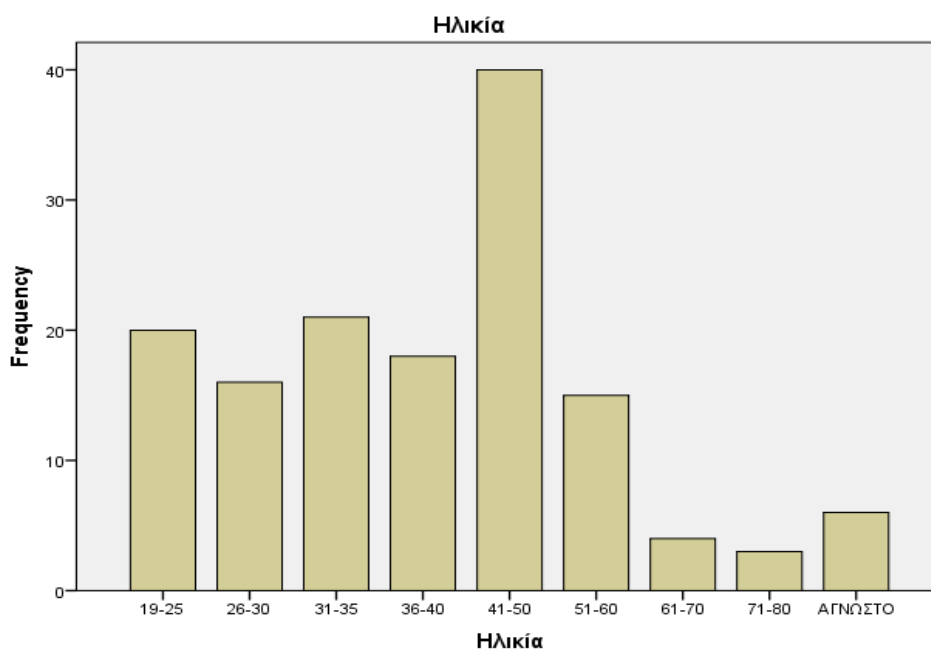
Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 143 ασθενείς με σύνθετες εστιακές επιληπτικές κρίσεις, άνδρες-γυναίκες ηλικίας άνω των 18ετών.

Συγκεκριμένα, συμμετείχαν 80 άνδρες και 63 γυναίκες (Εικόνα 2.1).



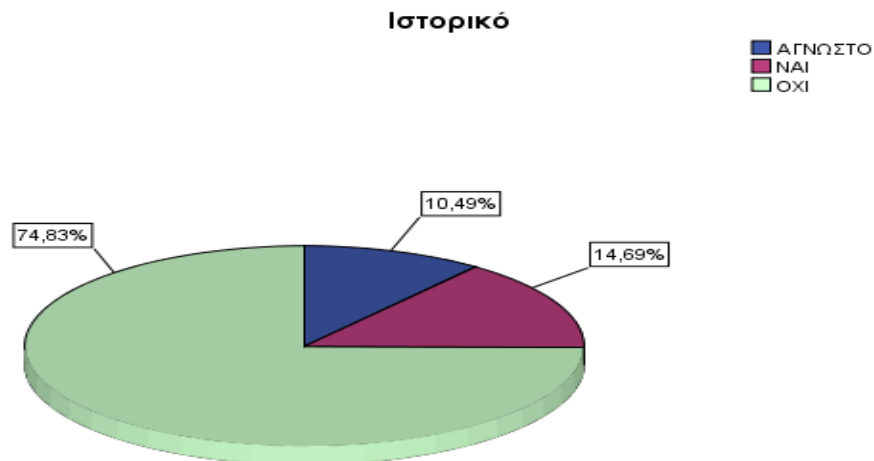
Εικόνα 2.1: Ποσοστό συμμετοχής ασθενών στη μελέτη ανάλογα με το φύλο.

Επιπλέον, οι ηλικίες που παρατηρούνται στο δείγμα είναι από 18 έως 80ετών. Η ηλικία δεν ήταν γνωστή σε 6 ασθενείς. (Εικόνα 2.2)



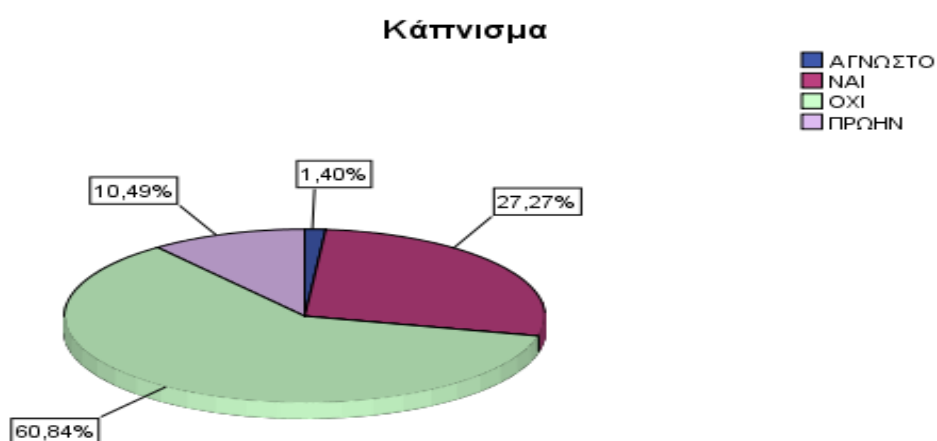
Εικόνα 2.2: Ηλικιακή κατανομή ασθενών

Η πλειοψηφία των ασθενών (107/143) με ποσοστό 74,83% δεν εμφανίζει οικογενειακό ιστορικό της νόσου ενώ μόλις οι 21/143 ασθενείς με ποσοστό 14,69% έχουν κάποιο πρόσωπο διαγνωσμένο με επιληψία στο οικογενειακό τους περιβάλλον. Σε 15 ασθενείς δεν υπάρχει διαθέσιμη η συγκεκριμένη πληροφορία (Εικόνα 2.3).



Εικόνα 2.3: Κατανομή ποσοστού εμφάνισης οικογενειακού ιστορικού της νόσου.

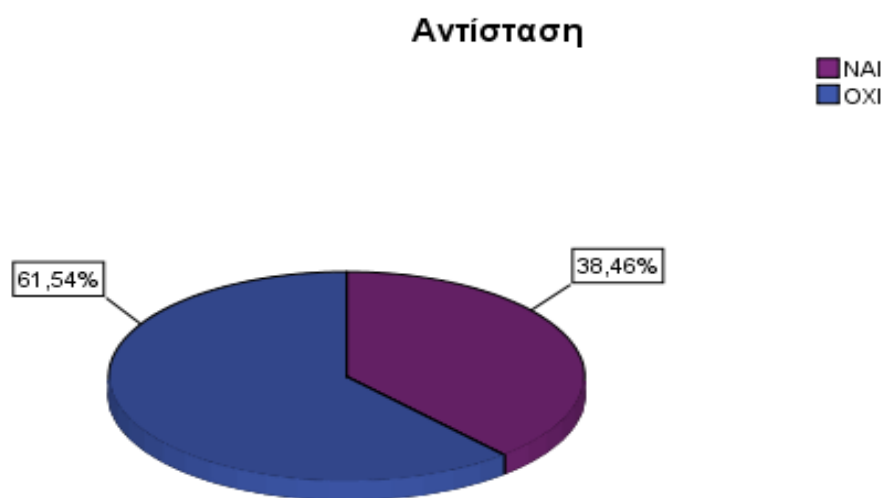
Επιπλέον, στην εικόνα 2.4 φαίνεται η κατανομή των ασθενών σε καπνιστές, μη καπνιστές και πρώην καπνιστές.



Εικόνα 2.4: Ποσοστά καπνιστών, μη-καπνιστών και πρώην καπνιστών στο δείγμα των ασθενών.

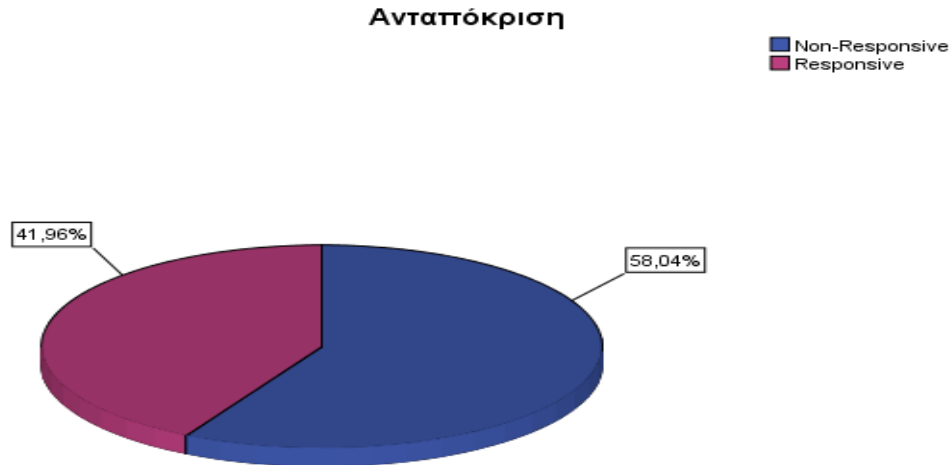
Καπνιστές είναι οι 39/143 ασθενείς, μη-καπνιστές είναι οι 87/143 ασθενείς, πρώην καπνιστές είναι οι 15/143 ασθενείς ενώ σε 2 ασθενείς δεν είναι γνωστή αυτή η πληροφορία.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών, 61,54%, δεν έχει εμφανίσει αντίσταση, δηλαδή μη-απόκριση σε κάποιο αντιεπιληπτικό φάρμακο που δρα στους τασεοευαίσθητους διαύλους νατρίου ενώ το 38,46% έχει εμφανίσει αντίσταση στη συγκεκριμένη κατηγορία φαρμάκων (Εικόνα 2.5).



Εικόνα 2.5: Ποσοστό αντίστασης των ασθενών σε αντιεπιληπτικά φάρμακα που δρουν έναντι των τασεοευαίσθητων διαύλων νατρίου.

Τέλος, η πλειοψηφία των ασθενών του δείγματος χαρακτηρίζονται ως μη-αποκρινόμενοι στη φαρμακευτική αγωγή, η οποία αποτελείται από τον κατάλληλο συνδυασμό 2 ή περισσότερων αντιεπιληπτικών φαρμάκων (Εικόνα 2.6).



Εικόνα 2.6: Ποσοστά απόκρισης των ασθενών στη λαμβανόμενη φαρμακευτική αγωγή.

2.2 Μέθοδοι

2.2.1 Λήψη δείγματος και επεξεργασία

Από κάθε ασθενή έγινε λήψη αίματος στην προγραμματισμένη του επίσκεψη στο ιατρείο. Ελήφθησαν 8ml περιφερικού αίματος τα οποία μεταφέρθηκαν σε δύο φιαλίδια, ένα με αντιπηκτικό EDTA (3,5ml) και ένα χωρίς αντιπηκτικό (4,5ml).

Στη συνέχεια, τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο εντός κατάλληλου δοχείου μεταφοράς για τη διατήρηση της θερμοκρασίας. Ο μέγιστος χρόνος παραλαβής ήταν δυο ώρες από την ώρα της λήψης.

Μετά την παραλαβή, ακολουθεί η αρχειοθέτηση των πληροφοριών του ερωτηματολογίου στην ηλεκτρονική βάση του εργαστηρίου και η επεξεργασία και αποθήκευση του δείγματος. Συγκεκριμένα για την επεξεργασία ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

1. Από το φιαλίδιο με το ολικό αίμα και αντιπηκτικό EDTA (γενική αίματος) φυλάσσονται 200μl σε ένα φιαλίδιο τύπου erpendorf για να χρησιμοποιηθούν για την απομόνωση DNA με κατάλληλο kit.

2. Τα δυο φιαλίδια με το ολικό αίμα, γενικής αίματος και πήξης (χωρίς αντιπηκτικό), φυγοκεντρούνται για 10 λεπτά στις 3.000rpm.
3. Μετά τη φυγοκέντρωση, από τη γενική αίματος φυλάσσεται το Buffy coat, δηλαδή το κλάσμα του αίματος που περιέχει τα έμμορφα συστατικά (λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια), ενώ το πλάσμα απορρίπτεται.
4. Από το φιαλίδιο πήξης, φυλάσσεται ξεχωριστά ο ορός και το πήγμα.
5. Ο ορός, το πήγμα και το Buffy coat αποθηκεύονται σε ξεχωριστά φιαλίδια στους -80°C .

Για την επεξεργασία του αίματος μετά την αιμοληψία χρησιμοποιήθηκαν:

- ❖ Σωληνάρια τύπου Eppendorf 1,5mL (Microtube Eppendorf)
- ❖ Πιπέτες Παστερ 1mL (Nerbe Plus, Γερμανία)
- ❖ Φυγόκεντρος (4225 Centrifuge) (Εικόνα 2.7)



Εικόνα 2.7: Φυγόκεντρος 4225

2.2.2 Απομόνωση DNA

Για την απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκαν οι στήλες Invitrogen PureLink® Genomic DNA Mini Kit της εταιρείας Thermo Fisher Scientific.

Για την απομόνωση του DNA από το δείγμα αίματος χρησιμοποιήθηκαν:

- ❖ Invitrogen PureLink® Genomic DNA Mini Kit το οποίο περιείχε:
 - Πρωτεΐνάση K
 - RNase A
 - Digestion Buffer
 - Lysis/ Binding Buffer
 - Wash Buffer 1 (Διάλυμα έκπλυσης)
 - Wash Buffer 2 (Διάλυμα έκπλυσης)
 - Elution Buffer (Διάλυμα έκλουσης)
 - PureLink® Spin Column
 - PureLink® Collection Tubes (Σωλήνες περισυλλογής)
- ❖ Απόλυτη Αιθανόλη (96-100%, Merck, Γερμανία)
- ❖ Απεσταγμένο και αποστειρωμένο νερό, ελεύθερο νουκλεασών και πυρετογόνων
- ❖ Επωαστήρας- Heat Block (Techne DRI-BLOCK DB.3, Αγγλία)
- ❖ Συσκευή Vortex (Vibrofix VF1 ELEctronic, IKA®-Labortechnik, Janke & Kunkel, Γερμανία)
- ❖ Μικροφυγόκεντρος (Sorvall/Mc 12V, DU PONT, Γαλλία)
- ❖ Πιπέτες ακριβείας 2-20μL, 10-100μL και 100-1000μL (Eppendorf®)
- ❖ Αναλώσιμα στόμια πιπेटών 100μL και 1000μL (Saarstedt, Γερμανία)
- ❖ Σωληνάρια τύπου Eppendorf 1,5mL (Microtube Eppendorf)

2.2.2.1 Πρωτοκόλλο

- Το ολικό αίμα (200μl) που έχει αποθηκευτεί στους -20°C, αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να ξεπαγώσει
- Ρυθμίζεται το Heat Block στους 55°C
- Προσθήκη 20μl πρωτεΐνάσης K στο δείγμα
- Προσθήκη 20μl RNase A στο δείγμα και έντονη ανάδευση (vortex)
- Αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 2'
- Προσθήκη 200μl PureLinkR Genomic Lysis/Bindind Buffer και vortex

- Επώαση στους 55°C για 10’
- Προσθήκη 200μl 96-100 % αιθανόλης και vortex για 5’’
- Μεταφορά του διαλύματος στη στήλη
- Φυγοκέντρωση για 1’ στα 10.000g ή 12.000rpm
- Τοποθέτηση της στήλης σε νέο tube και προσθήκη 500μl Wash Buffer 1 στη στήλη
- Φυγοκέντρωση για 1’ στα 10.000g ή 12.000rpm
- Τοποθέτηση της στήλης σε νέο tube και προσθήκη 500μl Wash Buffer 2 στη στήλη
- Φυγοκέντρωση για 3’ στα 10.000g ή 12.000rpm
- Απόρριψη του waste tube και μεταφορά της στήλης σε ένα Eppendorf 1,5ml
- Προσθήκη στη στήλη 150μl Elution Buffer
- Φυγοκέντρωση για 1’ στα 10.000g ή 12.000rpm
- Αποθήκευση του tube που περιέχει το DNA στους -20°C

Η αρχή της μεθόδου απομόνωσης βασίζεται στην ειδική σύσταση των μεμβρανών (silica membrane), οι οποίες με τη χρήση ειδικών ρυθμιστικών διαλυμάτων για έκπλυση και ρύθμιση του pH, κατάλληλων συγκεντρώσεων αλάτων και διαδοχικών φυγοκεντρήσεων, κατακρατούν μόνο το DNA από το κυτταρικό εκχύλισμα ενώ οι πρωτεΐνες και άλλες προσμίξεις διαπερνούν τη μεμβράνη και αποβάλλονται. Το DNA εκλούεται σε ελαφρώς αλκαλικό διάλυμα (Elution Buffer) ή νερό και αποθηκεύεται στους -20°C ή στους -80°C για μακροχρόνια φύλαξη.

2.2.3 Φωτομέτρηση Δειγμάτων

Η φωτομέτρηση είναι μια μέθοδος ελέγχου καθαρότητας και μέτρησης της ποσότητας του λαμβανόμενου DNA μετά την απομόνωση από τα δείγματα.^[55]

Η μέθοδος της φασματοφωτομετρίας βασίζεται στην ιδιότητα των μορίων να απορροφούν εκλεκτικά μέρος της ακτινοβολίας του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αλληλεπιδρά με την ύλη οδηγώντας στη διέγερση των ηλεκτρονίων των εξωτερικών στιβάδων και στην παροδική μετάπτωσή τους σε μοριακά

τροχιακά υψηλότερων ενεργειών. Κατά την αποδιέγερσή τους τα μόρια αποδίδουν την ενέργεια που έχει απορροφηθεί είτε με τη μορφή θερμότητας είτε με τη μορφή φωσφορισμού ή φθορισμού. Στη φασματοφωτομετρία υπεριώδους - ορατού (Ultraviolet/Visible, UV/Vis) με μήκος κύματος 200-750 nm, κάθε χημική ένωση έχει ένα χαρακτηριστικό μήκος κύματος (λ_{max}) στο οποίο εμφανίζει τη μέγιστη απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Τα νουκλεϊκά οξέα εμφανίζουν το μέγιστο της απορρόφησής τους στα 260 nm. Κατά τη φωτομέτρηση μετριέται η απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο λ_{max} και με βάση το νόμο Lambert-Beer υπολογίζεται, η συγκέντρωση των νουκλεϊκών οξέων με βάση την απορρόφηση αυτή. [55]

Για την εκτίμηση της καθαρότητας του δείγματος μετριέται η απορρόφηση σε δύο μήκη κύματος, στα 260 nm και στα 280 nm και στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος των δύο απορροφήσεων A_{260nm}/A_{280nm} [55]:

- Λόγος $A_{260nm}/A_{280nm} = 1,8$ είναι χαρακτηριστικός διαλύματος καθαρού DNA και συνεπώς ο λόγος A_{260nm}/A_{280nm} μεταξύ 1,8 και 2 είναι αποδεκτός.
- Τιμές του λόγου $A_{260nm}/A_{280nm} < 1,7$ είναι ενδεικτικές της ύπαρξης προσμίξεων, συνήθως είτε πρωτεϊνών είτε φαινόλης, εφόσον χρησιμοποιήθηκε κατά τη διαδικασία της απομόνωσης DNA.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του DNA βασίζεται στο νόμο Lambert-Beer και αναμένεται συγκέντρωση DNA εντός του εύρους 5 έως 50 ng/ μ L καθώς σε αυτές τις συγκεντρώσεις εμφανίζει γραμμική συσχέτιση με την απορρόφηση στα 260nm.[55]

2.2.3.1 Πρωτόκολλο φασματοφωτομέτρησης των δειγμάτων

Προσθήκη 100 μ L water for injection στην κυψελίδα

- Φωτομέτρηση λευκού δείγματος
- Προσθήκη 5 μ L DNA στην κυψελίδα και ανακίνηση

•Φωτομέτρηση δείγματος DNA

Για τη φωτομέτρηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν:

- ❖ Water for Injection
- ❖ Κυψελίδες (Eppendorf)
- ❖ Φωτόμετρο BioPhotometer (Eppendorf)

Το φασματοφωτόμετρο είναι το όργανο που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της απορρόφησης της μονοχρωματικής ακτινοβολίας. Στο πείραμά μας χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο απλής δέσμης BioPhotometer (Eppendorf, Germany) και αποτελείται από:

- μία πηγή ακτινοβολίας
- έναν επιλογέα μήκους κύματος, που απομονώνει μονοχρωματική ακτινοβολία από το σύνολο του φάσματος που εκπέμπει η πηγή ακτινοβολίας
- ένα ανιχνευτή, που μετατρέπει το εξερχόμενο από την κυψελίδα μονοχρωματικό φως σε ηλεκτρικό ρεύμα
- ένα όργανο καταγραφής, που περιλαμβάνει μια αναλογική ή ψηφιακή οθόνη στην οποία εμφανίζονται οι μετρήσεις της απορρόφησης.

2.2.4 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)

Αφού έχει ελεγχθεί η καθαρότητα του DNA που έχει απομονωθεί από τα δείγματα, ακολουθεί η διαδικασία της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR).

Η PCR αποτελεί μια μέθοδο ιδιαίτερα αποτελεσματική για την *in vitro* απομόνωση και πολλαπλασιασμό μιας συγκεκριμένης νουκλεοτιδικής αλληλουχίας DNA σε μεγάλες ποσότητες. Χαρακτηρίζεται από μεγάλη ταχύτητα και ακρίβεια και χρησιμοποιείται ευρέως για την ανίχνευση και ταυτοποίηση γονιδίων. Για μια επιτυχημένη PCR απαιτείται η ύπαρξη των εξής στοιχείων ^[47]:

- Η επιθυμητή για πολλαπλασιασμό αλληλουχία γενωμικού DNA.
- Οι συνθετικοί νουκλεοτιδικοί εκκινητές (primers). Πρόκειται για ολιγονουκλεοτίδια μήκους περίπου 20-30 βάσεων, συμπληρωματικά των αλληλουχιών του 3' άκρου του κάθε κλώνου, περικλείοντας έτσι το τμήμα DNA που θέλουμε να πολλαπλασιαστεί.
- Η DNA πολυμεράση, ένζυμο υπεύθυνο για τη σύνθεση της αλληλουχίας που είναι συμπληρωματική προς την αλληλουχία στόχο.
- Τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια (dNTPs)
- Ιόντα μαγνησίου Mg^{2+}
- Ρυθμιστικό διάλυμα

Η αντίδραση πραγματοποιείται στη συσκευή του θερμικού κυκλοποιητή (PCR Thermal Cycler), η οποία ρυθμίζει με ακρίβεια τη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της αντίδρασης.^[47]

Μία τυπική διαδικασία PCR περιλαμβάνει τρία στάδια:

- ❖ Την αποδιάταξη του DNA (denaturation)
- ❖ Την προσαρμογή των εκκινητών στην αλληλουχία στόχο (annealing)
- ❖ Τον πολυμερισμό του DNA (elongation)

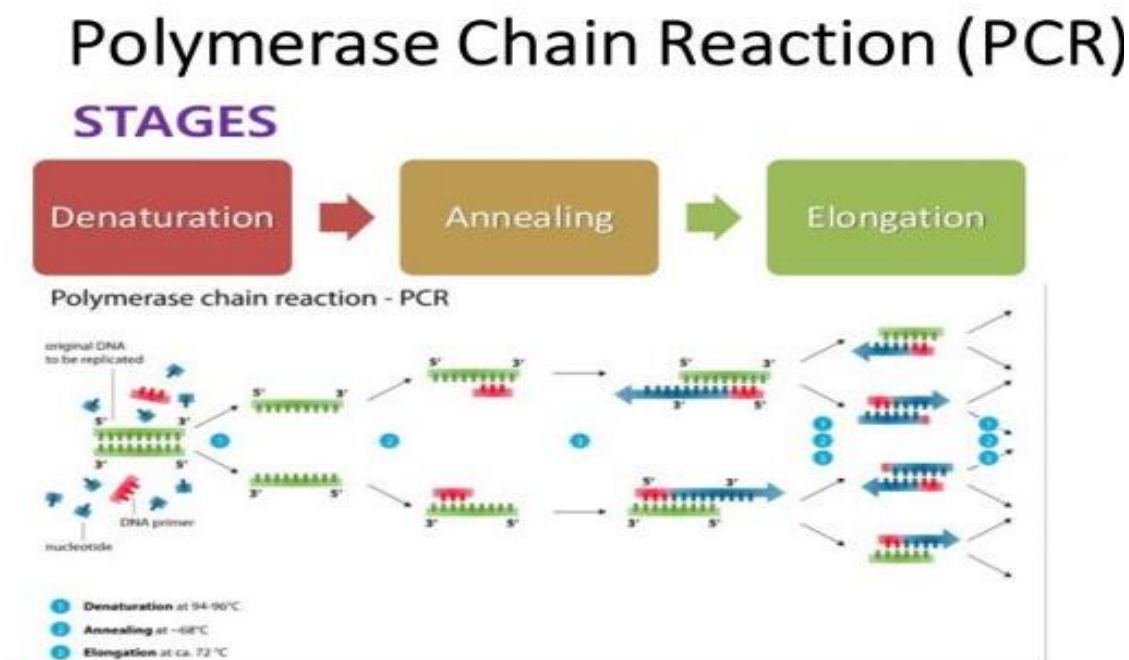
τα οποία επαναλαμβάνονται 25-40 φορές κατά τη διάρκεια μιας αντίδρασης PCR.

Το πρώτο βήμα κάθε κύκλου είναι η θερμική αποδιάταξη (template denaturation) της δίκλωνης αλυσίδας, που επιτυγχάνεται σε θερμοκρασία 94-95°C και οδηγεί στο σχηματισμό 2 μονόκλωνων DNA.^[47]

Το επόμενο βήμα περιλαμβάνει την πρόσδεση των εκκινητών (primer annealing) στις συμπληρωματικές περιοχές του DNA στόχου, σε χαμηλότερη θερμοκρασία (50-60°C) κατάλληλη για τον υβριδισμό.^[47]

Τέλος, το τρίτο στάδιο είναι η επιμήκυνση της αλυσίδας (chain elongation) από την DNA πολυμεράση. Η θερμοκρασία αυξάνεται στη βέλτιστη θερμοκρασία για την καταλυτική δράση της πολυμεράσης (συνήθως 72°C). Ξεκινώντας από τους υβριδισμένους εκκινήτες, η πολυμεράση προσθέτει dNTPs συμπληρωματικά ως προς το μονόκλωνο DNA, με κατεύθυνση 5'-3'. Σε κάθε νέο κύκλο, ο αριθμός των αντιγραμμένων αλληλουχιών αυξάνεται εκθετικά (θεωρητικά 2ⁿ), καθώς από κάθε αρχικό μονόκλωνο τμήμα DNA προκύπτουν δύο νέα δίκλωνα DNA (Εικόνα 2.8).^[47]

Σε κάθε αντίδραση PCR χρησιμοποιούμε πάντα έναν θετικό μάρτυρα (positive control) για να βεβαιώνεται η ορθότητα της αντίδρασης και ένα αρνητικό μάρτυρα (negative control) για να βεβαιώνεται η καθαρότητα των αντιδραστηρίων.^[47]



Εικόνα 2.8:

Διαδικασία PCR. (<http://www.onlinebiologynotes.com/polymerase-chain-reaction-pcr-principle-procedure-steps-types-application/>)

2.2.4.1 Real-Time PCR

Η Real-Time PCR είναι μια εξέλιξη της συμβατικής PCR, η οποία δίνει τη δυνατότητα ποσοτικοποίησης των συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA που πολλαπλασιάζονται. Η υψηλή αξιοπιστία της μεθόδου έγκειται στο

γεγονός ότι η μέτρηση της ποσότητας του προϊόντος πραγματοποιείται καθ'όλη της διάρκειας της αντίδρασης (σε “πραγματικό χρόνο”), μέσω της παρακολούθησης της αύξησης του φθορισμού κάποιας φθορίζουσας ουσίας. Χρησιμοποιούνται ποικίλες διαφορετικές φθορίζουσες ουσίες για την ικνηθέτηση του παραγόμενου προϊόντος και τελικά η αύξηση του σήματος φθορισμού είναι ανάλογη του συντιθέμενου προϊόντος και σχετίζεται άμεσα με την ποσότητα του αρχικού υποστρώματος.^[47]

Υπάρχουν δύο είδη συστημάτων ανίχνευσης με βάση τις χρωστικές:

1. Συστήματα με μη ειδικές φθορίζουσες χρωστικές, όπως οι SYBR Green, LC Green, Eva Green, Cyto9. Οι χρωστικές αυτές προσδένονται σε δίκλωνο DNA και παρέχουν τη δυνατότητα χρήσης τους με οποιοδήποτε ζευγάρι εκκινητών καθώς και για την ενίσχυση οποιασδήποτε αλληλουχίας-στόχου.
2. Συστήματα με φθορίζουσες χρωστικές ειδικές για την αλληλουχία-στόχο των οποίων διαφορετικά φάσματα φθορισμού επιτρέπουν τον σαφή διαχωρισμό τους. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι είναι οι Taqman probes, Molecular beacon probes, Hybridization probes και Scorpions.

Μετά την ολοκλήρωση την αντίδρασης της Real-time PCR, ακολουθεί ανάλυση καμπυλών τήξης (melting curve analysis) κατά την οποία ανιχνεύονται συγκεκριμένοι νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) και διαπιστώνεται αν δείγμα DNA ανήκει σε ετερόζυγο ή ομόζυγο για το φυσικό ή μεταλλαγμένο αλληλόμορφο.

2.2.4.1a Διαδικασία Real-time PCR με LightSNIP (SimpleProbe® Melting Curve Analysis)

Στο πείραμά μας χρησιμοποιήθηκε ο LightCycler480 Instrument (ROCHE DIAGNOSTICS, Γερμανία), ο οποίος είναι ένας ταχύς θερμικός κυκλοποιητής με ικανότητα παρακολούθησης της PCR σε “πραγματικό χρόνο”. Σημαντικό πλεονέκτημα του LC480 η ταχύτητα της αντίδρασης, καθώς σε μόλις 30 λεπτά ολοκληρώνεται μία αντίδραση PCR 30 κύκλων. Οποιαδήποτε ασυμβασία μεταξύ DNA και SimpleProbe μειώνει τους

δεσμούς υδρογόνου και συνεπώς τη θερμοκρασία τήξης κατά την αποδιάταξη των αλυσίδων, καθιστώντας έτσι δυνατή την ανάλυση των πολυμορφισμών.

Κατά την ανάλυση με LightSnip, ως σύστημα ανίχνευσης φθορισμού χρησιμοποιήθηκε το SimpleProbe®, το οποίο αποτελεί πατέντα της TIB-MOLBIOL (Γερμανία). Για κάθε πολυμορφισμό χρησιμοποιήθηκε διαφορετικός εκκινητής ενώ ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο που προτείνεται από τη συγκεκριμένη εταιρεία.

Στη μέθοδο αυτή, ένα ειδικό ολιγονουκλεοτίδιο-ανιχνευτής (probe) τοποθετείται στο 5'-άκρο του εκκινητή συνδεδεμένο με ένα φθορίζον μόριο-ανταποκριτή (reporter molecule) και στο 3'-άκρο του συνδεδεμένο με ένα μόριο-αποσβέστη (quencher molecule). Μέσω αυτής της σύνδεσης, το μόριο-αποσβέστης εμποδίζει την εκπομπή σήματος από το μόριο-ανταποκριτή. Ωστόσο, κατά τη φάση της PCR, όταν οι εκκινητές συνδέονται στην αλληλουχία στόχο, το ολιγονουκλεοτίδιο-ανιχνευτής (Probe) καταστρέφεται λόγω της δράσης 5'-εξωνουκλεάσης της DNA πολυμεράσης, με αποτέλεσμα το μόριο-ανταποκριτή να απομακρύνεται από το μόριο-αποσβέστη και να φθορίζει. Το σήμα που εκπέμπεται είναι ανάλογο της ποσότητας DNA.

Για τη Real-Time PCR χρησιμοποιήθηκαν:

- ❖ LightSnip, TibMolBiol, Γερμανία
- ❖ FastStart DNA Master Probe
- ❖ MgCl₂
- ❖ PCR grade H₂O
- ❖ 96 x 0,2ml plate (Kisker GbR, Γερμανία)
- ❖ PCR clear seal 135 x 80(Nippon Genetics, Europe)
- ❖ Real-Time PCR Light Cyclor 480 Roche, Γερμανία (Εικόνα 2.9)



Εικόνα 2.9: Real-Time PCR Light Cyclor 480, Roche

Ο LightCycler480 (LC480) παρέχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης 96 δειγμάτων με όγκους από 10 έως 100μL και χρησιμοποιεί 5 φίλτρα διέγερσης και 6 φίλτρα εκπομπής, τα οποία κάθε φορά συνδυάζονται κατάλληλα για την ακριβή ανίχνευση του φθορισμού.

Αποτελείται από δύο κύρια συστήματα:

1. τη μονάδα του θερμικού κυκλοποιητή, που συνοδεύεται από τη θέση υποδοχής των πλακών πολλαπλών θέσεων
2. τη μονάδα ανίχνευσης, που αποτελείται από τη λάμπα Xenon, την οπτική μονάδα και τη CCD κάμερα.

Οι αναλογίες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε αντίδραση PCR είναι οι εξής:

Προετοιμασία Reaction Mix	Τελικός Όγκος=20μL
H ₂ O	10.4 -14.4μL
Reagent Mix	1μL
FastStart DNA Master	2μL
MgCl	1.6μL
DNA	1-5μL (~50ng)

Το πρόγραμμα για την PCR φαίνεται παρακάτω:									
Πρόγραμμα	Denaturation	Cycling			Melting			Cooling	
Παράμετρος									
Analysis Mode	None	Quantification			Melting Curves			None	
Cycles	1	45			1			1	
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1	
Target [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40	
Hold [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30	
Ramp Rate [°C/s] 96	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5	
Acquisition Mode	None	None	Single	None	None	None	Continuous	None	
Acquisitions [per °C]					3				

2.2.5 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση αφορά στους τρεις πολυμορφισμούς rs2298771, rs3812718 και rs10188577 του γονιδίου *SCN1A*.

Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος χ-τετράγωνο (Chi-square), κριτήριο για τον έλεγχο πιθανής συσχέτισης μεταξύ δυο μεταβλητών. Στατιστικά σημαντικές διαφορές και συσχετίσεις θεωρήθηκαν εκείνες στις οποίες η τιμή του p ήταν μικρότερη από 0,05 ($p < 0,05$).

Στην προκειμένη περίπτωση ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των πολυμορφισμών με την απόκριση στην αντιεπιληπτική θεραπεία, μεμονωμένα και σε συνδυασμό.

3. Αποτελέσματα

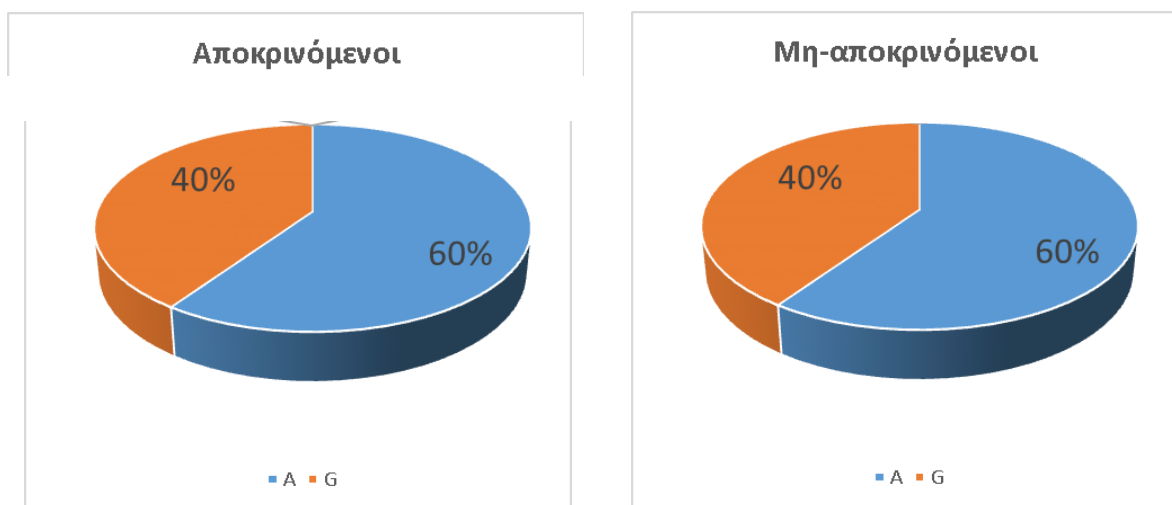
3.1 Κατανομή συχνοτήτων για τον πολυμορφισμό rs2298771

3.1.1 Κατανομή αλληλομόρφων

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, το A είναι το φυσικό αλληλόμορφο ενώ το G αλληλόμορφο το μεταλλαγμένο. Το δείγμα των 143 ασθενών χωρίζεται σε δυο υποομάδες στους αποκρινόμενους και στους μη-αποκρινόμενους, ανάλογα με την απόκριση στη φαρμακευτική αγωγή. Το A αλληλόμορφο εμφανίζεται 72 φορές στην ομάδα των αποκρινόμενων στη θεραπεία και 99 φορές στην ομάδα των μη-αποκρινόμενων στη θεραπεία, ενώ το G αλληλόμορφο 48 και 67 φορές αντίστοιχα (Πίνακας 3.1 και Εικόνα 3.1). Δε υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση κανενός αλληλόμορφου με την απόκριση στη θεραπεία ($p=0,951$).

Πίνακας 3.1: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs2298771 του γονιδίου SCN1A

Αλληλόμορφο	Αποκρινόμενοι (n=120)		Μη- Αποκρινόμενοι (n=166)		Odds Ratio	95% CI	P
A	72	60%	99	59,6%	1,015	0,629- 1,639	0,951
G	48	40%	67	40,4%			
ΣΥΝΟΛΟ	120	100%	166	100%			



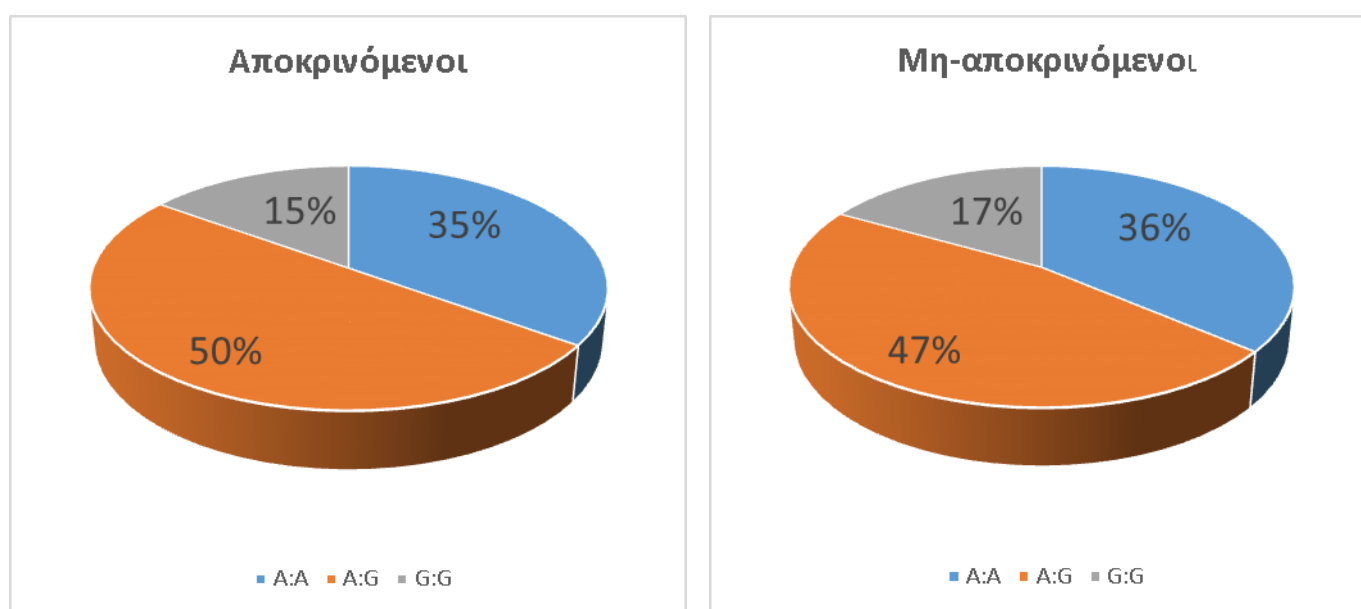
Εικόνα 3.1: Κατανομή αλληλομόρφων για τον πολυμορφισμό rs2298771 του γονιδίου SCN1A.

3.1.2 Κατανομή Γονοτύπων

Η κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 μεταξύ των αποκρινόμενων και μη-αποκρινόμενων στη φαρμακευτική αγωγή ασθενών φαίνεται στον Πίνακα 3.2 και στην Εικόνα 3.2. Παρατηρείται ότι το A αλληλόμορφο είτε σε ομοζυγωτία είτε σε ετεροζυγωτία εμφανίζεται συχνότερα σε σχέση με το G αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία.

Πίνακας 3.2: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2298771 του γονιδίου *SCN1A*

Γονότυπος	Αποκρινόμενοι (n=60)		Μη-Αποκρινόμενοι (n=83)	
A:A	21	35%	30	36,1%
A:G	30	50%	39	47%
G:G	9	15%	14	16,9%
ΣΥΝΟΛΟ	60	100%	83	100%



Εικόνα 3.2: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2298771 του γονιδίου *SCN1A*.

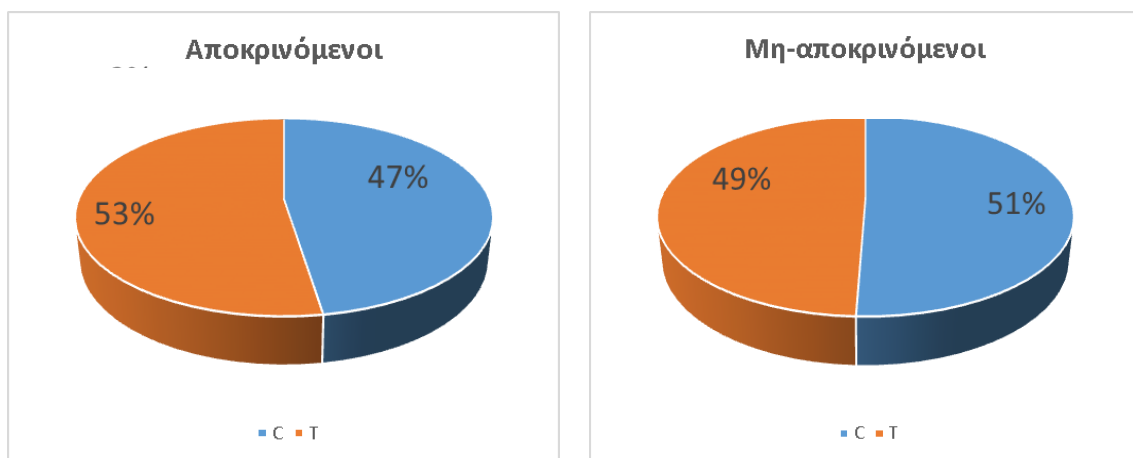
3.2 Κατανομή συχνοτήτων για τον πολυμορφισμό rs3812718

3.2.1 Κατανομή αλληλόμορφων

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, το G αλληλόμορφο είναι το φυσικό ενώ το A αλληλόμορφο το μεταλλαγμένο. Στο πείραμα της παρούσας εργασίας, η μέθοδος γονοτύπησης που χρησιμοποιήθηκε για τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό αναφέρεται στα συμπληρωματικά αλληλόμορφα δηλαδή το C και το T αντίστοιχα. Παρατηρείται ότι κάθε αλληλόμορφο έχει παρόμοια ποσοστά εμφάνισης σε κάθε υποομάδα του δείγματος των ασθενών. Το φυσικό αλληλόμορφο εμφανίζεται 57 φορές στους αποκρινόμενους ασθενείς και 84 στους μη-αποκρινόμενους. Αντίστοιχα, το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο εμφανίζεται 63 φορές στους αποκρινόμενους ασθενείς και 82 φορές στους μη-αποκρινόμενους. (Πίνακας 3.3 και Εικόνα 3.3) Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση κάποιου αλληλόμορφου με την απόκριση ($p=0,605$).

Πίνακας 3.3: Κατανομή αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs3812718 του γονιδίου SCN1A

Αλληλόμορφο	Αποκρινόμενοι (n=120)		Μη- Αποκρινόμενοι (n=166)		Odds Ratio	95% CI	P
C	57	47,5%	84	50,6%	0,883	0,552- 1,413	0,605
T	63	52,5%	82	49,4%			
ΣΥΝΟΛΟ	120	100%	166	100%			



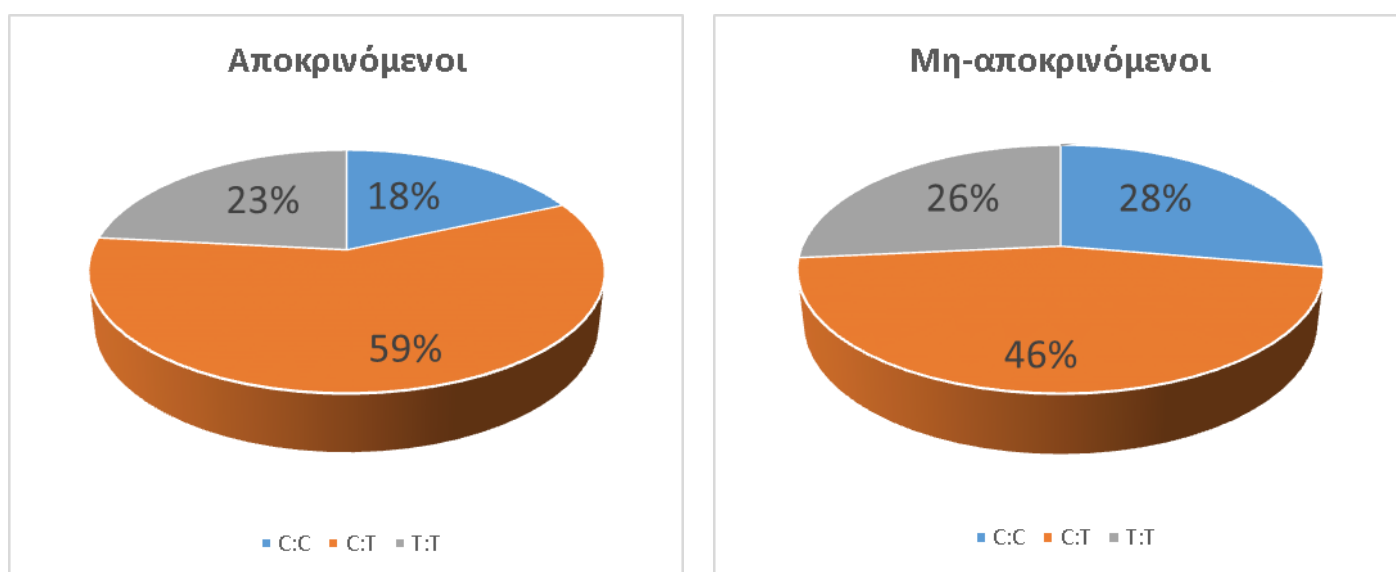
Εικόνα 3.3: Κατανομή αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs3812718 του γονιδίου SCN1A.

3.2.2 Κατανομή γονοτύπων

Στον Πίνακα 3.4 και στην Εικόνα 3.4 φαίνεται η κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718. Η κατανομή ανέδειξε στους αποκρινόμενους στη θεραπεία ασθενείς, 11 άτομα ομόζυγα για το φυσικό C αλληλόμορφο, 35 ετερόζυγα και 14 ομόζυγα για το μεταλλαγμένο T αλληλόμορφο. Αντίστοιχα, στους μη-αποκρινόμενους στη θεραπεία ασθενείς, καταμετρήθηκαν 23 άτομα ομόζυγα για το φυσικό C αλληλόμορφο, 38 ετερόζυγα άτομα και 22 άτομα ομόζυγα για το μεταλλαγμένο T αλληλόμορφο.

Πίνακας 3.3: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs3812718 του γονιδίου SCN1A

Γονότυπος	Αποκρινόμενοι (n=60)		Μη-Αποκρινόμενοι (n=83)	
C:C	11	18,4%	23	27,7%
C:T	35	58,3%	38	45,8%
T:T	14	23,3%	22	26,5 %
ΣΥΝΟΛΟ	60	100%	83	100%



Εικόνα 3.4: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 του γονιδίου SCN1A.

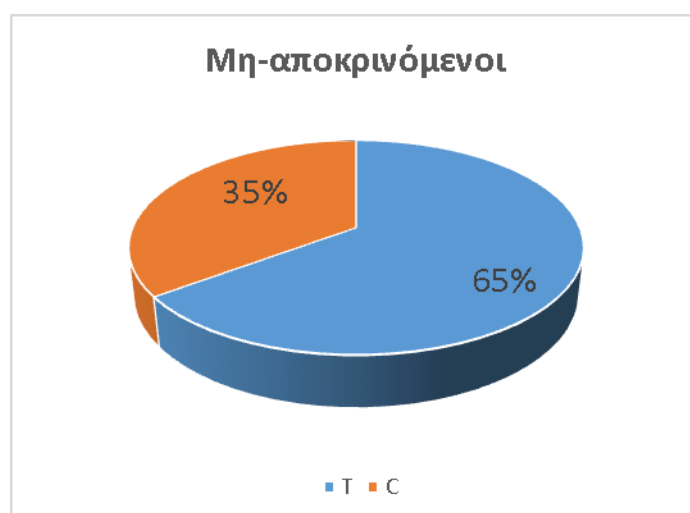
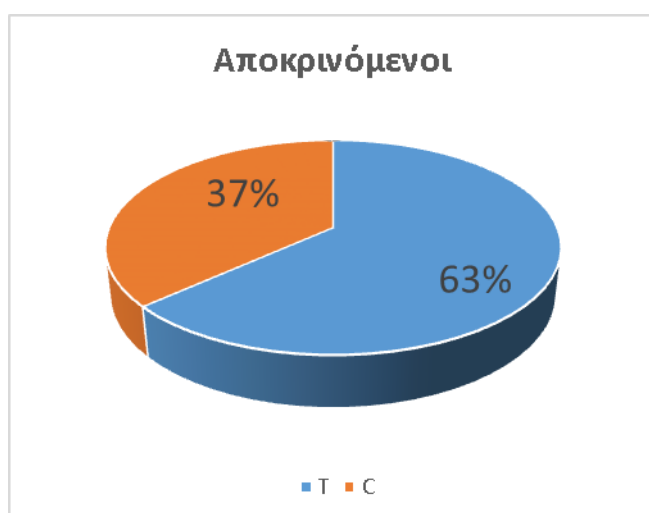
3.3 Κατανομή συχνοτήτων για τον πολυμορφισμό rs10188577

3.3.1 Κατανομή αλληλόμορφων

Για τον πολυμορφισμό rs10188577, το T αποτελεί το φυσικό αλληλόμορφο ενώ το C το μεταλλαγμένο. Το T αλληλόμορφο εμφανίζεται 76 φορές στους αποκρινόμενους στη θεραπεία ασθενείς, ενώ 107 φορές στους μη-αποκρινόμενους. Αντίστοιχα, το C αλληλόμορφο εμφανίζεται 44 φορές στους αποκρινόμενους και 59 φορές στους μη. (Πίνακας 3.5 και Εικόνα 3.5) Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση κάποιου αλληλόμορφου με την απόκριση ($p=0,845$).

Πίνακας 3.5: Κατανομή αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs10188577 του γονιδίου SCN1A

Αλληλόμορφο	Αποκρινόμενοι (n=120)		Μη-Αποκρινόμενοι (n=166)		Odds Ratio	95% CI	P
T	76	63,3%	107	64,4%	0,952	0,584-1,553	0,845
C	44	36,7%	58	35,6%			
ΣΥΝΟΛΟ	120	100%	166	100%			



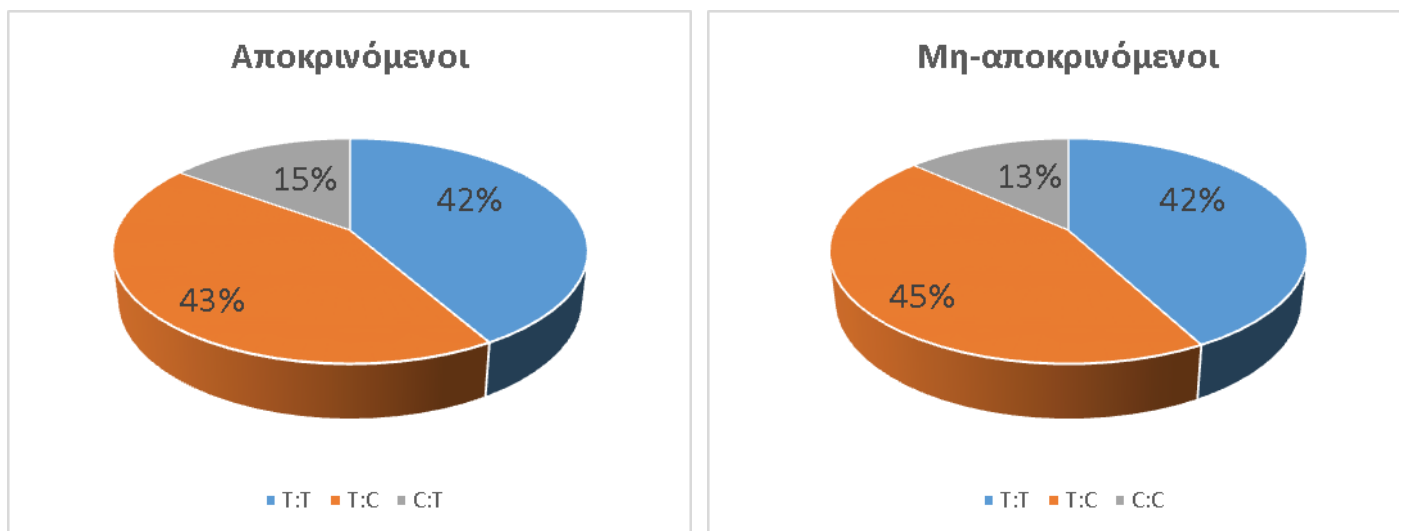
Εικόνα 3.5: Κατανομή αλληλόμορφων για τον πολυμορφισμό rs10188577 του γονιδίου SCN1A.

3.3.2 Κατανομή γονοτύπων

Η κατανομή των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs10188577 φαίνεται στον Πίνακα 3.6 και στην Εικόνα 3.6. Η κατανομή ανέδειξε 25 άτομα ομόζυγα για το φυσικό T αλληλόμορφο, 26 ετερόζυγα και 9 ομόζυγα άτομα για το μεταλλαγμένο C αλληλόμορφο στην ομάδα των αποκρινόμενων ασθενών. Αντίστοιχα, καταμετρήθηκαν 35 ομόζυγα άτομα για το φυσικό T αλληλόμορφο, 37 ετερόζυγα και 11 ομόζυγα για το μεταλλαγμένο C αλληλόμορφο στην ομάδα των μη-αποκρινόμενων ασθενών.

Πίνακας 3.6: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs10188577 για το γονίδιο SCN1A

Γονότυπος	Αποκρινόμενοι (n=60)		Μη-Αποκρινόμενοι (n=83)	
T:T	25	41,7%	35	42,2 %
T:C	26	43,3%	37	44,6 %
C:C	9	15%	11	13,2 %
ΣΥΝΟΛΟ	60	100%	83	100%



Εικόνα 3.6: Κατανομή γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs10188577 του γονιδίου SCN1A.

3.4 Κατανομή συχνότητας συνδυασμού γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771, rs3812718 και rs10188577

Από το συνδυασμό των γονοτύπων των 3 πολυμορφισμών μπορούν να προκύψουν 27 διαφορετικοί γονοτυπικοί συνδυασμοί. Στο εξεταζόμενο δείγμα της παρούσας εργασίας, παρατηρήθηκαν οι παρακάτω 10 συνδυασμοί οι οποίοι αναφέρονται στον Πίνακα 3.7 με τη συχνότητα εμφάνισης τους.

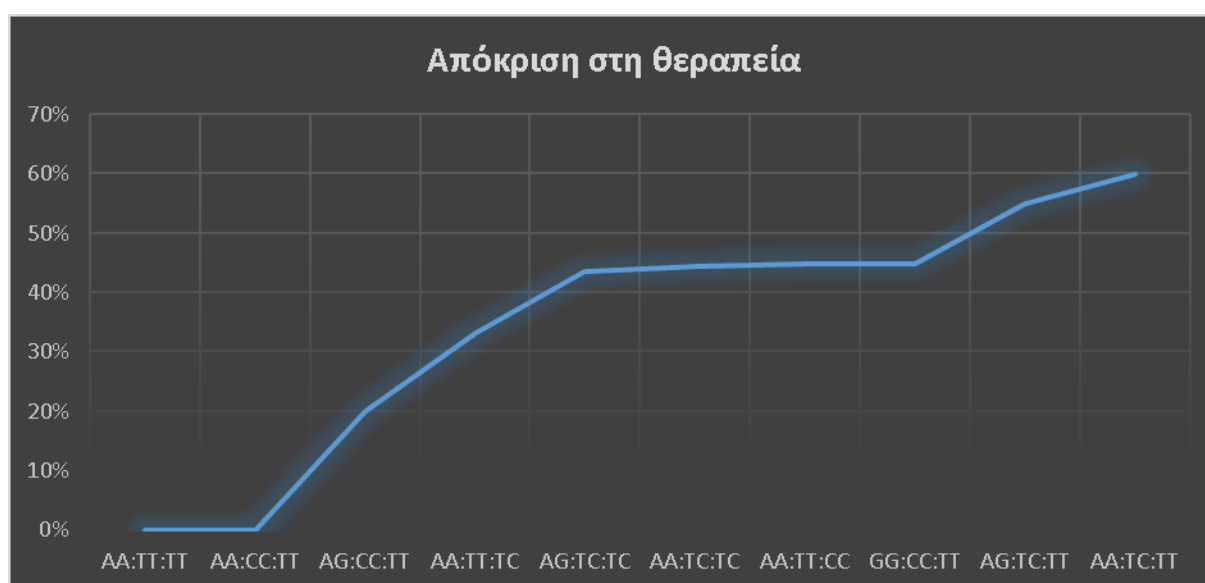
Πίνακας 3.7: Συχνότητα εμφάνισης των συνδυασμών γονοτύπων των τριών πολυμορφισμών rs2298771 : rs3812718 : rs10188577.

Συνδυασμός Γονοτύπων Πολυμορφισμών (rs2298771 : rs3812718 : rs10188577)	Ασθενείς	Ποσοστά
AA : TT : TT	1	0,7%
AA : CC : TT	1	0,7%
AA : TC : TT	5	3,5%
AA : TC : TC	9	6,3%
AG : CC : TT	10	7,0%
AA : TT : TC	15	10,5%
AA : TT : CC	20	14,0%
AG : TC : TT	20	14,0%
GG : CC : TT	23	16,0%
AG : TC : TC	39	27,3%
Σύνολο	143	100%

Στον Πίνακα 3.8 αποδίδεται στον κάθε συνδυασμό γονοτύπων ο αριθμός των αποκρινόμενων και μη ασθενών στη θεραπεία, ενώ στην Εικόνα 3.7 και τον Πίνακα 3.9 φαίνονται τα ποσοστά απόκρισης στη θεραπεία ανάλογα με τον κάθε συνδυασμό γονοτύπων.

Πίνακας 3.8: Εμφάνιση συνδυασμών γονοτύπων με ταυτόχρονη διάκριση των ανταποκρινόμενων και μη ασθενών στη θεραπεία

Συνδυασμός Γονοτύπων πολυμορφισμών (rs2298771:rs3812718:rs10188577)	Ασθενείς	Απόκριση	
		Responsive	Non-responsive
AA : TT : TT	1	-	1
AA : CC : TT	1	-	1
AA : TC : TT	5	3	2
AA : TC : TC	9	4	5
AG : CC : TT	10	2	8
AA : TT : TC	15	5	10
AA : TT : CC	20	9	11
AG : TC : TT	20	11	9
GG : CC : TT	23	9	14
AG : TC : TC	39	17	22
Σύνολο	143	60	83



Εικόνα 3.7: Διάγραμμα ποσοστού απόκρισης στη θεραπεία ανάλογα με τον συνδυασμό των τριών πολυμορφισμών rs2298771 : rs3812718 : rs10188577 του γονιδίου SCN1A.

Πίνακας 3.9: Συνδυασμοί γονοτύπων των εξεταζόμενων πολυμορφισμών με rs2298771 : rs3812718 : rs10188577 με την απόκριση στη θεραπεία.

Συνδυασμός Γονοτύπων Πολυμορφισμών (rs2298771 : rs3812718 : rs10188577)	Ποσοστό απόκρισης στη θεραπεία
AA:TT:TT	0,0%
AA:CC:TT	0,0%
AG:CC:TT	20,0%
AA:TT:TC	33,3%
AG:TC:TC	43,5%
AA:TC:TC	44,4%
AA:TT:CC	45,0%
GG:CC:TT	45,0%
AG:TC:TT	55,0%
AA:TC:TT	60,0%

3.5 Συσχέτιση πολυμορφισμών στο δείγμα ασθενών με την απόκριση στη θεραπεία

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων AA και GG για την εμφάνιση αντίστασης στη θεραπευτική αγωγή. Σε πίνακες 2x2 με τη χρήση του στατιστικού τεστ χ^2 , φαίνονται τα αποτελέσματα. Το p value εμφανίζεται μεγαλύτερο του 0,05 ($p=0,888$ και $p=0,764$, αντίστοιχα) και στις δυο περιπτώσεις, άρα δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων AA και GG με την απόκριση στη θεραπεία (Πίνακες 3.10 και 3.11).

Πίνακας 3.10: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των GG & AG με την απόκριση στη θεραπεία

<u>rs2298771</u>	AA	GG & AG	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Αποκρινόμενοι	21	39	60	0,951	0,475 – 1,905	0,888
Μη-αποκρινόμενοι	30	53	83			
Total	51	92	143			

Πίνακας 3.11: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AA & AG με την απόκριση στη θεραπεία

<u>rs2298771</u>	GG	AA & AG	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Αποκρινόμενοι	9	51	60	0,870	0,349 – 2,166	0,764
Μη-αποκρινόμενοι	14	69	83			
Total	23	120	143			

Ο ίδιος έλεγχος πραγματοποιήθηκε για τον πολυμορφισμό rs3812718, όπου ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων CC και TT με την απόκριση στη θεραπεία. Χρησιμοποιήθηκε το ίδιο στατιστικό τεστ, τα αποτελέσματα του οποίου παρατίθενται παρακάτω. (Πίνακες 3.12 και 3.13) Το p value είναι μεγαλύτερο του 0,05 και στις δυο περιπτώσεις, άρα δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των γονοτύπων CC και TT με την απόκριση στη θεραπεία. (p=0,194 και p=0,666, αντίστοιχα)

Πίνακας 3.12: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των CT & TT με την απόκριση στη θεραπεία

rs3812718	CC	CT & TT	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Αποκρινόμενοι	11	49	60	0,586	0,260 – 1,319	0,194
Μη-αποκρινόμενοι	23	60	83			
Total	34	109	143			

Πίνακας 3.13: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CT & CC με την απόκριση στη θεραπεία

rs3812718	TT	CT & CC	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Αποκρινόμενοι	14	46	60	0,842	0,390 – 1,826	0,666
Μη-αποκρινόμενοι	22	61	83			
Total	36	107	143			

Αντίστοιχα, έγινε έλεγχος με το ίδιο στατιστικό τεστ για τους γονοτύπους TT και CC του πολυμορφισμού rs10188577 με στόχο την εύρεση πιθανής συσχέτισης με την απόκριση στη θεραπεία. (Πίνακες 3.14 και 3.15) Το p value είναι μεγαλύτερο από 0,05 και στις δυο περιπτώσεις, άρα δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων TT και CC με την απόκριση στη θεραπεία (p=0,952 και p=0,766, αντίστοιχα).

Πίνακας 3.14: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των CT & TT με την απόκριση στη θεραπεία

rs10188577	TT	CT & CC	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Αποκρινόμενοι	25	35	60	0,980	0,500 – 1,920	0,952
Μη-αποκρινόμενοι	35	48	83			
Total	60	83	143			

Πίνακας 3.15: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CT & CC με την απόκριση στη θεραπεία

rs10188577	CC	CT & TT	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Αποκρινόμενοι	9	51	60	1,155	0,446 – 2,990	0,766
Μη-αποκρινόμενοι	11	72	83			
Total	20	123	143			

3.6 Κατανομή συχνοτήτων για τους πολυμορφισμούς rs2298771, rs3812718, rs10188577 στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό

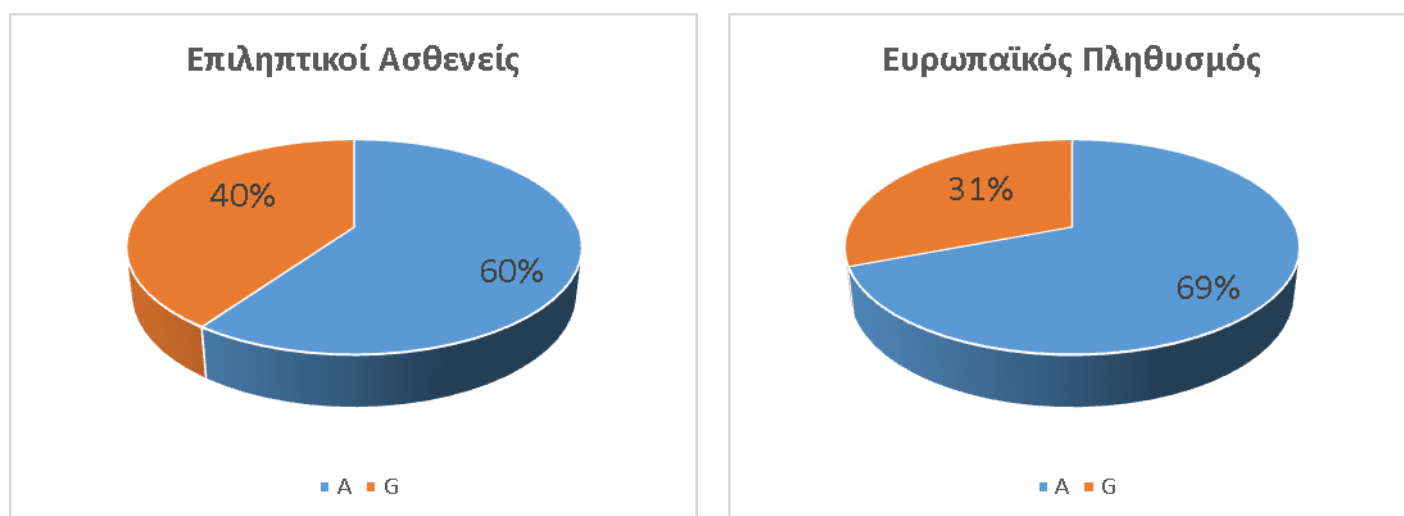
Από τη βάση δεδομένων Ensemble (ensemble.com) συλλέχθηκαν πληροφορίες για τη συχνότητα εμφάνισης των αλληλόμορφων και των γονοτύπων των 3 πολυμορφισμών σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό. Υπήρχαν πληροφορίες για 503 άτομα συνολικά. Οι πληροφορίες αυτές συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας.

3.6.1 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs2298771

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, βρέθηκαν 250 άτομα ομόζυγα για το φυσικό A αλληλόμορφο, 196 ετερόζυγα και 57 ομόζυγα για το μεταλλαγμένο G αλληλόμορφο στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό, ενώ 51, 69 και 23 άτομα στους επιληπτικούς ασθενείς της εργασίας, αντίστοιχα. Η κατανομή των αλληλόμορφων στο γενικό πληθυσμό και τους επιληπτικούς ασθενείς παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.16 και στην Εικόνα 3.8. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση του G αλληλόμορφου με την εμφάνιση της νόσου ($p=0,003$, $OR=0,662$) καθώς φαίνεται ότι οι επιληπτικοί ασθενείς εμφανίζουν κατά 50% περισσότερο το συγκεκριμένο αλληλόμορφο σε σχέση με το γενικό πληθυσμό.

Πίνακας 3.16: Κατανομή αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό

Αλληλόμορφο	Επιληπτικοί Ασθενείς (n=286)		Ευρωπαϊκός Πληθυσμός (n=1006)		Odds Ratio	95% CI	P
A	171	59,8%	696	69,2%	0,662	0,505 – 0,869	0,003
G	115	40,2%	310	30,8%			
ΣΥΝΟΛΟ	286	100%	1006	100%			

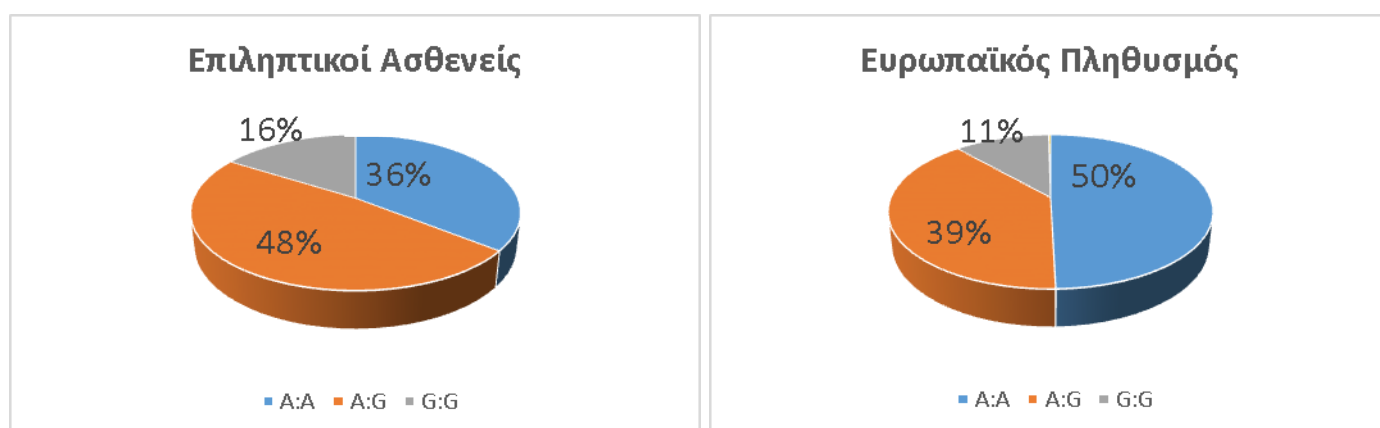


Εικόνα 3.8: Κατανομή των αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά).

Η κατανομή των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs2298771 στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό και τους επιληπτικούς ασθενείς παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.17 και στην Εικόνα 3.9.

Πίνακας 3.17: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Γονότυπος	Εpileπτικοί Ασθενείς (n=143)		Ευρωπαϊκός Πληθυσμός (n=503)	
A:A	51	35,7%	250	49,7 %
A:G	69	48,2%	196	39%
G:G	23	16,1%	57	11,3%
ΣΥΝΟΛΟ	143	100%	503	100%



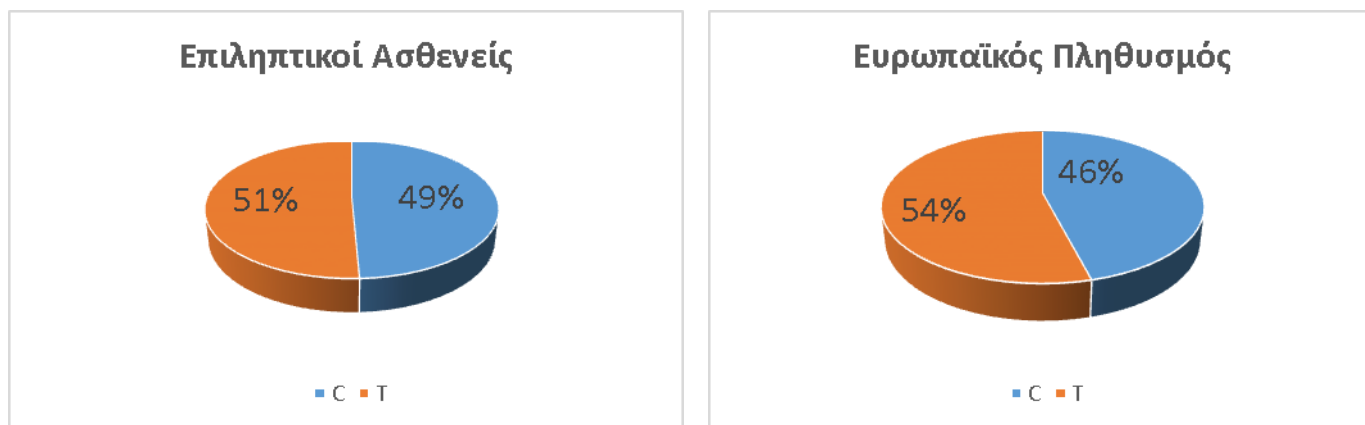
Εικόνα 3.9: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2298771 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά)

3.6.2 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs3812718

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, βρέθηκαν 111 ομόζυγα άτομα για το φυσικό C αλληλόμορφο, 240 ετερόζυγα και 152 ομόζυγα άτομα για το μεταλλαγμένο T αλληλόμορφο στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό, ενώ 34, 73, και 36 άτομα στους επιληπτικούς ασθενείς αντίστοιχα. Η κατανομή των αλληλόμορφων στο γενικό πληθυσμό και στους επιληπτικούς ασθενείς παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.18 και στην Εικόνα 3.10. Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά για κάποιο αλληλόμορφο μεταξύ επιληπτικών ασθενών και γενικού πληθυσμού ($p=0,313$).

Πίνακας 3.18: Κατανομή αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς και στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό

Αλληλόμορφο	Επιληπτικοί Ασθενείς (n=286)		Ευρωπαϊκός Πληθυσμός (n=1006)		Odds Ratio	95% CI	P
C	141	49,4%	462	46%	1,145	0,880 – 1,489	0,313
T	145	50,6%	544	54%			
ΣΥΝΟΛΟ	286	100%	1006	100%			

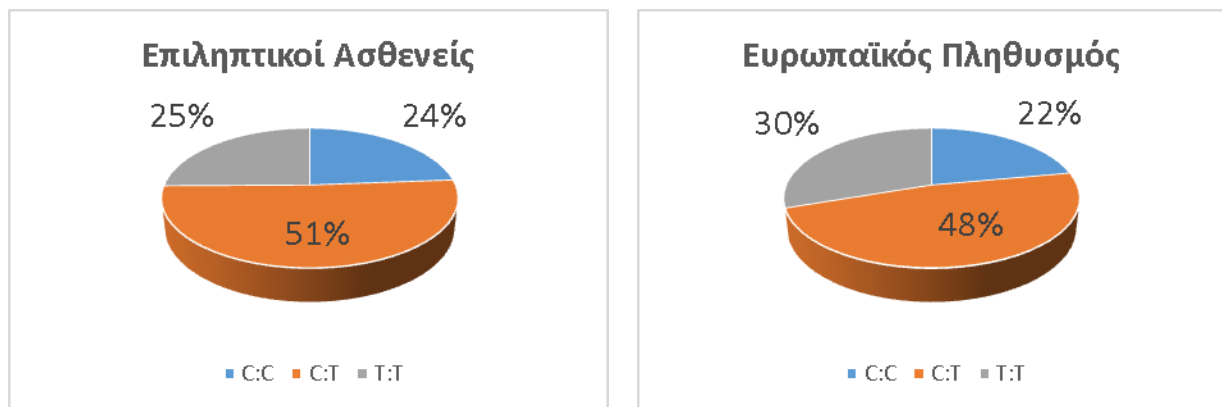


Εικόνα 3.10: Κατανομή αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά).

Η κατανομή των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs3812718 στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό και στους επιληπτικούς ασθενείς παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.19 και στην Εικόνα 3.11.

Πίνακας 3.19: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Γονότυπος	Επιληπτικοί Ασθενείς (n=143)		Ευρωπαϊκός Πληθυσμός (n=503)	
C:C	34	23,8%	111	22,1%
C:T	73	51%	240	47,7%
T:T	36	25,2%	152	30,2%
ΣΥΝΟΛΟ	143	100%	503	100%



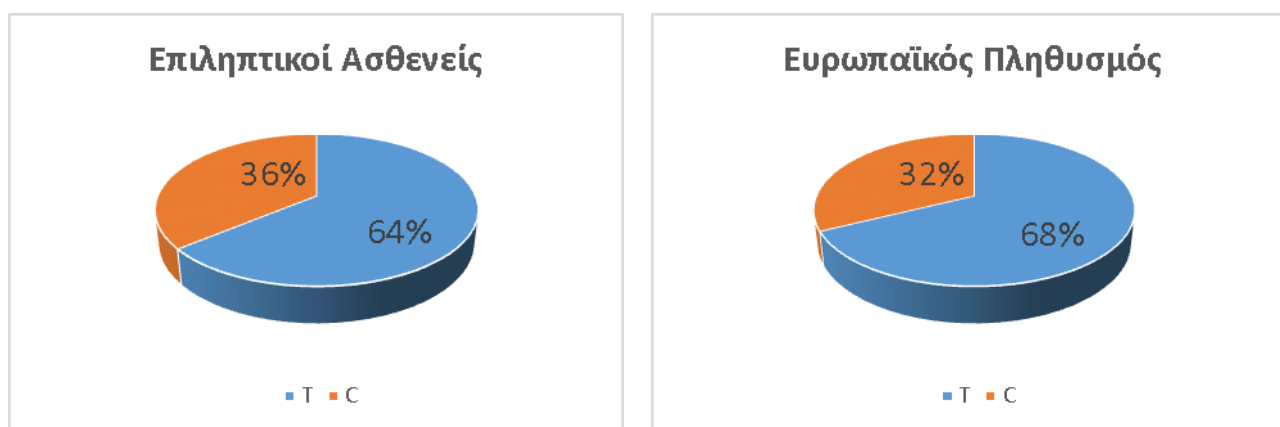
Εικόνα 3.11: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs3812718 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά).

3.6.3 Κατανομή συχνοτήτων του πολυμορφισμού rs10188577

Για τον πολυμορφισμό rs10188577, βρέθηκαν 235 άτομα ομόζυγα για το T αλληλόμορφο, 211 ετερόζυγα και 57 ομόζυγα για το C αλληλόμορφο στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό ενώ 60, 63 και 20 άτομα στους επιληπτικούς ασθενείς αντίστοιχα. Η κατανομή των αλληλόμορφων στο γενικό πληθυσμό και στους επιληπτικούς ασθενείς παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.20 και στην Εικόνα 3.12. Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση κάποιου αλληλόμορφου με την εμφάνιση της νόσου ($p=0,240$).

Πίνακας 3.20: Κατανομή αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs10188577 σε επιληπτικούς ασθενείς και στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό

Αλληλόμορφο	Εpileπτικοί Ασθενείς (n=286)		Ευρωπαϊκός Πληθυσμός (n=1006)		Odds Ratio	95% CI	P
T	183	64%	681	67,7%	0,848	0,644 – 1,117	0,240
C	103	36%	325	32,3%			
ΣΥΝΟΛΟ	286	100%	1006	100%			

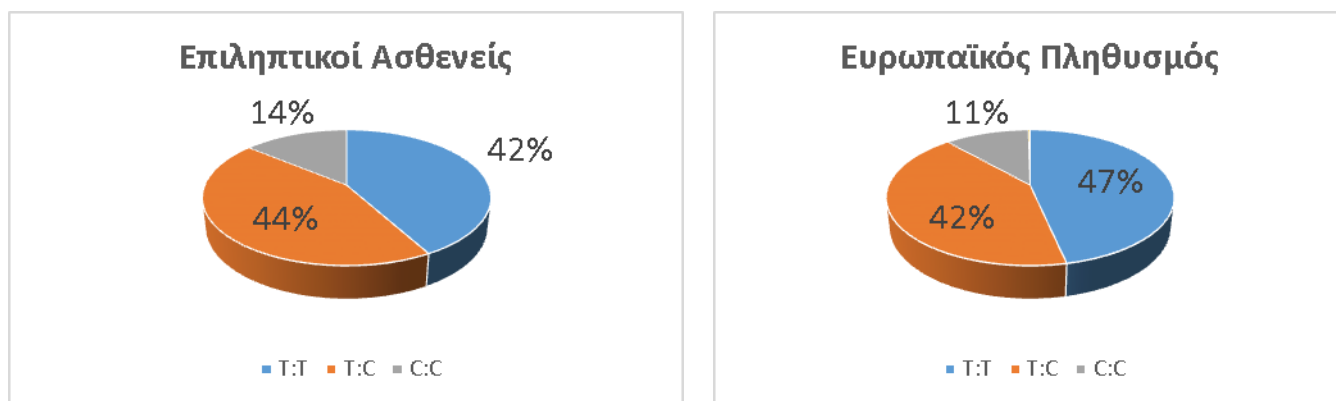


Εικόνα 3.12: Κατανομή αλληλόμορφων του πολυμορφισμού rs10188577 στους επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά).

Η κατανομή των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό rs10188577 στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό και στους επιληπτικούς ασθενείς παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.21 και στην Εικόνα 3.13.

Πίνακας 3.21: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs10188577 σε επιληπτικούς ασθενείς και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Γονότυπος	Εpileπτικοί Ασθενείς (n=143)		Ευρωπαϊκός Πληθυσμός (n=503)	
T:T	60	42%	235	46,7%
T:C	63	44%	211	42%
C:C	20	14%	57	11,3%
ΣΥΝΟΛΟ	143	100%	503	100%



Εικόνα 3.13: Κατανομή γονοτύπων του πολυμορφισμού rs10188577 σε επιληπτικούς ασθενείς (αριστερά) και σε γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό (δεξιά).

3.7 Συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771, rs3812718 και rs10188577 με την εμφάνιση της επιληψίας

Για τη συσχέτιση των πολυμορφισμών rs2298771, rs3812718, rs10188577 του γονιδίου *SCN1A* με την εμφάνιση της νόσου, έγινε σύγκριση μεταξύ του δείγματος των επιληπτικών ασθενών της παρούσας εργασίας με το γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό.

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων AA και GG με την εμφάνιση της νόσου με τη χρήση του στατιστικού τεστ χ^2 . Σε πίνακες 2x2 φαίνονται τα αποτελέσματα (Πίνακες 3.22 και 3.23). Στην περίπτωση της σύγκρισης του γονοτύπου AA έναντι των γονοτύπων AG & GG, το p είναι μικρότερο του 0,05 ($p=0,003$) δείχνοντας στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των γονοτύπων και της εμφάνισης της νόσου. Συγκεκριμένα, οι γονότυποι AG & GG εμφανίζονται με σχεδόν διπλάσια συχνότητα στους επιληπτικούς ασθενείς σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό ($OR=0,561$)

Πίνακας 3.22: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου AA έναντι των AG & GG του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση της ασθένειας

rs2298771	AA	GG & AG	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Επιληπτικοί Ασθενείς	51	92	143	0,561	0,382 – 0,824	0,003
Γενικός Πληθυσμός	250	253	503			
Total	301	345	646			

Πίνακας 3.23: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου GG έναντι των AG & AA του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση της ασθένειας

rs2298771	GG	AA & AG	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Εpileπτικοί Ασθενείς	23	120	143	1,50	0,888 – 2,534	0,128
Γενικός Πληθυσμός	57	446	503			
Total	80	566	646			

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων CC και TT με την εμφάνιση της νόσου με τη χρήση του στατιστικού τεστ χ^2 . Σε πίνακες 2x2 φαίνονται τα αποτελέσματα (Πίνακες 3.24 και 3.25). Το p είναι μεγαλύτερο του 0,05 και στις δυο περιπτώσεις, άρα δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων με την εμφάνιση της νόσου (p=0,666 και p=0,241, αντίστοιχα).

Πίνακας 3.24: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των CT & TT του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση της ασθένειας

rs3812718	CC	TT & CT	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Epileptic	34	109	143	1,102	0,710 – 1,709	0,666
General Population	111	392	503			
Total	145	501	646			

Πίνακας 3.25: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CT & CC του πολυμορφισμού rs3812718 με την εμφάνιση της ασθένειας

rs3812718	TT	CC & CT	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Epileptic	36	107	143	0,777	0,509 – 1,186	0,241
General Population	152	351	503			
Total	188	458	646			

Για τον πολυμορφισμό rs10188577, ελέγχθηκε η πιθανή συσχέτιση των γονοτύπων TT και CC με την εμφάνιση της νόσου με τη χρήση του στατιστικού τεστ χ^2 . Σε πίνακες 2x2 φαίνονται τα αποτελέσματα (Πίνακες 3.26 και 3.27). Το p είναι μεγαλύτερο του 0,05 και στις δυο περιπτώσεις, άρα δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων με την εμφάνιση της νόσου (p=0,313 και p=0,387, αντίστοιχα).

Πίνακας 3.26: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου TT έναντι των CT & CC του πολυμορφισμού rs10188577 με την εμφάνιση της ασθένειας

rs10188577	TT	CC & CT	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Epileptic	60	83	143	0,824	0,566 – 1,200	0,313
General Population	235	268	503			
Total	295	351	646			

Πίνακας 3.27: Έλεγχος συσχέτισης του γονοτύπου CC έναντι των CT & TT του πολυμορφισμού rs10188577 με την εμφάνιση της ασθένειας

rs10188577	CC	TT & CT	Total	Odds Ratio	95% CI	P
Epileptic	20	123	143	1,272	0,736 – 2,199	0,387
General Population	57	446	503			
Total	77	569	646			

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η επιληψία αποτελεί την 4^η πιο συχνή νευρολογική ασθένεια παγκοσμίως και χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη επιληπτικών κρίσεων, δηλαδή μη φυσιολογικών παροξυσμικών συγχρονισμένων νευρωνικών εκφορτίσεων λόγω ηλεκτροεγκεφαλικών διαταραχών. [61, 29]

Η ασθένεια εμφανίζει μεγάλο εύρος φαινοτυπικών εκδηλώσεων από πολύ σοβαρά σύνδρομα, όπως το σύνδρομο Dravet, μέχρι πιο ήπιες μορφές, όπως η γενικευμένη επιληψία με επιπεπλεγμένους πυρετικούς σπασμούς. [70]

Πληθώρα γονιδίων έχει βρεθεί ότι σχετίζονται με την ασθένεια της επιληψίας και ιδιαίτερα γονίδια που κωδικοποιούν διαύλους ιόντων. Ένα γονίδιο, άρρηκτα συνδεδεμένο με την ασθένεια της επιληψίας, είναι το *SCN1A*, το οποίο κωδικοποιεί την α-υπομονάδα των τασεοευαίσθητων διαύλων ιόντων νατρίου Nav1.1 στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα. Δομικά οι τασεοευαίσθητοι διαύλοι νατρίου είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες αποτελούνται από μια α-υπομονάδα που σχηματίζει τον πόρο του διαύλου και δυο μικρότερες βοηθητικές β-υπομονάδες. Κάθε α-υπομονάδα αποτελείται από τέσσερις ομόλογες επικράτειες (I-IV). Κάθε δομική επικράτεια απαρτίζεται από έξι διαμεμβρανικές α-έλικες (S1-S6) και έναν βρόχο μεταξύ των S5-S6 α-ελίκων. [70, 21]

Γενετικοί πολυμορφισμοί στο *SCN1A* γονίδιο έχουν μελετηθεί με στόχο τον συσχετισμό αυτών τόσο με την εκδήλωση της ασθένειας όσο και με την απόκριση στη θεραπεία.

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί rs2298771, rs3812718 και rs10188577 του γονιδίου *SCN1A* ως προς τις παραπάνω παραμέτρους σε δείγμα Ελλήνων επιληπτικών ασθενών.

- Ο πολυμορφισμός rs2298771 εντοπίζεται στο εξώνιο 16 του γονιδίου *SCN1A* και αφορά στην αλλαγή μιας αδενίνης (A) σε γουανίνη (G). Η αλλαγή αυτή προκαλεί την αμινοξική αντικατάσταση της Θρεονίνης σε Αλανίνη στη θέση 1067. [57]

- Ο πολυμορφισμός rs3812718 (IVS5-91) εντοπίζεται στην 5' περιοχή του ιντρονίου 5 του γονιδίου *SCN1A* και αφορά στην αλλαγή μια γουανίνης (G) σε αδενίνη (A). Πρόκειται για μια αλλαγή, η οποία επηρεάζει το εναλλακτικό μάτισμα του μεταγραφικού προϊόντος του γονιδίου. [5]
- Ο πολυμορφισμός rs10188577 εντοπίζεται στο ιντρόνιο 1 του γονιδίου *SCN1A* και αφορά στην αντικατάσταση μιας θυμίνης (T) με μια Κυτοσίνη (C).^[59, 60]

Στόχοι της παρούσης μελέτης:

- ❖ Κατανομή συχνοτήτων αλληλόμορφων και γονοτύπων των πολυμορφισμών rs2298771, rs3812718 και rs10188577 σε 143 επιληπτικούς ασθενείς
- ❖ Συσχέτιση των πολυμορφισμών αυτών με την εμφάνιση της νόσου και με την απόκριση στη θεραπεία

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του G αλληλόμορφου με την εμφάνιση της επιληψίας καθώς εμφανίζεται 50% περισσότερο στους επιληπτικούς ασθενείς σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό ($p=0,003$, $OR=0,561$; $0,382-0,824$ 95%CI). Ίδιες παρατηρήσεις είχαν μελέτες άλλων ερευνητικών ομάδων όπως οι Lakhan et al. [37] και οι Ebrahimi et al. [28] οι οποίες έγιναν σε Ινδικό και Ιρακινό πληθυσμό αντίστοιχα. Αντιθέτως, οι Bertok et al. [13] μελετώντας το Σλοβενικό πληθυσμό αναφέρουν ότι το G αλληλόμορφο χαρακτηρίζεται από μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της επιληψίας.

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την εμφάνιση της νόσου. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε αντίθεση με μελέτες που έχουν γίνει σε πληθυσμούς όπως Καυκάσιοι, Ινδοί, Μαλαισιανοί ακόμη κι Έλληνες.^[5, 33]

Για τον πολυμορφισμό rs10188577, επίσης, δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την εμφάνιση της επιληψίας, σε αντίθεση με τη

βιβλιογραφία όπου έχει βρεθεί συσχέτιση στους Αυστραλούς και τους Κινέζους.^[71, 72]

Επισημαίνεται ότι όλες οι έρευνες που έχουν μελετήσει τους συγκεκριμένους πολυμορφισμούς σε σχέση με την εμφάνιση της ασθένειας, δεν έχουν εξετάσει το δείγμα των υπό μελέτη ασθενών ανάλογα με τη μορφή επιληψίας που εμφανίζουν. Εν αντιθέση, στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε συσχέτιση του πολυμορφισμού rs2298771 με την εμφάνιση Σύνθετης Εστιακής Επιληψίας, κάτι που δεν έχει αναφερθεί έως τώρα βιβλιογραφικά.

Για την εδραίωση των συγκεκριμένων αποτελεσμάτων, απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός ασθενών. Αυτό, θα επικυρώσει και θα ισχυροποιήσει τα εξαγόμενα συμπεράσματα.

Για τον πολυμορφισμό rs2298771, από τον έλεγχο που πραγματοποιήθηκε με στόχο τη σύγκριση των διαφορετικών γονοτύπων και αλληλομόρφων με την απόκριση στη θεραπεία, δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Τα αποτελέσματα αυτά, συμφωνούν με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητικών ομάδων όπως των Haerian et al.^[33] που μελέτησαν τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό σε Ασιατικούς πληθυσμούς (Μαλαισία και Hong Kong) αλλά και άλλων ερευνητών που μελέτησαν Καυκάσιους πληθυσμούς όπως οι Daci et al.^[26] και οι Sanchez et al.^[57]

Αντιθέτως, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης για τον πολυμορφισμό rs2298771, δε συμφωνούν με τους Wang et al.,^[68] οι οποίοι βρήκαν συσχέτιση του πολυμορφισμού με την απόκριση στη θεραπεία, χαρακτηρίζοντας το G αλληλόμορφο ως παράγοντα αντίστασης στη θεραπεία στον Κινέζικο πληθυσμό. Επιπροσθέτως, οι Bertok et al.,^[13] σε μελέτη που έκαναν σε Σλοβενικό πληθυσμό βρήκαν συσχέτιση του πολυμορφισμού με την απόκριση στη θεραπεία προτείνοντας ωστόσο, ότι το G αλληλόμορφο έχει προστατευτικό ρόλο και υψηλότερα ποσοστά απόκρισης στη θεραπεία.

Για τον πολυμορφισμό rs3812718, από τον έλεγχο που πραγματοποιήθηκε με στόχο τη σύγκριση των διαφορετικών γονοτύπων και αλληλόμορφων με την απόκριση στη θεραπεία, δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Ίδια αποτελέσματα είχαν ερευνητικές ομάδες από χώρες της Ευρώπης όπως η Ιταλία αλλά και χώρες όπως η Ινδία.^[33, 40] Αντιθέτως, η έρευνα των Abe et al.^[4] σε Ιάπωνες ασθενείς αλλά και των Angeloroulou et al.^[5] σε Έλληνες ασθενείς, ανέδειξαν ότι το A αλληλόμορφο του πολυμορφισμού εμφανίζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την ανθεκτικότητα στη θεραπεία.

Για τον πολυμορφισμό rs10188577, από τον έλεγχο που πραγματοποιήθηκε με στόχο τη σύγκριση των διαφορετικών γονοτύπων και αλληλόμορφων με την απόκριση στη θεραπεία, δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για την μελέτη του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με την απόκριση στη θεραπεία από άλλες ερευνητικές ομάδες έως σήμερα.

Βιβλιογραφία

1. Ζαφειρόπουλος Α., Ξαφένιας Δ., Νευρωνική απώλεια των ιππόκαμπων στην κροταφική επιληψία, Τόμος 42, Τεύχος 4: Οκτώβριος-Δεκέμβριος 2005
2. Μπαμπινιώτης Γ., Ετυμολογικό Λεξικό της Νέας Ελληνικής Γλώσσας, Κέντρο Λεξιλογίας, 2009
3. Πατρικέλης Π., Γκατζώνης Στέργιος, Η νευροψυχολογία της Επιληψίας, BHTA, 2017
4. Abe Tomohide, Seo Takayuki, Ishitsu Takateru, Nakagawa Takehiro, Hori Masaharu, Nakagawa Kazuko, Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy, Br J Clin Pharmacol. Aug; 66(2): 304–307, 2008
5. Angelopoulou Christina, Veletza Stavroula, Heliopoulos Ioannis, Vadikolias Konstantinos, Tripsianis Grigorios, Stathi Chrysa, Piperidou Charitomeni, Association of SCN1A gene polymorphism with antiepileptic drug responsiveness in the population of Thrace, Greece, Arch Med Sci 2017; 13, 1: 138–147
6. Badawy Radwa A.B., Harvey Anthony S., Macdonell Richard A.L., Cortical hyperexcitability and epileptogenesis: Understanding the mechanisms of epilepsy – Part 1, Journal of Clinical Neuroscience 16 (2009) 355–365
7. Badawy Radwa A.B., Harvey Anthony S., Macdonell Richard A.L., Cortical hyperexcitability and epileptogenesis: Understanding the mechanisms of epilepsy – Part 2, Journal of Clinical Neuroscience 16 (2009) 355–365
8. Balestrini Simona, Sisodiya Sanjay M., Pharmacogenomics in epilepsy, Neuroscience Letters 667 27–39, 2018
9. Barker-Haliski Melissa, White H. Steve, Glutamatergic Mechanisms Associated with Seizures and Epilepsy, Cold Spring Harb Perspect Med. 2015 Jun 22;5(8):a022863

10. Baum Larry, Haerian Batoul Sadat, Ng Ho.Keung, Wong Virginia C. N., Ng Ping Wing, Lui Colin H. T., Sin Ngai Chuen, Zhang Chunbo, Tomlinson Brian, Wing-Kin Wong Gary, Tan Hui Jan, Raymond Azman Ali, Mohamed Zahurin, Kwan Patrick, Case-control association study of polymorphisms in the voltage-gated sodium channel genes SCN1A, SCN2A, SCN3A, SCN1B, and SCN2B and epilepsy, *Hum Genet.* May;133(5):651-9, 2014
11. Berg AT., Scheffer IE., New concepts in classification of the epilepsies: entering the 21st century., *Epilepsia.* Jun;52(6):1058-62, 2011
12. Berkovic Samuel F., Mulley John C., Scheffer Ingrid E., Petrou Steven, Human epilepsies: interaction of genetic and acquired factors, *TRENDS in Neurosciences* Vol.29 No.7 July, 2006
13. Bertok Sara, Dolžanc Vita, Goricarc Katja, Trebušak Podkrajšek Katarina, Battelino Tadej, Rener-Primec Zvonka, The association of SCN1A p.Thr1067Ala polymorphism with epilepsy risk and the response to antiepileptic drugs in Slovenian children and adolescents with epilepsy, *Seizure* 51, 9–13, 2017
14. Bhalla Devender, Godet Bertrand, Druet-Cabanac Michel, Preux Pierre-Marie, Etiologies of epilepsy: a comprehensive review, *Expert Rev. Neurother.* 11(6), 861–876, 2011
15. Bien CG, Schramm J. Treatment of Rasmussen encephalitis half a century after its initial description: promising prospects and a dilemma. *Epilepsy Res.* 86(2–3),101–112,2009
16. Bromfield Edward B., Cavazos José E., Sirven Joseph I., *An Introduction to Epilepsy*, West Hartford (CT):American Epilepsy Society;, 2006.
17. Brodie Martin J., Antiepileptic drug therapy the story so far, *Seizure.* 2010 Dec;19(10):650-5
18. Brodie Martin J., Sodium Channel Blockers in the Treatment of Epilepsy, *CNS Drugs.* 2017 Jul;31(7):527-534.

19. Browne Thomas R., Holmes Gregory L., Εγχειρίδιο επιληψίας, Τέταρτη έκδοση, Βαγιονάκης Ιατρικές Εκδόσεις, 2008
20. Catenoix H, Marignier R, Ritleng C et al., Multiple sclerosis and epileptic seizures., *Mult. Scler.* 17(1), 96–102, 2011
21. Catterall William A., Goldin Alan I., Waxman Stephen G., International Union of Pharmacology. XLVII. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Voltage-Gated Sodium Channels, *Pharmacol Rev.* Dec;57(4):397-409, 2005
22. Chroni E, Monastirli A, Polychronopoulos P et al. Epileptic seizures as the sole manifestation of neuro-Behcet's disease: complete control under interferon-a treatment. *Seizure* 17(8), 744–747, 2008
23. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy, Proposal for Revised Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes, *Epilepsia.* 30(4):38%399, 1989
24. Cross JH., Epilepsy in the WHO European region: fostering epilepsy care in Europe., *Epilepsia.* Jan;52(1):187-8, 2011
25. Cross JH. Neurocutaneous syndromes and epilepsy-issues in diagnosis and management. *Epilepsia* 46(Suppl. 10), 17–23, 2005
26. Daci Armond, Beretta Giangiacomo, Vllasaliu Driton, Shala Aida, Govori Valbona, Norata Giuseppe Danilo, Krasniqi Shaip, Polymorphic Variants of SCN1A and EPHX1 Influence Plasma Carbamazepine Concentration, Metabolism and Pharmacoresistance in a Population of Kosovar Albanian Epileptic Patients, *PLoS One.* 2015; 10(11): e0142408
27. Di Rocco C, Iannelli A, Tamburrini G., Cavernomas of the central nervous system in children. A report of 22 cases. *Acta Neurochir. (Wien)* 138(11), 1267–1274;discussion 1273–1264, 1996
28. Ebrahimi Ahmad, Houshmand Massoud, Tonekaboni Seyed Hassan, Fallah Mohammd Sadegh, Passand Mahboob, Zainali

- Sirous, Moghadasi Mehdi, Two Novel Mutations In SCN1A Gene In Iranian Patients With Epilepsy, *Archives of Medical Research* 41, 207-214, 2010
29. Fisher Robert S., van Emde Boas Walter, Blume Warren, Elgen Christian, Genton Pierre, Lee Phillip, Engel Jerome Jr., *Epileptic Seizures and Epilepsy: Definition Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and International Bureau for Epilepsy (IBE)*, *Epilepsia*. Apr;46(4):470-2., 2005
 30. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J Jr, Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshé SL, Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S., A practical clinical definition of epilepsy, *Epilepsia*. Apr;55(4):475-82, 2014
 31. Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Schulze-Bonhage A, Somerville E, Sperling M, Yacubian EM, Zuberi SM., Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types., *Epilepsia*. Apr;58(4):531-542, 2017
 32. Fujiwara T, Shigematsu H., Etiologic factors and clinical features of symptomatic epilepsy: focus on pediatric cases., *Psychiatry Clin. Neurosci.* 58(3), S9-S12, 2004
 33. Haerian Batoul Sadat, Baum Larry, Kwan Patrick, Tan Hui Jun, Raymond Azman Ali, Mohamed Zahurin, SCN1A, SCN2A and SCN3A gene polymorphisms and responsiveness to antiepileptic drugs: a multicenter cohort study and meta-analysis, *Pharmacogenomics* 14(10), 1153–1166, 2013
 34. Karki Roshan, Pandya Deep, Elston Robert C., Ferlini Cristiano, Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics, *BMC Medical Genomics* 8:37, 2015
 35. Krauss Gregory L., Sperling Michael R., Treating patients with medically resistant epilepsy, *Neurol Clin Pract.* 2011 Dec; 1(1): 14–23.

36. Kwan Patrick, Arzimanoglou Alexis, Berg Anne T., Brodie Martin J., Allen Hauser W., Mathern , Moshe Solomon L., Perucca Emilio, Wiebe Samuel, French Jacqueline, Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies, *Epilepsia*, 51(6):1069–1077, 2010
37. Lakhan Ram, Kumari Ritu, Misra Usha K., Kalita Jayanti, Pradhan Sunil, Mittal Balraj, Differential role of sodium channels SCN1A and SCN2A gene polymorphisms with epilepsy and multiple drug resistance in the north Indian population, *Br J Clin Pharmacol*. Aug;68(2):214-20, 2009
38. Łuszczki Jarogniew J., Third-generation antiepileptic drugs: mechanisms of action, pharmacokinetics and interactions, *Pharmacol Rep*. 2009 Mar-Apr;61(2):197-216.
39. Magiorkinis Emmanouil, Diamantis Aristidis, Sidiropoulou Kalliopi, Panteliadis Christos, “Highlights in the History of Epilepsy: The Last 200 Years”, *Epilepsy Research and Treatment*, Volume 2014, Article ID 582039, 13 pages, 2014
40. Manna Ida, Gambardella Antonio, Bianchi Amedeo, Striano Pasquale, Tozzi Rossana, Aguglia Umberto, Beccaria Francesca, Benna Paolo, Campostrini Roberto, Canevini Maria P., Condino Francesca, Durisotti Christine, Elia Maurizio, Giallonardo Anna T., Iudice Alfonso, Labate Angelo, Neve Angela La, Michelucci Roberto, Muscas Gian C., Paravidino Roberta, Zaccara Gaetano, Zucca Claudio, Zara Federico, Perucca Emilio, A functional polymorphism in the SCN1A gene does not influence antiepileptic drug responsiveness in Italian patients with focal epilepsy, *Epilepsia*, 52(5):e40–e44, 2011
41. Maschio Marta, Brain Tumor-Related Epilepsy, *Current Neuropharmacology*, 10, 124-133, 2012
42. Murthy Jagaralapudi Murali K., Prabhakar Sudesh, Bacterial meningitis and epilepsy, *Epilepsia*, 49(Suppl. 6):8–12, 2008

43. Nash Theodore E., Parasitic Diseases that Cause Seizures, *Epilepsy Currents*, Vol. 14, No. 1 Supplement pp. 29–34, 2014
44. Palop JJ, Mucke L. Epilepsy and cognitive impairments in Alzheimer disease. *Arch.Neurol.* 66(4), 435–440, 2009
45. Panayiotopoulos CP, *A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment*, Second edition, Springer, 2010
46. Panteliadis P. Christos, Vassilyadi Photios, Fehler Julia, Hagel Christian, Historical documents on epilepsy: From antiquity through the 20th century., *Brain and Development*, Jun;39(6):457-463,2017
47. Patrinos. George P., Ansonge Wilhelm, Μοριακή Διαγνωστική, Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου, 2005
48. Pereda Alberto E., Electrical synapses and their functional interactions with chemical synapses, *Nat Rev Neurosci.* 2014 April ; 15(4): 250–263
49. Pitkänen Asla, Immonen Riikka, Epilepsy Related to Traumatic Brain Injury, *Neurotherapeutics* 11:286–296, 2014
50. Poduri Annapurna, Lowenstein Daniel, Epilepsy Genetics—Past, Present, and Future, *Curr Opin Genet Dev.* 2011 June ; 21(3): 325–332
51. Rathore Chaturbhuj , Radhakrishnan Kurupath, Concept of epilepsy surgery and presurgical evaluation, *Epileptic Disord* 2015; 17 (1): 19-31
52. Reid Christopher A, Phillips A Marie, Petrou Steven, HCN channelopathies: pathophysiology in genetic epilepsy and therapeutic implications, *Br J Pharmacol.* Jan;165(1):49-56, 2012
53. Relling Mary V., Evans William E., Pharmacogenomics in the clinic, *Nature.* October 15; 526(7573): 343–350, 2015
54. Ryvlin P, Montavont A, Nighoghossian N., Optimizing therapy of seizures in stroke patients, *Neurology* 67(12 Suppl. 4), S3–S9, 2006

55. Sambrook & Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd ed.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001
56. Samokhvalov AV, Irving H, Mohapatra S, Rehm J. Alcohol consumption, unprovoked seizures, and epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsia*, 2010
57. Sanchez M. Blanca , Herranz Jose´ L., Leno Carlos , Arteaga Rosa, Oterino Agustín , Valdizan Elsa M., Nicolas Jose´ M., Adin Javier, Armijo Juan A., Genetic factors associated with drug-resistance of epilepsy: Relevance of stratification by patient age and aetiology of epilepsy, *Seizure* 19 (2010) 93–101
58. Sendrowski Krzysztof, Sobaniec Wojciech, Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy, *Pharmacological Reports* 2013, 65, 555-565
59. Schaik Ron HN van, CLINICAL APPLICATION OF PHARMACOGENETICS: WHERE ARE WE NOW?, *EJIFCC*. 2014 Feb; 24(3): 105–112.
60. Scharfman Helen E., The Neurobiology of Epilepsy, *Curr Neurol Neurosci Rep*. July ; 7(4): 348–354, 2007
61. Shafer Patricia O., Sirven Joseph I., Epilepsy Statistics, Epilepsy Foundation, 2013 (<https://www.epilepsy.com/learn/about-epilepsy-basics/epilepsy-statistics>)
62. Shakirullah, Niaz Ali, Aslam khan, Muhammad Nabi, The Prevalence, Incidence and Etiology of Epilepsy, *International Journal of Clinical and Experimental Neurology*, 2014, Vol. 2, No. 2, 29-39
63. Steinlein Ortrud K., Genetics and epilepsy, *Dialogues Clin Neurosci*. 2008;10:29-38.
64. Thom M., Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review, *Neuropathology and Applied Neurobiology* 40, 520–543, 2014
65. Tokudome Kentaro, Okumura Takahiro, Shimizu Saki, Mashimo Tomoji, Takizawa Akiko, Serikawa Tadao, Terada Ryo, Ishihara Shizuka, Kunisawa Naofumi, Sasa Masashi, Ohno

- Yukihiro, Synaptic vesicle glycoprotein 2A (SV2A) regulates kindling epileptogenesis via GABAergic neurotransmission, Scientific Reports volume 6, Article number: 27420, 2016
66. Vander A., Sherman J., Luciano D., Τσακόπουλος Μ., Φυσιολογία του ανθρώπου-Μηχανισμοί της Λειτουργίας του Οργανισμού Ι, 8^η έκδοση, Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδη, 2001
 67. Walker Matthew Charles, Hippocampal Sclerosis: Causes and Prevention, Semin Neurol 2015;35:193–200.
 68. WANG Ping, ZHOU Qiuhong, SHENG Yanghao, TANG Beisha, LIU Zhaoqian, ZHOU Boting, Association between two functional SNPs of SCN1A gene and efficacy of carbamazepine monotherapy for focal seizures in Chinese Han epileptic patients, J Cent South Univ (Med Sci) 39(5), 2014,
 69. Watemberg N, Greenstein D, Levine A., Encephalopathy associated with Hashimoto thyroiditis: pediatric perspective. J. Child Neurol. 21(1), 1–5, 2006
 70. Wei Feng, Yan Li-Min, Su Tao, He Na, Lin Zhi-Jian, Wang Jie, Shi Yi-Wu, Yi Yong-Hong, Liao Wei-Ping, Ion Channel Genes and Epilepsy: Functional Alteration, Pathogenic Potential, and Mechanism of Epilepsy, Neurosci Bull. Aug;33(4):455-477, 2017
 71. Yip TSC., O'Doherty ., Tan NCK, Dibbens LM., Suppiah V., SCN1A variations and response to multiple antiepileptic drugs, The Pharmacogenomics Journal 14, 385–389, 2014
 72. Zhang Chunbo, Wong Virgina, Ng Ping Wing, Hiu Tung Lui Colin, Sin Ngai Chuen, Wong Ka Sing, Baum Larry, Kwan Patrick, Failure to detect association between polymorphisms of the sodium channel gene SCN1A and febrile seizures in Chinese patients with epilepsy, Epilepsia, 51(9):1878–1881, 2010

Παράρτημα



Έντυπο ενυπόγραφης συγκατάθεσης εθελοντή ασθενή

Αυτή η ενυπόγραφη συγκατάθεση ασθενούς απευθύνεται σε άτομα που πάσχουν από

- ☐ νευρολογικές
☐ ψυχιατρικές
☐ άλλες παθήσεις

και καλούνται να συμμετάσχουν στην δημιουργία τράπεζας δεδομένων και βιολογικών υλικών.

Ο τίτλος του έργου αυτού είναι

**‘Δημιουργία τράπεζας βιολογικών υλικών ασθενών με
νευρολογικές, ψυχιατρικές και άλλες νόσους’**

Κύριος ερευνητής: Νικόλαός Δρακούλης, επ. Καθηγητής Κλινικής Φαρμακολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Αυτό το έντυπο βεβαίωσης ενημερότητας έχει δύο μέρη :

- Φύλλο Πληροφοριών (για την ανταλλαγή πληροφοριών σχετικά με την έρευνα μαζί σας)
- Πιστοποιητικό της συναίνεσης (για υπογραφές , αν συμφωνείτε να πάρετε μέρος)

ΜΕΡΟΣ Ι: ΦΥΛΛΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είμαστε μία ομάδα επιστημόνων που σε συνεργασία με νοσοκομειακές κλινικές (πανεπιστημιακές και μη) ασχολούμαστε με βασική και κλινική έρευνα και μελετάμε ασθένειες που είναι νευρολογικές, ψυχιατρικές αλλά και άλλες όπως καρδιολογικές. Σας καλούμε σε αυτή τη μελέτη που είναι η δημιουργία μίας τράπεζας όπου θα φυλάσσεται βιολογικό υλικό πχ. Αίμα, ιστός από ασθενείς και στη συνέχεια εφόσον θα υπάρχει ο κατάλληλος αριθμός ασθενών θα μπορούν να διενεργούνται μελέτες για τις συγκεκριμένες ασθένειες. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών ουδέποτε θα μπορούν να συσχετιστούν με τον καθένα από εσάς, αλλά θα μπορούν να συσχετιστούν μόνο με την ασθένεια την οποία πάσχετε κατά τον χρόνο της δειγματοληψίας. Αν δεν καταλαβαίνετε κάτι από τα παρακάτω παρακαλώ ρωτήστε κάθε λεπτομέρεια τον ερευνητή που σας το έδωσε για υπογραφή.

Ζητείται η ενυπόγραφη άδεια σας, ώστε να αποθηκευτούν ολόκληρα τα δείγματα σας ή υπόλοιπα των δειγμάτων σας από προηγούμενη μελέτη, για πιθανή ερευνητική χρήση τους στο μέλλον.

Μερικοί άνθρωποι διστάζουν να παραχωρήσουν τα δείγματά τους για ερευνητική χρήση, καθώς φοβούνται ότι αυτό μπορεί να επηρεάσει τους ίδιους. Σας διαβεβαιώνουμε ότι το δείγμα σας θα ανωνυμοποιηθεί και καμία συσχέτιση δε θα μπορεί να υπάρξει με την ταυτότητά σας. Με αυτόν τον τρόπο συμμετέχετε και βοηθάτε, στην εξέλιξη της επιστήμης, όπως άλλοι πριν από μας βοήθησαν και έχουμε σήμερα τα διαθέσιμα μέσα για θεραπείες πολλών νοσημάτων. Η μοναδική πηγή πληροφοριών είναι από τα βιολογικό υλικό των ατόμων εκείνων που εμφανίζουν κάποιο πρόβλημα υγείας προσωρινό ή μη. Αυτό θα μας δώσει την δυνατότητα να μελετήσουμε στοιχεία όπως οι πρωτεΐνες και τα γονίδια για να βγουν συμπεράσματα που ενδεχόμενα να μην είναι χρήσιμα για σας άμεσα όμως να δώσουν πληροφορίες μετά από καιρό και αφού υπάρξει μεγάλος αριθμός δειγμάτων.

Τα δείγματά σας θα ανωνυμοποιηθούν με ειδικά υπολογιστικά προγράμματα και τα στοιχεία που θα συνοδεύουν το δείγμα σας πριν και μετά την αποθήκευση δε θα έχουν καμία σχέση με τα στοιχεία της ταυτότητός σας. Θα περιλαμβάνουν μόνο πληροφορίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ερευνητικές εργασίες ώστε να βρεθούν θεραπείες και δεδομένα που θα βοηθήσουν στην καλύτερη αντιμετώπιση της εκάστοτε νόσου.

Purpose of the research

Σκοπός της μελέτης είναι η συγκέντρωση πληροφοριών για νευρολογικά, ψυχιατρικά ή άλλα νοσήματα σε Ελληνικό ή άλλο πληθυσμό που διαμένει και νοσηλεύεται στην Ελλάδα. Η μοναδική πηγή πληροφοριών είναι από τα βιολογικό υλικό των ατόμων εκείνων που εμφανίζουν κάποιο πρόβλημα υγείας προσωρινό ή μη. Αυτό θα μας δώσει την δυνατότητα να μελετήσουμε στοιχεία όπως οι πρωτεΐνες και τα γονίδια για να βγουν συμπεράσματα που ενδεχόμενα να είναι χρήσιμα για σας άμεσα ενδεχόμενα όμως να δώσουν πληροφορίες μετά από καιρό και αφού υπάρξει μεγάλος αριθμός δειγμάτων. Οποσδήποτε συμμετέχετε και βοηθάτε με το τρόπο σας την εξέλιξη της επιστήμης όπως άλλοι πριν από μας βοήθησαν και έχουμε σήμερα τα διαθέσιμα μέσα για θεραπείες πολλών νοσημάτων. Απώτερος σκοπός της μελέτης είναι να δημιουργηθούν νέοι δείκτες που θα βοηθήσουν στην ασφάλεια και τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας των ιατρικών παρεμβάσεων.

Είδος ερευνητικής παρέμβασης

Αν συμφωνήσετε να συμμετέχετε στη μελέτη, θα χρησιμοποιηθεί από εσάς βιολογικό υλικό όπως αίμα ή ιστός που έχει ήδη ληφθεί από εσάς που έχει ήδη αφαιρεθεί από σας ανεξάρτητα από τη μελέτη αυτή, πχ κατά την εισαγωγή σας στο νοσοκομείο ή κατά τη διάρκεια κάποιας ιατρικής επέμβασης κατά την εισαγωγή σας. Το δείγμα αυτό θα μεταφερθεί στο Ερευνητικό εργαστήριο Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιοματικής του Τμήματος Φαρμακευτικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών αφού ανωνυμοποιηθεί ώστε διενεργηθούν οι απαιτούμενες αναλύσεις για την διεξαγωγή της έρευνας. Οι παραπάνω διαδικασίες δε θα δώσουν πληροφορίες άμεσα για την προσωπική σας ιατρική φροντίδα, αλλά θα συμβάλλουν γενικότερα στην ανάπτυξη της ιατρικής έρευνας.

Εθελοντική συμμετοχή

Η συμμετοχή σας στη μελέτη είναι απολύτως εθελοντική. Είτε αποφασίσετε να συμμετέχετε στη μελέτη είτε όχι, δε θα αλλάξει απολύτως τίποτα στην κλινική σας παρακολούθηση και θεραπεία. Έχετε το δικαίωμα να αρνηθείτε να χρησιμοποιηθούν τα δείγματα σας χωρίς απώλεια των ιατρικών παροχών που είχατε μέχρι τώρα. Αν συμφωνήσετε να συμμετέχετε, πρέπει να γνωρίζετε ότι δεν μπορείτε να κάνετε άρση της συγκατάθεσής σας μετά την ανωνυμοποίηση καθώς δε θα μπορεί με κανένα τρόπο να βρεθεί το δείγμα σας επειδή θα έχει αποκοπεί ολοκληρωτικά από τα στοιχεία σας μετά την ανωνυμοποίησή του.

B. Περιγραφή της διαδικασίας

1. Λήψη των δειγμάτων

Αίμα: Η λήψη δείγματος γίνεται από τους ιατρούς που συμμετέχουν στη μελέτη. Θα ληφθούν από εσάς σε μία εφάπαξ συνάντηση 8 ml περιφερικό αίμα το οποίο μεταφέρεται αφενός μεν σε ένα φιαλίδιο που περιέχει αντιπηκτικό EDTA (3,5 ml) αφετέρου δε σε φιαλίδιο πήξης (4,5 ml).

Ιστός: Μέρος ιστού που έχει ήδη ληφθεί από εσάς για άλλη ιατρική πράξη

ENY: Μικρή ποσότητα εγκεφαλονωτιαίου μυελού που έχει ήδη ληφθεί από εσάς για άλλη ιατρική πράξη θα μεταφερθεί στο εργαστήριο

2. Ανωνυμοποίηση

Τα δείγματά σας θα ανωνυμοποιηθούν με ειδικά υπολογιστικά προγράμματα και τα στοιχεία που θα συνοδεύουν το δείγμα σας πριν και μετά την αποθήκευση δε θα έχουν καμία σχέση με τα στοιχεία της ταυτότητός σας

3. Μεταφορά των δειγμάτων

Η παραλαβή των δειγμάτων, από τον επιστημονικό συνεργάτη του ερευνητικού εργαστηρίου κλινικής φαρμακολογίας και φαρμακογενετικής, γίνεται αμέσως μετά τη λήψη. Κατόπιν, τα δείγματα θα μεταφέρονται στο εργαστήριο σε θερμοκρασία απλής ψύξης (+3 έως +10°C) εντός ειδικού δοχείου διατήρησης της θερμοκρασίας.

4. Επεξεργασία δειγμάτων

Στα δείγματά σας μπορεί να γίνει επιπλέον επεξεργασία (π.χ απομόνωση γενετικού υλικού και πρωτεϊνών) πριν την αποθήκευση ή και να αποθηκευθούν ως έχουν. Μετά την επεξεργασία το κάθε δείγμα μεταφέρεται στους -80 °C για μακροχρόνια φύλαξη.

Η διάρκεια της μελέτης

Σε ένα προγραμματισμένο ραντεβού με το γιατρό σας θα σας ληφθεί εφάπαξ το δείγμα. Το δείγμα ή τα δείγματά σας θα αποθηκευθούν επ'αόριστον.

Κίνδυνοι

Δεν υπάρχει κανένας γνωστός κίνδυνος.

Τήρηση απορρήτου

Αν δώσετε τη συγκατάθεσή σας για τη λήψη αίματος από εσάς, τα δείγματα αυτά θα κωδικοποιηθούν με κωδικό αριθμό, ο οποίος θα διασφαλίζει το απόρρητο της ταυτότητάς σας. Υπάρχει πλήρης εμπιστευτικότητα των στοιχείων σας και των ιατρικών σας δεδομένων καθώς δεν μπορεί να συσχετιστεί με κανένα τρόπο η ταυτότητα σας με το δείγμα σας που έχει ληφθεί από εσάς.

Διάδοση των αποτελεσμάτων

Πληροφορίες και δεδομένα από αυτά τα δείγματα θα αναφέρονται μόνο σε ειδικά ιατρικά ή επιστημονικά έντυπα, επιστημονικά συνέδρια στην Ελλάδα και το εξωτερικό, συμπόσια, σεμινάρια και μαθήματα στο Πανεπιστήμιο. Τα ονόματα αλλά και τα προσωπικά σας στοιχεία δεν αναφέρονται πουθενά ούτε είναι δυνατόν να αποκαλυφθούν, και αυτό προστατεύεται από την νομοθεσία σε όλο το κόσμο.

Δικαίωμα άρνησης και Ανάλυσης

Έχετε το δικαίωμα να αρνηθείτε να χρησιμοποιηθούν τα δείγματα σας χωρίς απώλεια των ιατρικών παροχών που είχατε μέχρι τώρα. Η τρέχουσα ερευνητική μελέτη δεν θα επηρεάσει με οποιοδήποτε τρόπο τη θεραπεία σας και την ιατρική σας παρακολούθηση. Αν συμφωνήσετε να συμμετέχετε, πρέπει να γνωρίζετε ότι δεν μπορείτε να κάνετε άρση της συγκατάθεσής σας μετά την ανωνυμοποίηση καθώς δε θα μπορεί με κανένα τρόπο να βρεθεί το δείγμα σας καθώς θα έχει αποκοπεί ολοκληρωτικά από τα στοιχεία σας.

Με ποιον να επικοινωνήσω

Αν έχετε κάποιες απορίες παρακαλώ ρωτήστε τον ιατρό που σας ενημερώνει για τη μελέτη αυτή τη στιγμή ή οπουδήποτε άλλη φορά θελήσετε.

Μέρος II. ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΝΑΙΝΕΣΗΣ**Γνωρίζω ότι το δείγμα μου είναι**

1. ☐ Αίμα
2. ☐ Μέρος ιστού που μου αφαιρέθηκε για λόγους ανεξάρτητους από τη μελέτη αυτή και δεν επηρεάζει τη θεραπεία μου, τη διάγνωσή μου και τη νοσηλεία μου
3. ☐ Επιθηλιακά κύτταρα στόματος/τραχήλου κλπ
4. ☐ Ένα μικρό μέρος της ποσότητας ΕΝΥ που μου αφαιρέθηκε για λόγους ανεξάρτητους από τη μελέτη αυτή και δεν επηρεάζει τη θεραπεία μου, τη διάγνωσή μου και τη νοσηλεία μου
5. ☐ Άλλο

ΚΑΤΟΠΙΝ ΤΗΣ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗΣ ΜΟΥ ΑΠΟΦΑΣΙΖΩ

- ☐ Δε δίνω την άδειά μου τα δείγματά μου/το δείγμα μου να αποθηκεύονται επ 'αόριστον
- ☐ Δίνω την άδειά μου τα δείγματά μου/το δείγμα μου να αποθηκεύονται επ 'αόριστον

ΚΑΙ (ΑΝ ΔΩΣΩ ΤΗΝ ΑΔΕΙΑ ΜΟΥ)

- ☐ Δίνω την άδεια μου τα δείγματά μου να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον για οποιαδήποτε ερευνητική μελέτη χρειαστεί, με την προϋπόθεση ότι η μελέτη αυτή θα διεξαχθεί με σκοπό την εξέλιξη της επιστήμης και τη βελτίωση της ποιότητας της ανθρώπινης ζωής.

Έχω διαβάσει τις πληροφορίες που αναφέρονται στις σελίδες 1-4 του παρόντος εντύπου. Είχα την ευκαιρία να υποβάλω ερωτήσεις και μου έχουν απαντηθεί ικανοποιητικά μου . Συναινώ εθελοντικά να αποθηκεύονται τα δείγματα μου για τους σκοπούς που αναφέρονται παραπάνω .

Όνομα _____

Υπογραφή του συμμετέχοντος _____

ημερομηνία _____

Ημέρα / μήνας / έτος

Αναλφάβητοι

Αντί του ασθενούς ένας μάρτυρας θα πρέπει να υπογράψει (αν είναι δυνατό , το πρόσωπο αυτό θα πρέπει να επιλέγεται από τον συμμετέχοντα και θα πρέπει να μην έχει καμία σχέση με την ερευνητική ομάδα). Οι συμμετέχοντες οι οποίοι είναι αναλφάβητοι θα πρέπει να αφήσουν αποτύπωμα του αντίχειρα.

Έχω δει την ακριβή διαδικασία ενημέρωσης για το έντυπο συγκατάθεσης με το συμμετέχοντα , και το άτομο είχε την ευκαιρία να υποβάλει ερωτήσεις . Βεβαιώνω ότι το άτομο έχει δώσει τη συγκατάθεσή ελεύθερα .

Όνομα _____

Υπογραφή του μάρτυρα _____

ημερομηνία _____

Δακτυλικό αποτύπωμα

Ανήλικοι

Αντί του ασθενούς θα πρέπει να υπογράψει ο κηδεμόνας ή νόμιμος εκπρόσωπός του .

**Έχω δει την ακριβή διαδικασία ενημέρωσης για το έντυπο συγκατάθεσης με το συμμετέχοντα και συμφωνώ να συμμετέχει ο ασθενής.....
εθελοντικά στο παραπάνω έργο**

Όνομα _____

Υπογραφή του μάρτυρα _____

ημερομηνία _____

Δήλωση του / συγκατάθεση ερευνητή, πρόσωπου που λαμβάνει το έντυπο ενυπόγραφης συγκατάθεσης

Έχω διαβάσει με ακρίβεια το φύλλο πληροφοριών για τις δυνατότητες των συμμετεχόντων, και με τον καλύτερο δυνατό τρόπο φρόντισα ώστε ο συμμετέχων αντιλαμβάνεται ότι θα πρέπει να γίνουν τα παραπάνω και ότι υπογράφοντας, επιβεβαιώνει τα εξής:

1. Έχει διαβάσει και κατανοήσει όλες τις πληροφορίες που περιέχονται στο παρόν έντυπο.
2. Όλα τα ερωτήματά του έχουν απαντηθεί ικανοποιητικά.
3. Δέχεται με τη θέλησή του να συμμετέχουν στην παρούσα ερευνητική μελέτη
4. Επιτρέπετε στα πλαίσια της μελέτης να δημοσιοποιηθούν πληροφορίες που αφορούν το ανωνυμοποιημένο δείγμα τους , σύμφωνα πάντα με το νόμο 2472/97 περί προσωπικών δικαιωμάτων.
5. Έχει πάρει ένα αντίγραφο του παρόντος εντύπου, το οποίο και θα κρατήσει.

Επιβεβαιώνω ότι ο συμμετέχων είχε την ευκαιρία να υποβάλει ερωτήσεις σχετικά με τη φύση και τον τρόπο αποθήκευσης των δειγμάτων , καθώς και όλες οι ερωτήσεις που τέθηκαν από τον συμμετέχοντα έχουν απαντηθεί σωστά και με τον καλύτερο δυνατό τρόπο . Βεβαιώνω ότι το άτομο δεν έχει εξαναγκαστεί να δώσει τη συγκατάθεσή του και η συγκατάθεση έχει δοθεί ελεύθερα και εθελοντικά.

Ονοματεπώνυμο ερευνητή

Υπογραφή ερευνητή

.....



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αριθμός Ασθενούς

ΦΟΡΜΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

ΓΙΑ ΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:/...../.....

ΩΡΑ:.....

ΠΡΟ ΓΕΥΜΑΤΟΣ ☐ ΜΕΤΑ ΓΕΥΜΑΤΟΣ ☐

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

ΑΣΘΕΝΕΙΑ.....

ΟΝΟΜΑ.....

ΕΠΙΘΕΤΟ.....

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ.....

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ.....

ΚΑΤΑΓΩΓΗ.....

ΦΥΛΟ.....

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

ΗΛΙΚΙΑ ΠΡΩΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ.....

(0=ΟΧΙ, 1=ΜΗΤΕΡΑ, 2=ΠΑΤΕΡΑΣ, 3=ΑΔΕΛΦΟΣ,4=ΑΔΕΛΦΗ

ΒΑΡΟΣ

ΥΨΟΣ

5=ΠΑΠΠΟΥΣ, 6=ΓΙΑΓΙΑ,7=ΘΕΙΟΣ-ΘΕΙΑ,8=ΑΛΛΟΣ,

9=ΠΑΤΕΡΑΣ+ΑΔΕΛΦΟΣ, 10=ΜΗΤΕΡΑ+ΑΔΕΛΦΗ)

ΚΑΠΝΙΣΤΗΣ: ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐ ΠΡΩΗΝ ☐

ΤΣΙΓΑΡΑ/ΜΕΡΑ.....

ΣΥΝΤΟΜΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ (Προστίθεται σελίδα να χρειασθεί)



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αριθμός Ασθενούς

ΓΙΑ ΤΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

ΦΑΡΜΑΚΟ	ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ/ημερησίως	ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Ο ΑΣΘΕΝΗΣ ΕΧΕΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙ ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟ; ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Είδος παρενέργειας

Εμπορική ονομασία

Φαρμακευτική ουσία

Χρόνος από την έναρξη της αγωγής

Λόγος που χορηγήθηκε το φάρμακο

Ενέργεια που απαιτήθηκε

Ο ΑΣΘΕΝΗΣ ΕΧΕΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΤΟ ΠΑΡΕΛΘΟΝ;

Εμπορική ονομασία

Φαρμακευτική ουσία

Πάθηση:

Μετρούμενο χαρακτηριστικό προ/μετά αγωγή